

POJEMNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCA MLEKA, SERA I SERWATKI OD KRÓW UTRZYMYWANYCH W TERENIE GÓRSKIM

Piotr Zapletal¹, Barbara Małkusiak¹, Grzegorz Skrzyński²

¹Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Katedra Genetyki, Hodowli i Etologii Zwierząt,
al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

²Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Hodowli Bydła,
32-083 Balice k. Krakowa
E-mail: piotr.zapletal@urk.edu.pl



Piotr Zapletal: <https://orcid.org/0000-0002-4843-5981>

Barbara Małkusiak: brak (studentka)

Grzegorz Skrzyński: <https://orcid.org/0000-0001-7805-8171>

Abstrakt

Celem pracy było określenie poziomu antyoksydantów w mleku, twarogu i serwatce od krów utrzymywanych w gospodarstwie rodzinnym na Orawie. Oceniono także profil kwasów tłuszczowych (FA) w mleku surowym, serze i serwatce, który ma istotne znaczenie w kształtowaniu pojemności antyoksydacyjnej uzyskiwanych z nich produktów. Oznaczono pojemność przeciwutleniającą metodą TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) na podstawie spektrofotometrycznego pomiaru wygaszenia rodników ABTS przez przeciwutleniacze zawarte w próbce, przy długości fali 734 nm. Profil kwasów tłuszczowych analizowano za pomocą chromatografu gazowego Trace GC Ultra. W analizie uwzględniono zawartość kwasów tłuszczowych o działaniu hipocholesterolemicznym (DFA) i hipercholesterolemicznym (OFA) oraz obliczono indeks miażdżycowy (AI). Pojemność przeciwutleniająca mleka surowego znacznie przewyższała aktywność antyoksydacyjną sera twarogowego i serwatki. Mleko uzyskane od krów z terenów górskich na Orawie charakteryzowało się wyższymi wartościami TEAC w porównaniu do wyników badań prezentowanych w literaturze, a przeprowadzonych na mleku krów z innych regionów kraju. Mleko, ser i serwatka charakteryzowały się istotnie wyższym ($P < 0,05$) udziałem prozdrowotnych kwasów tłuszczowych jedno- (MUFA) i wielonienasyconych (PUFA) oraz zawartością skoniugowanego kwasu linolowego (CLA) i kwasu α -linolenowego C18:3 n-3 w sezonie pastwiskowym. Istotnie wyższe ($P < 0,05$) poziomy pożądanых kwasów o działaniu hipocholesterolemicznym (DFA) stwierdzono w mleku i jego produktach w sezonie letnim. Mleko, ser twarogowy i serwatka pozyskane w sezonie letnim miały również najniższy indeks miażdżycowy (AI), a różnice w porównaniu z okresem zimowym były istotne.

Słowa kluczowe: mleko krowie, ser twarogowy, serwatka, antyoksydanty, kwasy tłuszczowe

Wstęp

Mleko i jego produkty, szczególnie pozyskane od zwierząt ras lokalnych, są cennym źródłem żywności funkcjonalnej, ponieważ powstały w sposób naturalny, w specyficznych warunkach i od zwierząt karmionych określoną paszą (Bochenek i Kuczyńska, 2017; Barłowska i in., 2016; Krzęcio-Nieczyporuk i Antosik, 2015; Dopieralska i in., 2020). Ostatnio wzrosło zainteresowanie konsumentów artykułami mlecznymi z terenów górskich, które uważane są za produkty najwyższej jakości, zarówno ze względu na specyficzne właściwości organoleptyczne, jak i doskonałe właściwości odżywcze i prozdrowotne (Magan i in., 2021). Wypas na pastwisku to główna i najtańsza strategia żywieniowa mająca na celu poprawę zdrowia zwierząt, profilu kwasów tłuszczowych mleka i obniżenie produkcji metanu (Kholif i Olafadehan, 2022; Rodríguez-Bermúdez i in., 2023). Karmienie bydła trawą przyczynia się do znacznego wzrostu względnych ilości korzystnych kwasów tłuszczowych w produktach zwierzęcych (Lopez i in., 2022). Na profil kwasów tłuszczowych w mleku oprócz czynników środowiskowych i fizjologicznych wpływa także genotyp krów (Przybylska i Kuczaj, 2024).

Istotną rolę w utrzymaniu prawidłowych funkcji organizmu odgrywają przeciwutleniacze zawarte w mleku, które nawet w niskich stężeniach powodują hamowanie lub opóźnienie reakcji peroksydacji składników podlegających utlenianiu. Unikatową właściwością antyoksydantów jest oddanie brakującego elektronu wolnemu rodnikowi, nim ten zabierze go od innej cząsteczki, istotnej z fizjologicznego punktu widzenia (Białek i Czauderna, 2016). Wolne rodniki mogą inicjować peroksydację nienasyconych kwasów tłuszczowych oraz tworzyć produkty utleniania cholesterolu. Wszystkie te działania skutkują uszkodzeniem ważnych tkanek, co może przyczyniać się do wystąpienia wielu chorób, z którymi boryka się współczesny świat takich jak: nowotwory, miażdżyca, cukrzyca, choroba Parkinsona czy choroba Alzheimera (Kulbacka i in., 2009; Cichosz i Czeczot, 2012). Vetter i Wendlinger (2013) wykazali, że nie tylko główne kwasy tłuszczowe, ale także różne klasy bioaktywnych kwasów tłuszczowych, które są cennymi przeciwutleniaczami, przyczyniają się do korzystnych właściwości tłuszczów. Występują w lipidach różnych produktów spożywczych, w tym w mlecznych bogatych w tłuszcz, szczególnie w maśle. Korzystniejszy profil kwasów tłuszczowych stwierdza się w mleku i jego produktach pochodzących od krów, u których podstawową paszą objętościową była zielonka pastwiskowa (Barłowska i Litwińczuk, 2009; Barłowska i in., 2012; Gabryszuk i in., 2013).

