

Marika Kowalska, Grażyna Cichosz

PRODUKTY MLECZARSKIE – NAJLEPSZE ŹRÓDŁO CLA

Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego
Kierownik: dr hab. *B. Staniewski*, prof. UWM

Hasła kluczowe: sprzężone dieny kwasu linolowego (CLA), mleko i produkty mleczarskie, działanie prozdrowotne.

Key words: conjugated linoleic acid (CLA), milk and dairy products, health properties.

PRODUKTY MLECZARSKIE – NAJLEPSZE ŹRÓDŁO CLA

Źródłem naturalnych kwasów tłuszczowych (KT) izomerii *trans* m.in. sprzężonych dienów kwasu linolowego (CLA) w diecie człowieka jest mleko i mięso przeżuwaczy. Spożycie naturalnych izomerów *trans* w Europie wynosi ok. 2 g dziennie, przy czym mleko i produkty mleczarskie oraz mięso przeżuwaczy dostarczają z codzienną dietą odpowiednio 30% i 10% wszystkich KT izomerii *trans*. W Polsce spożycie zarówno naturalnych, jak i sztucznych izomerów *trans* wynosi od 2,8 do 6,9 g/dzień, z czego aż 70% stanowią izomery powstające sztucznie (1).

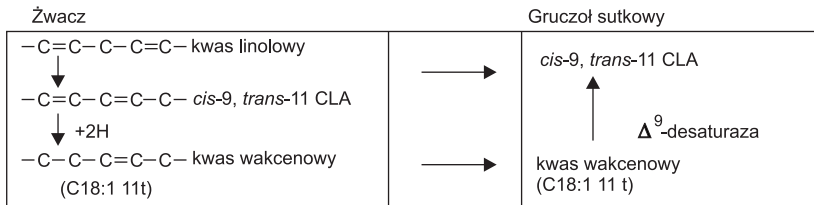
W licznych badaniach klinicznych udowodniono, że sprzężone dieny kwasu linolowego wykazują szereg właściwości prozdrowotnych: działają immunostymulująco, zapobiegają otyłości poprzez hamowanie wzrostu komórek tłuszczowych (*trans*-10, *cis*-12 CLA), a także cukrzycy typu 2 (2). W piśmiennictwie dobrze udokumentowane są antyoksydacyjne, antymiażdżycowe oraz antynowotworowe właściwości CLA (3, 4, 5).

Z powyższych względów sprzężone dieny kwasu linolowego są przedmiotem zainteresowania naukowców, dietetyków i lekarzy.

Synteza sprzężonych dienów kwasu linolowego CLA

W niemal wszystkich naturalnych tłuszczach, nienasycone kwasy tłuszczowe występują w formie geometrycznej *cis*. Jedynie w tłuszczu zwierząt przeżuwających (bydło, owce, kozy) wyróżnia się izomery *trans*, stanowiące 4–6% wszystkich kwasów tłuszczowych. Izomeryzacja KT o konfiguracji *cis* w formę *trans* jest możliwa dzięki bakteriom, bytującym w żwaczu. Bakterie z gatunku *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Clostridium lochheadi* i *Cellobioparum* syntetyzują izomery oraz hydratazy m.in. kwasu linolowego, α -linolenowego i oleinowego. Wolne KT: α -linolenowy, linolowy i oleinowy o konfiguracji *cis* uwalniane są po hydrolizie triglicerydów (obecnych w tłuszczach paszy) przez lipazy żwacza. Następnie w przemianach enzymatycznych bakterie przekształcają wolne KT do form umożliwiających ich fizjo-

logiczne wykorzystanie w komórce. Wskutek biouwodorowania oraz izomeryzacji poziomej i geometrycznej wytwarzane są odrębne izomery *cis* i *trans* kwasu α -linolenowego i linolowego oraz kwasu oleinowego i wakcenoowego. Z kwasu wakcenoowego (*trans*-11 oktadekaenowego) pod wpływem Δ^9 -desaturazy poprzez wprowadzenie w pozycję 9 wiązania nienasyconego o konfiguracji *cis* powstają sprzężone dieny kwasu linolowego CLA (6).



Ryc. 1. Powstawanie izomeru C18:2 9-c,11-t CLA w mleku.

Fig. 1. Formation of C18:2 9-c, 11-t CLA isomer in milk.

Sprężone dieny kwasu linolowego CLA to grupa pozycyjnych i geometrycznych izomerów kwasu linolowego, odznaczających się obecnością sprzężonego układu wiązań podwójnych. Wyróżnia się 28 pozycyjnych i geometrycznych izomerów CLA różniących się miejscem występowania wiązań podwójnych oraz konfiguracją przestrzenną *cis* i *trans* (*cis-cis*, *trans-trans*, *cis-trans*, *trans-cis*), wśród których, ze względu na wysoką aktywność biologiczną, na szczególną uwagę zasługują izomery: *cis*-9, *trans*-11 oraz *trans*-10, *cis*-12 CLA (7). Wymienione formy różnią się między sobą umiejscowieniem atomów wodoru względem atomów węgla, połączonych wiązaniem podwójnym, stąd izomery *trans* posiadają prosty, zaś izomery *cis* zakrzywiony łańcuch węglowodorowy.