Unikalną cechą skoniugowanego kwasu linolowego CLA w mleku jest wysoka aktywność antyoksydacyjna, która w porównaniu do α -tokoferolu jest około 100 razy wyższa, co objawia się w wykazywaniu szerokiego spektrum biologicznego działania o zabarwieniu prozdrowotnym (Molik i in., 2021). Wzbogacenie mleka o zdrowe kwasy tłuszczowe może sprawić, że mleko stanie się cennym źródłem substancji przeciwnowotworowych (CLA i polifenoli) dla zdrowia człowieka (Kholif i Olafadehan, 2022; Lopez i in., 2022). Udowodniono, że żywienie bydła z dostępem do pastwiska przyczynia się do istotnego zwiększenia ilości tego kwasu w mleku od 1,5–2% zimą do 6,5–7% w miesiącach letnich (Ciołkowska i in., 2012; Gabryszuk i in., 2013; Kuczyńska i in., 2013; Żbikowski, 2015). Cifuni i in. (2022) wykazali, że mleko z pastwisk górskich i wyżynnych ma wysoką zawartość korzystnych kwasów tłuszczowych, takich jak C18:3n-3, CLA i terpenoidy, w porównaniu do mleka z nizinnych terenów trawiastych.

Z uwagi na ważną rolę, jaką odgrywają przeciwutleniacze w utrzymaniu prawidłowych funkcji organizmu, podjęto badania, których celem było określenie poziomu antyoksydantów w mleku krów utrzymywanych w gospodarstwie na Orawie i serach z niego produkowanych. Oceniono także profil kwasów tłuszczowych w mleku surowym i serze twarogowym, których to frakcja tłuszczowa ma istotne znaczenie w kształtowaniu pojemności antyoksydacyjnej uzyskiwanych z nich produktów.

Material i metody

Materiał do badań stanowiło mleko zbiorcze i sery twarogowe pochodzące od 6 krów rasy RP, RW, HF x MO i MM utrzymywanych w gospodarstwie rodzinnym. Obora usytuowana była na terenie Beskidu Orawsko-Podhalańskiego, w południowej części województwa małopolskiego. Średnia wydajność mleczna krów w tym stadzie wynosiła około 6500 l za laktację. Krowy utrzymywano w oborach stanowiskowych, uwięziowych ze ściółką. Żywienie krów oparte było na paszach z trwałych użytków zielonych. W sezonie letnim (od maja do października) zwierzęta korzystały z wypasu pastwiskowego, a uzupełnieniem dawki pokarmowej była śruta jęczmienno-kukurydziana (ok. 0,4 kg/szt.) i siano *ad libitum*. W sezonie zimowym (od listopada do kwietnia) krowy otrzymywały siano łąkowe do woli, które podczas doju uzupełniano śrutą zbożową jęczmienno-kukurydzianą (ok. 0,4 kg/szt.), a od grudnia wysłódkami buraczanymi mokrymi w ilości ok. 5 kg/szt. Krowy były dojne na stanowiskach dwukrotnie w ciągu dnia.

Reprezentatywną próbę mleka zbiorczego od wszystkich krów pobierano w ilości po 2 l z pełnego doju wieczornego i porannego raz w miesiącu od maja do kwietnia. Próby mleka przechowywano w lodówce w temp. 4°C, a następnie po zmieszaniu przewożono w termoboxie do laboratorium Katedry Genetyki, Hodowli i Etologii Zwierząt UR w Krakowie. Łącznie poddano analizie po 12 prób, zarówno mleka świeżego, jak i sera oraz serwatki, na których wykonano oznaczenia pojemności przeciwutleniającej i profilu kwasów tłuszczowych w dwóch powtórzeniach. Po pobraniu mleka do badań pozostałą ilość pozostawiono w garnku do ukwaszenia w warunkach laboratoryjnych na 2–3 dni w temp. 20–22°C bez dodatku kultur bakteryjnych. Po ukwaszeniu mleko podgrzewano w temperaturze około 38–40°C do wytrącenia skrzepu i wydzielenia serwatki. Zawartość wylano na sito z jałową gazą nad zlewką i poddano naciskowi 1 kg przez godzinę. Bezpośrednio po uzyskaniu sera i serwatki pobierano próbki do ww. analiz, które przeprowadzano w tym samym dniu.

Pojemność przeciwutleniającą oznaczono metodą TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) na podstawie spektrofotometrycznego pomiaru wygaszenia rodników ABTS przez przeciwutleniacze zawarte w próbce, przy długości fali 734 nm. Pojemność przeciwutleniającą oznaczono w frakcji wodnej (Re i in., 1999). Ekstrakcję przeciwutleniaczy z mleka, sera i serwatki prowadzono z wodą destylowaną przy 8600 obr./min przez 2,5 min przy użyciu homogenizatora X120 (Danlab). Następnie homogenat wirowano (MPW 223E) przy 4000 obr./min przez 20 minut. Po tym czasie ciecz z nad osadu ostrożnie przeniesiono do buteleczek z ciemnego szkła i przechowywano szczelnie zamknięte w lodówce do czasu oznaczeń (maksymalnie 2h). Odczynnik podstawowy ABTS sporządzono dodając do 10 ml wody destylowanej 0,0384 g kwasu 2,2'-azinobis-(3etylobezotiazolinowego) w celu otrzymania stężenia końcowego równego 7 mM. Następnie dodano 0,0066 g nadsiarczanu potasu do osiągnięcia stężenia 2,45 mM. Gotowy odczynnik poddano 16-godzinnej inkubacji w ciemnym miejscu w celu wygenerowania wolnych rodników. Odczynnik roboczy wykonano rozcieńczając odczynnik podstawowy do absorbancji $0,700 \pm 0,02$ mierzonej przy długości fali 734 nm względem wody destylowanej. Pojemność przeciwutleniającą oznaczono poprzez zmieszanie 3 ml roztworu roboczego z 30 µl wodnego ekstraktu przeciwutleniaczy uzyskanych z próbek mleka, sera i serwatki i zmierzeniu wartości absorbancji po 30 min przy długości fali 734 nm za pomocą Spektrofotometru UV-VIS Genesys 20. Wykonano oznaczenie dla rozpuszczalnika poprzez zmieszanie 30 µl wody destylowanej z 3 ml roztworu roboczego ABTS. Wynik wyrażono w µM TE (Trolox Equivalent)/g m.m. produktu.

Zawartość kwasów tłuszczowych oznaczano po uprzedniej ekstrakcji tłuszczu z mleka, sera i serwatki przy użyciu mieszaniny rozpuszczalników chloroform-metanol (2:1). Rozpuszczono 5 mg tłuszczu w 50 µl toluenu i po dodaniu 100 µl 2 N wodorotlenku sodu w metanolu estyfikowano przez 20 minut w temperaturze pokojowej. Następnie dodawano 0,5 ml

14% BF₃ w metanolu i ponownie prowadzono reakcję przez 20 minut w temperaturze pokojowej. Otrzymane estry rozpuszczano w hexanie, a na chromatograf nastrzykiwano 1 µl (Ledoux i in., 2005).

Kwasy tłuszczowe (FA) identyfikowano przez porównanie ze standardami estrów metylowych: „Linoleic acid, conjugated methyl esters” (Sigma) – dla CLA oraz „Supelco 37 Component FAME Mix” (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO) – dla pozostałych kwasów tłuszczowych. Kwasy tłuszczowe analizowano za pomocą chromatografu gazowego Trace GC Ultra firmy Thermo Electron Corporation Milano – Włochy z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID) wyposażonego w kolumnę Stabilwax (o wymiarach 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm).

W analizie uwzględniono kwasy tłuszczowe nasycone (SFA), nienasycone (UFA), w tym jednonienasycone (MUFA) i wielonienasycone (PUFA), zawartość kwasów tłuszczowych o działaniu hipocholesterolemicznym (DFA) i kwasów tłuszczowych o działaniu hipercholesterolemicznym (OFA) oraz obliczono indeks miażdżycowy (AI).

$AI = C12:0 + (4 \times C14:0) + C16:0 / (PUFAn-6 + PUFAn-3 + MUFA)$

$DFA = UFA + C18:0$

$OFA = C14:0 + C16:0$

Uzyskane wyniki zostały poddane analizie statystycznej w programie Statistica 10.1. Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi w grupach została oszacowana przy zastosowaniu testu HSD Tukeya przy $P \leq 0,05$.

Wyniki

W tabeli 1 przedstawiono wyniki analiz pojemności przeciwutleniającej dla mleka, sera i serwatki w okresie rocznym. Rezultaty przeprowadzonych badań dowodzą jednoznacznie, że najwyższą pojemność przeciwutleniającą wykazywało mleko (2,96–4,14 µM TE/g m.m.), następnie ser twarogowy (0,87–1,21 µM TE/g m.m.), a najniższą serwatka (0,35–0,56 µM TE/g m.m.). Najniższe wartości dla mleka odnotowano w miesiącu grudniu, a najwyższe w lutym. Różnice te były istotne ($P < 0,05$). W przypadku sera podobnie najniższą wartość zaobserwowano w grudniu, natomiast najwyższą w kwietniu, co zostało potwierdzone statystycznie ($P < 0,05$). Serwatka miała jednak istotnie ($P < 0,05$) najniższą pojemność antyoksydacyjną w marcu, a najwyższą w kwietniu. Pomimo że występowały istotne różnice w wartościach TEAC pomiędzy niektórymi miesiącami w ciągu roku, nie wykazano statystycznie istotnych różnic w pojemności antyoksydacyjnej dla mleka, sera i serwatki pomiędzy sezonem zimowym i letnim.

Profil kwasów tłuszczowych w mleku, serze i serwatce w zależności od sezonu produkcji przedstawiono w tabeli 2 i 3. Znacznie wyższą ($P < 0,05$) zawartość CLA i kwasu α-linolenowego (C18:3 n-3), prekursora prozdrowotnych eikozanoidów, stwierdzono zarówno w mleku krów, jak i w twarogu oraz serwatce w okresie letnim. Mleko, ser i serwatka zawierały również znacząco ($P < 0,05$) więcej kwasu wakcenowego (C18:1 n-7) w miesiącach letnich. Kwas ten jest prekursorem do tworzenia izomerów CLA. Poziom krótko- i średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych SFA (C4:0–C12:0) w mleku, serze i serwatce był istotnie ($P < 0,05$) wyższy latem. Jedynie zawartość kwasu masłowego C4:0 w twarogu i serwatce nie różniła się istotnie pomiędzy sezonami. Istotnie ($P < 0,05$) wyższą zawartością PUFA, a zwłaszcza n-3 charakteryzowało się mleko, jak i uzyskane z niego produkty w sezonie letnim. Mleko, ser i serwatka posiadały preferowaną zawartość kwasów tłuszczowych hipocholesterolemicznych (DFA), a ich poziomy były istotnie ($P < 0,05$) wyższe w okresie letnim. Mleko, ser twarogowy i serwatka pozyskane w sezonie letnim miały również najniższy indeks miażdżycowy (AI), a różnice w porównaniu z okresem zimowym były istotne.

Tabela 1. TEAC mleka, sera i serwatki w okresie rocznym w $\mu\text{M TE/g m.m.}$

Table 1. TEAC of milk, cheese and whey over the year in $\mu\text{M TE/g m.m.}$

Miesiące Months	Mleko Milk	Ser Cheese	Serwatka Whey
V	$3,03 \pm 0,26^d$	$1,02 \pm 0,25^a$	$0,48 \pm 0,02^a$
VI	$3,14 \pm 0,33^{ad}$	$0,99 \pm 0,10^a$	$0,52 \pm 0,13^a$
VII	$3,19 \pm 0,11^{ad}$	$1,01 \pm 0,02^a$	$0,52 \pm 0,21^a$
VIII	$3,26 \pm 0,74^a$	$0,98 \pm 0,41^a$	$0,49 \pm 0,13^a$
IX	$3,39 \pm 0,42^a$	$1,01 \pm 0,03^a$	$0,51 \pm 0,11^a$
X	$3,90 \pm 0,82^b$	$1,02 \pm 0,21^a$	$0,52 \pm 0,09^a$
Sezon letni Summer season	$3,61 \pm 0,21^a$	$1,01 \pm 0,10^a$	$0,51 \pm 0,09^a$
XI	$3,05 \pm 0,22^d$	$0,99 \pm 0,21^a$	$0,49 \pm 0,05^a$
XII	$2,96 \pm 0,08^d$	$0,87 \pm 0,08^a$	$0,49 \pm 0,04^a$
I	$3,43 \pm 0,54^{ac}$	$1,10 \pm 0,08^{ab}$	$0,43 \pm 0,10^{ab}$
II	$4,14 \pm 0,21^b$	$0,94 \pm 0,11^a$	$0,47 \pm 0,08^a$
III	$3,80 \pm 0,36^{bc}$	$0,95 \pm 0,13^a$	$0,35 \pm 0,06^b$
IV	$3,65 \pm 0,88^{bc}$	$1,21 \pm 0,04^b$	$0,56 \pm 0,10^a$
Sezon zimowy Winter season	$3,78 \pm 0,49^a$	$0,98 \pm 0,14^a$	$0,46 \pm 0,08^a$

Średnie $\pm$ SD w kolumnach dotyczące miesiące, oznaczone różnymi literami (a, b, c, d) różnią się istotnie statystycznie istotnie przy $P < 0,05$.

Means $\pm$ SD in month columns marked with the different letter (a, b, c, d) are statistically significantly different at $P < 0.05$.

Średnie $\pm$ SD w kolumnach dotyczące pory roku, oznaczone różnymi literami (a, b, c, d) różnią się istotnie statystycznie istotnie przy $P < 0,05$

The means $\pm$ SD in the columns regarding the season, marked with the different letter (a, b, c, d) are statistically significantly different at $P < 0.05$.

Tabela 2. Profil FA w mleku, serze i serwatce w zależności od pory roku (% od sumy FA)

Table 2. FA profile in milk, cheese and whey depending on the season (% of total FA)

FA	Sezon letni (S) i zimowy (W) Summer (S) and Winter (W) season					
	Mleko Milk		Ser Cheese		Serwatka Whey	
	S	W	S	W	S	W
C4:0	$2,92 \pm 0,03^a$	$3,1 \pm 0,04^b$	$3,28 \pm 0,03^a$	$3,32 \pm 0,06^b$	$2,71 \pm 0,09^a$	$2,62 \pm 0,07^a$
C6:0	$1,85 \pm 0,04^a$	$2,13 \pm 0,05^b$	$2,07 \pm 0,05^a$	$2,25 \pm 0,04^b$	$1,68 \pm 0,06^a$	$1,84 \pm 0,05^a$
C8:0	$1,06 \pm 0,03^a$	$1,34 \pm 0,04^b$	$1,15 \pm 0,04^a$	$1,38 \pm 0,03^b$	$0,97 \pm 0,03^a$	$1,17 \pm 0,03^b$
C10:0	$2,25 \pm 0,08^a$	$3,20 \pm 0,10^b$	$2,44 \pm 0,10^a$	$3,26 \pm 0,09^b$	$2,05 \pm 0,08^a$	$2,86 \pm 0,09^b$
C10:1	$0,21 \pm 0,01^a$	$0,34 \pm 0,02^b$	$0,23 \pm 0,01^a$	$0,34 \pm 0,02^b$	$0,24 \pm 0,02^a$	$0,30 \pm 0,02^b$
C12:0	$2,49 \pm 0,08^a$	$3,82 \pm 0,12^b$	$2,66 \pm 0,10^a$	$3,84 \pm 0,11^b$	$2,27 \pm 0,09^a$	$3,51 \pm 0,12^b$
C14:0	$9,84 \pm 0,15^a$	$13,61 \pm 0,41^b$	$10,30 \pm 0,18^a$	$13,39 \pm 0,38^b$	$9,59 \pm 0,21^a$	$13,03 \pm 0,40^b$
C14:1	$0,63 \pm 0,04^a$	$1,09 \pm 0,07^b$	$0,66 \pm 0,03^a$	$1,08 \pm 0,07^b$	$0,63 \pm 0,04$	$1,02 \pm 0,07^b$
C15:0	$1,05 \pm 0,03^a$	$1,32 \pm 0,04^b$	$1,08 \pm 0,02^a$	$1,29 \pm 0,04^b$	$1,02 \pm 0,04^a$	$1,27 \pm 0,04^b$
C16:0	$29,29 \pm 0,47^a$	$40,78 \pm 0,98^b$	$29,25 \pm 0,56^a$	$40,22 \pm 0,94^b$	$29,63 \pm 0,45^a$	$41,47 \pm 1,08^b$
C16:1n-9	$0,55 \pm 0,01^a$	$0,59 \pm 0,01^b$	$0,54 \pm 0,02^a$	$0,57 \pm 0,02^b$	$0,58 \pm 0,02^a$	$0,62 \pm 0,02^a$
C16:1n-7	$1,72 \pm 0,07^a$	$2,24 \pm 0,06^b$	$1,72 \pm 0,06^a$	$2,18 \pm 0,07^b$	$1,74 \pm 0,08^a$	$2,17 \pm 0,07^b$
C17:0	$0,47 \pm 0,03^a$	$0,53 \pm 0,03^a$	$0,44 \pm 0,02^a$	$0,53 \pm 0,02^b$	$0,42 \pm 0,01^a$	$0,54 \pm 0,03^b$
C17:1	$0,33 \pm 0,01^a$	$0,39 \pm 0,01^b$	$0,31 \pm 0,02^a$	$0,39 \pm 0,01^b$	$0,35 \pm 0,02^a$	$0,40 \pm 0,01^b$
C18:0	$11,70 \pm 0,13^a$	$5,98 \pm 0,47^b$	$11,14 \pm 0,10^a$	$6,12 \pm 0,46^b$	$12,16 \pm 0,12^a$	$6,61 \pm 0,53^b$
C18:1n-9	$24,78 \pm 0,65^a$	$15,43 \pm 1,03^b$	$24,12 \pm 0,68^a$	$15,62 \pm 0,98^b$	$24,68 \pm 0,83^a$	$16,16 \pm 1,09^b$
C18:1n-7	$4,26 \pm 0,18^a$	$1,50 \pm 0,11^b$	$4,12 \pm 0,16^a$	$1,56 \pm 0,10^b$	$4,70 \pm 0,15^a$	$1,67 \pm 0,13^b$
C18:2n-6	$1,79 \pm 0,03^a$	$1,21 \pm 0,04^b$	$1,77 \pm 0,02^a$	$1,23 \pm 0,04^b$	$1,85 \pm 0,02^a$	$1,30 \pm 0,04^b$
C18:3n-6	$0,06 \pm 0,00^a$	$0,07 \pm 0,00^b$	$0,06 \pm 0,01^a$	$0,07 \pm 0,00^b$	$0,07 \pm 0,01^a$	$0,07 \pm 0,00^a$
C18:3n-3	$1,01 \pm 0,04^a$	$0,69 \pm 0,04^b$	$1,00 \pm 0,04^a$	$0,69 \pm 0,03^b$	$1,08 \pm 0,04^a$	$0,71 \pm 0,03^b$
CLA	$1,36 \pm 0,07^a$	$0,38 \pm 0,03^b$	$1,30 \pm 0,05^a$	$0,39 \pm 0,03^b$	$1,22 \pm 0,06^a$	$0,40 \pm 0,03^b$
C20:0	$0,17 \pm 0,00^a$	$0,12 \pm 0,01^b$	$0,16 \pm 0,00^a$	$0,12 \pm 0,00^b$	$0,17 \pm 0,01^a$	$0,11 \pm 0,01^b$
C20:1	$0,13 \pm 0,00^a$	$0,08 \pm 0,00$	$0,13 \pm 0,00^a$	$0,09 \pm 0,00^b$	$0,12 \pm 0,01^a$	$0,09 \pm 0,01^b$

Średnie $\pm$ SD w kolumnach dotyczące tego samego produktu oznaczone różnymi literami (a, b, c, d) różnią się istotnie statystycznie istotnie przy $P < 0,05$.

Means $\pm$ SD in columns for the same product marked with the different letter (a, b, c, d) are statistically significantly different at $P < 0.05$.

Tabela 3. Rodzaje i proporcje kwasów tłuszczowych w mleku, serze i serwatce w zależności od pory roku (% od sumy FA)
 Table 3. Types and proportions of fatty acids in milk, cheese and whey depending on the season (% of total FA)

FA	Sezon letni (S) i zimowy (W) Summer (S) and Winter (W) season					
	Mleko Milk		Ser Cheese		Serwatka Whey	
	S	W	S	W	S	W
n-3	1,01 ± 0,04 ^a	0,69 ± 0,04 ^b	1,00 ± 0,04 ^a	0,69 ± 0,03 ^b	1,08 ± 0,40 ^a	0,71 ± 0,03 ^b
n-6	1,85 ± 0,03 ^a	1,28 ± 0,05 ^b	1,83 ± 0,02 ^a	1,30 ± 0,04 ^b	1,92 ± 0,20 ^a	1,37 ± 0,05 ^b
n3/n6	0,55 ± 0,03 ^a	0,54 ± 0,02 ^a	0,54 ± 0,02 ^a	0,53 ± 0,02 ^a	0,56 ± 0,02 ^a	0,52 ± 0,01 ^a
n6/n3	1,86 ± 0,10 ^a	1,88 ± 0,05 ^a	1,88 ± 0,08 ^a	1,90 ± 0,05 ^a	1,79 ± 0,60 ^a	1,37 ± 0,05 ^a
SFA	63,10 ± 0,56 ^a	75,92 ± 1,12 ^b	63,98 ± 0,65 ^a	75,72 ± 1,08 ^b	62,67 ± 0,80 ^a	75,04 ± 1,24 ^b
MUFA	32,62 ± 0,59 ^a	21,67 ± 1,03 ^b	31,82 ± 0,65 ^a	21,83 ± 1,00 ^b	33,04 ± 0,81 ^a	22,42 ± 1,15 ^b
PUFA	4,22 ± 0,06 ^a	2,34 ± 0,01 ^b	4,13 ± 0,06 ^a	2,38 ± 0,09 ^b	4,22 ± 0,09 ^a	2,48 ± 0,09 ^b
AI	2,01 ± 0,05 ^a	4,34 ± 0,30 ^b	2,13 ± 0,07 ^a	4,24 ± 0,29 ^b	1,97 ± 0,08 ^a	4,14 ± 0,32 ^b
OFA	39,13 ± 0,49 ^a	54,39 ± 1,29 ^b	39,54 ± 0,62 ^a	53,61 ± 1,26 ^b	39,22 ± 0,53 ^a	54,50 ± 1,44 ^b
DFA	48,54 ± 0,54 ^a	29,99 ± 1,59 ^b	47,10 ± 0,69 ^a	30,33 ± 1,53 ^b	49,41 ± 0,80 ^a	31,50 ± 1,76 ^b

Średnie ± SD w wierszach dotyczące tego samego produktu oznaczone różnymi literami (a, b, c, d) różnią się istotnie statystycznie istotnie przy P<0,05.

Means ± SD in rows for the same product marked with the different letter (a, b, c, d) are statistically significantly different at P<0.05.

Omówienie wyników

Mleko uzyskane od krów z gospodarstwa rodzinnego charakteryzowało się wyższymi wartościami aktywności przeciwutleniającej w porównaniu do wyników badań Pokorskiej i in. (2017), przeprowadzonych na mleku krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, będących w tym samym wieku (1,73–3,49 μM TE/g m.m.). Wyższe wartości TEAC mleka krów z gospodarstwa na Orawie mogą być związane z udziałem mleka rasy polskiej czerwonej w mleku zbiorczym, jak również z żywieniem opartym na zielonce z trwałych użytków zielonych. Ser twarogowy produkowany w gospodarstwie rodzinnym na Orawie posiadał podobną wartość pojemności przeciwutleniającej jak ser o zawartości tłuszczu 4% z OSM Hajnówka (1,12 μM TE/g m.m.) (Ochrem i in., 2015).

Wyniki uzyskane w niniejszej pracy znajdują potwierdzenie w badaniach Radkowskiej (2013), które wykazały pozytywny wpływ żywienia pastwiskowego zwierząt w regionach górskich na właściwości zdrowotne mleka, w tym wyższą zawartość kwasów MUFA i PUFA oraz DFA. Podobnie, w badaniach Zapletal i Maj (2023), wyższe poziomy pożądaných kwasów DFA i stosunki DFA/OFA, a także znacznie więcej CLA i C18:1n-7 stwierdzono w mleku spożywczym z regionów górskich w sezonie letnim. Mleko, ser twarogowy i serwatka miały też pożądaną ze względów zdrowotnych stosunek kwasów wielonienasyconych n-6/n-3, ze względu na fakt, że stosunek kwasów n-6 do n-3 w roślinach łąkowych i pastwiskowych jest niski.

Żywienie pastwiskowe zwiększyło udział PUFA i CLA. Badanie Pacheco-Pappenheim i in. (2021) wykazało dużą sezonową zmienność składu kwasów tłuszczowych i triacylogliceroli w mleku bydła holenderskiego. Maksymalny udział C18:3 cis-9,12,15 późną wiosną i latem odzwierciedlał zwiększone spożycie świeżych ziół w tych okresach. Zimą wysoka dostępność krótkołańcuchowych FA i C16:0 zwiększała powstawanie triacylogliceroli o niskiej i średniej masie cząsteczkowej, podczas gdy latem wysokie stężenia długołańcuchowych nienasyconych FA zwiększały powstawanie triacylogliceroli o dużej masie cząsteczkowej. Badania Niero i in. (2021) wykazały pozytywny wpływ wypasu w obszarach górskich na profil FA mleka krów rasy simentalskiej i mieszańców w gospodarstwie alpejskim z punktu widzenia nutraceutycznego. Stężenia C14:0, C16:0 oraz krótko- i średniołańcuchowych FA były mniejsze przez cały sezon letni. Według Allison i in. (2020) mleko od krów wypasanych na trwałych użytkach zielonych wyróżnia się korzystniejszym profilem FA. Mleko takie ma wyższą zawartość unikalnych bioaktywnych FA w porównaniu do mleka konwencjonalnego i mleka wzbogaconego w kwasy tłuszczowe n-3, szczególnie w sezonie

letnim. Badania przeprowadzone na mleku, serze i serwatce potwierdzają sezonową zmienność w profilu FA wykazaną w wynikach cytowanych badań.

Podsumowanie

Pojemność przeciwutleniająca mleka surowego znacznie przewyższała aktywność antyoksydacyjną sera twarogowego i serwatki. Mleko uzyskane od krów z terenów górskich na Orawie charakteryzowało się wyższymi wartościami TEAC w porównaniu do wyników badań prezentowanych w literaturze, a przeprowadzonych na mleku krów z innych regionów kraju. Mleko, ser i serwatka charakteryzowały się istotnie wyższym ($P < 0,05$) udziałem prozdrowotnych MUFA i PUFA oraz zawartością CLA i kwasu α -linolenowego (C18:3n-3) w sezonie pastwiskowym. Istotnie wyższe ($P < 0,05$) poziomy pożądaných kwasów o działaniu hipocholesterolemicznym (DFA) stwierdzono w mleku i jego produktach w sezonie letnim. Mleko, ser twarogowy i serwatka pozyskane w sezonie letnim miały również najniższy indeks miazdżycowy (AI), a różnice w porównaniu z okresem zimowym były istotne.

Piśmiennictwo

- Allison L., Unger A.L., Bourne D.E., Walsh H., Kraft J. (2020). Fatty acid content of retail cow's milk in the Northeastern United States – what's in it for the consumer. *J. Agr. Food Chem.*, 68: 4268–4276; doi: <https://dx.doi.org/10.21/acs.jafc.9b07390>
- Barłowska J., Litwińczuk Z. (2009). Genetyczne i środowiskowe uwarunkowania profilu kwasów tłuszczowych mleka. *Med. Wet.*, 65, 310–314.
- Barłowska J., Chabuz W., Król J., Sz wajkowska M., Litwińczuk Z. (2012). Wartość odżywcza i przydatność technologiczna mleka produkowanego w systemie intensywnym i tradycyjnym w 3 rejonach wschodniej Polski. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.* 4(83): 122–135.
- Barłowska J., Florek M., Litwińczuk Z. (2016). Mleko i mięso zwierząt przeżuwających jako źródło substancji biologicznie czynnych cz. 1. Mleko. *Prz. Hod.*, 2: 1–4.
- Białek M., Czauderna M. (2016). Budowa chemiczna oraz funkcje fizjologiczne wybranych antyoksydantów. Wyd. Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. J. Kielanowskiego PAN, Jabłonna, 154 ss.
- Bochenek A., Kuczyńska B. (2017). Charakterystyka substancji biologicznie aktywnych tłuszczu mlekowego predisponująca produkty mleczarskie do uznania ich jako żywność funkcjonalną. *Prz. Mlecz.*, 11: 47–51.
- Cichosz G., Czczot H. (2012). Tłuszcz mlekowy w profilaktyce chorób nowotworowych. *Pol. Merk. Lek.*, 33, 195: 168–172.
- Cifuni G.F., Claps S., Signorelli F., Di Francia A., Di Napoli M.A. (2022). Fatty acid and terpenoid profile: A signature of mountain milk. *Int Dairy J.*, 127: 105301; doi: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105301>
- Ciołkowska A., Kozioł J., Gustaw W. (2012). Sprzężony kwas linolowy (CLA) – bioaktywny składnik tłuszczu mlekowego. *Prz. Mlecz.*, 8: 10–15.
- Dopieralska P., Barłowska J., Teter A., Król J., Brodziak A., Domaradzki P. (2020). Changes in fatty acid and volatile compound profiles during storage of smoked cheese made from the milk of native Polish cow breeds raised in the Low Beskids. *Animals*, 10, 2103; doi:10.3390/ani10112103
- Gabryszuk M., Sakowski T., Metera E., Kuczyńska B., Rembiałkowska E. (2013). Wpływ żywienia na zawartość składników bioaktywnych w mleku krów z gospodarstw ekologicznych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 88: 16–26.

- Kholif A.E., Olafadehan O.A. (2022). Dietary strategies to enrich milk with healthy fatty acids – A review. *Ann. Anim. Sci.*, 22: 523–536; doi: <https://doi.org/10.2478/asas-2021-0058>
- Krzęcio-Nieczyporuk E., Antosik K. (2015). Spożycie wybranych produktów pochodzenia zwierzęcego a zachorowalność na choroby cywilizacyjne. *Prz. Hod.*, 6: 8–11.
- Kuczyńska B., Nałęcz-Tarwacka T., Puppel K. (2013). Bioaktywne składniki jako wyznacznik jakości prozdrowotnej mleka. *Med. Rodz.*, 1: 11–18.
- Kulbacka J., Saczko J., Chwiłkowska A. (2009). Stres oksydacyjny w procesach uszkodzenia komórek. *Pol. Merkuriusz Lek.*, 27, 157: 44–47.
- Ledoux M., Chardigny J.M., Darbois M., Soustre Y., Sebedio J.L., Laloux L. (2005). Fatty acid composition of French butters, with special emphasis on conjugated linoleic acid (CLA) isomers. *J. Food Compos. Anal.*, 18: 409–425; doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2004.01.001>
- Lopez A., Bellagamba F., Savoini G., Moretti V.M., Cattaneo D. (2022). Characterization of fat quality in cow milk from alpine farms as influenced by seasonal variations of diets. *Animals*, 12: 515; doi: <https://doi.org/10.3390/ani12040515>
- Magan J.B., O’Callaghan T.F., Kelly A.L., McCarthy A.A. (2021). Compositional and functional properties of milk and dairy products derived from cows fed pasture or concentrate-based diets. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 20: 2769–2800; <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12751>
- Molik E., Musiał J., Flis Z. (2021). Rola substancji antyoksydacyjnych mleka owczego. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 48: 145–153.
- Niero G., Bobbo T., Callegaro S., Visentin G., Pornaro C., Cassandro M., Giulio Cozzi G., De Marchi M., Mauro Penasa M. (2021). Summer pasture in mountainous area affects milk fatty acid profile of dual-purpose cows. *Agriculture*, 11: 928; <https://doi.org/10.3390/agriculture11100928>
- Ochrem A., Zapletal P., Pustkowiak H., Żychlińska-Buczek J. (2015). Profil kwasów tłuszczowych i pojemność przeciwutleniająca serów podpuszczkowych i twarogowych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2: 188–195.
- Pacheco-Pappenheim S., Yener S., Heck J.M.L., Dijkstra J., van Valenberg H.J.F. (2021). Seasonal variation in fatty acid and triacylglycerol composition of bovine milk fat. *J. Dairy Sci.*, 104: 8479–8492; <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19856>
- Pokorska J., Poskart K., Kułaj D., Ochrem A., Dusza M., Gil Z., Świętek E., Makulska J. (2017). Effect of g.9476869G>A myeloperoxidase (MPO) gene polymorphism on the antioxidant activity of milk from Polish Holstein-Friesian cows of the Black-and-White variety (HO). *J. Dairy Res.*, 84(2): 159–163; <https://doi.org/10.1017/S0022029917000139>
- Przybylska P., Kuczaj M. (2024). Relationship between selected SNPs (g.16024A/G, g.16039T/C and g.16060A/C) of the FASN gene and the fat content and fatty acid profile in the milk of three breeds of cows. *Animals*, 14, 1934; <https://doi.org/10.3390/ani14131934>
- Radkowska I. (2013). Wpływ systemu utrzymania i żywienia na zawartość kwasów tłuszczowych, witamin oraz makroelementów w mleku krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 40: 171–182.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *FREE Radical Bio. Med.*, 26: 1231–1237.
- Rodríguez-Bermúdez R., Ramiro Fouz R., Rico M., Camino F., Souza T.K., Marta Miranda M., Francisco Javier Diéguez F.J. (2023). Factors affecting fatty acid composition of Holstein cow’s milk. *Animals*, 13: 574; doi: <https://doi.org/10.3390/ani13040574>

- Vetter W., Wendlinger C. (2013). Furan fatty acids – valuable minor fatty acids in food. *Lipid Technology*, 25: 7–10; doi: <https://doi.org/10.1002/LITE.201300247>
- Zapletal P., Maj D. (2023). Fatty acid profile of cow's milk from regions of Małopolska available on the Polish market. *Animal Science and Genetics*, 19, 2: 87–94.
- Żbikowski Z. (2015). Substancje bioaktywne w mleku związane ze zdrowiem człowieka cz. 2. *Lipidy. Prz. Mlecz.*, 8: 28–32.

Zatwierdzono do druku: 25 IV 2025

ANTIOXIDANT CAPACITY OF MILK, CHEESE AND WHEY FROM COWS RAISED IN MOUNTAINOUS AREAS

Piotr Zapletal, Barbara Malkusiak, Grzegorz Skrzyński

SUMMARY

The aim of the study was to determine the level of antioxidants in milk, cottage cheese and whey from cows kept on a family farm in Orava. The fatty acid (FA) profile in raw milk, cheese and whey was also assessed, which is of significant importance in shaping the antioxidant capacity of products obtained from them. The antioxidant capacity was determined using the TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) method based on spectrophotometric measurement of the quenching of ABTS radicals by antioxidants contained in the sample, at a wavelength of 734 nm. The fatty acid profile was analyzed using a Trace GC Ultra gas chromatograph. The analysis included the content of fatty acids with hypocholesterolemic (DFA) and hypercholesterolemic (OFA) effects and calculated the atherosclerotic index (AI). The antioxidant capacity of raw milk significantly exceeded the antioxidant activity of cottage cheese and whey. Milk obtained from cows from mountain areas in Orava was characterized by higher TEAC values compared to the results of studies presented in the literature and conducted on milk from cows from other regions of Poland. Milk, cheese and whey were characterized by a significantly higher ($P<0.05$) share of health-promoting monounsaturated fatty acids (MUFA) and polyunsaturated fatty acids (PUFA) and the content of conjugated linoleic acid (CLA) and α -linolenic acid C18:3n-3 in the pasture season. Significantly higher ($P<0.05$) levels of desirable acids with hypocholesterolemic effect (DFA) were found in milk and its products in the summer season. Milk, cottage cheese and whey obtained in the summer season also had the lowest atherosclerosis index (AI), and the differences compared to the winter period were significant.

Keywords: cow's milk, cottage cheese, whey, antioxidants, fatty acids