Naturalne izomery *trans* obecne w mleku i tłuszczu przeżuwaczy, odznaczające się wszechstronnym prozdrowotnym działaniem nie mogą być utożsamiane z powstającymi sztucznie, podczas wysokotemperaturowej obróbki olejów roślinnych. Te bowiem, stanowią ewidentne zagrożenie dla zdrowia konsumentów: działają immunosupresyjnie, aterogennie i kancerogennie. Ponadto, sprzyjają kumulacji tkanki tłuszczowej, prowadząc tym samym do otyłości brzusznej, zespołu metabolicznego i cukrzycy typu 2 (1).

Prozdrowotne właściwości CLA

Immunostymulujące działanie sprzężonych dienów kwasu linolowego polega na wzmoczonej produkcji ciał odpornościowych, głównie limfocytów oraz zwiększonej zdolności fagocytarnej (8). Badania randomizowane prowadzone na zdrowych ochotnikach potwierdzają, iż suplementacja diety mieszaniną dwóch izomerów CLA (*cis*-9, *trans*-11 oraz *trans*-10, *cis*-12 w proporcji 1 : 1) w dawce 3 g/dzień przez 12 tygodni skutkuje zwiększonym poziomem IgA oraz IgM, przy jednoczesnym spadku poziomu IgE. Ponadto, zaobserwowano spadek cytokin prozapalnych – interleukin-1 (IL-1), oraz czynnika martwicy guzów (TNF- α), a także wzrost cytokin przeciwzapalnych (IL-10) (9).

Z licznych badań wynika, że sprzężone dieny kwasu linolowego skutecznie zwiększają wrażliwość tkanek na insulinę, a tym samym, redukują hiperinsulinemię, a także poziom wolnych kwasów tłuszczowych we krwi (10). Są skuteczne w redukcji oraz zapobieganiu odkładania się tkanki tłuszczowej. Ograniczają aktywność lipazy lipoproteinowej (odpowiedzialnej za kumulację tłuszczu w adipocytach), a także desaturazy stearoilo-CoA (SCD) – kluczowego enzymu biorącego udział w biosyntezie jednonienasyconych kwasów tłuszczowych. Ponadto, poprzez aktywację transferazy palmitynianowej, intensyfikują proces β -oksydacji. Niezależnie od powyższego, izomer *trans*-10, *cis*-12 CLA może również wpływać na liczbę powstających adipocytów, redukując zdolność do różnicowania się preadipocytów (11, 12).

Podaż CLA (mieszanka izomerów *cis*-9, *trans*-11 i *trans*-10, *cis*-12 w proporcji 1:1) w ilości 3,4 g/dzień przez 12 tygodni w diecie otyłych skutkuje spadkiem masy tkanki tłuszczowej (2). Potwierdziły to także badania randomizowane (z podwójnie ślepą próbą oraz placebo), prowadzone na grupie 60 pacjentów z zespołem metabolicznym, którym przez 12 tygodni podawano 500 cm³ mleka suplementowanego mieszaniną izomerów CLA w ilości 3 g (13). Konsekwencją spadku masy tkanki tłuszczowej jest zmniejszenie otyłości brzusznej. Po 4 tyg. podawania izomerów CLA w ilości 4,2 g/dzień u badanych mężczyzn zaobserwowano zmniejszenie obwodu o zaledwie 0,6 cm w porównaniu do grupy placebo. W tych krótkotrwałych badaniach nie odnotowano również wpływu CLA na inne czynniki ryzyka chorób układu krążenia takie, jak ogólna masa ciała, BMI czy wpływ na metabolizm tłuszczu i glukozy (10).

Stosowanie mieszaniny izomerów *cis*-9, *trans*-11 i *trans*-10, *cis*-12 CLA (w proporcji 1:1) w ilości 3 g/dzień przez 8 tyg. w grupie pacjentów z glikemią kontrolowaną za pomocą diety nie wpłynęło na metabolizm insuliny i glukozy. Wpłynęło jednak na poprawę profilu lipidowego krwi: przy niezmiennym poziomie LDL, obserwowano zdecydowany wzrost HDL, obniżenie stosunku LDL do HDL, a także spadek stężenia fibrynogenu (14).

Z powyższego wynika, że suplementy oraz bogate w CLA produkty mleczarskie odmiennie wpływają na metabolizm insuliny i glukozy oraz profil lipidowy krwi. Efekty metaboliczne zależne są nie tylko od dawki CLA w diecie, ale także od czasu jej stosowania. Oprócz CLA na profil lipidowy wpływają również inne składniki tłuszczu mlekowego, zwłaszcza krótkołańcuchowe nasycone KT oraz pozostałe antyoksydanty.

Dzięki właściwościom antyoksydacyjnym sprzężone dieny kwasu linolowego CLA chronią lipidy strukturalne przed działaniem wolnych rodników (reakcjami rodnikowymi) (15). Nawet w niskich stężeniach są bardziej efektywne w zmiataniu wolnych rodników niż α - tokoferol, a ich aktywność antyoksydacyjna zbliżona jest do aktywności stosowanego w żywności syntetycznego antyoksydanta – butylohydroksytoluenu (BHT) (16, 17). Wyniki badań *Badr El-Din* i *Omaye* (17) dowodzą, iż CLA są skuteczne w hamowaniu peroksydacji oleju kukurydzianego, indukowanej jonami miedzi, w 10-krotnie niższym stężeniu niż α - tokoferol. Ponadto, zarówno izomer *cis*-9, *trans*-11, jak też *trans*-10, *cis*-12 CLA jest zdolny do wygaszania rodnika DPPH w stężeniach 5 i 25 mmol/dm³. Izomery te, zdolne są także do hamowania utleniania triacylogliceroli bogatych w wielonienasycone kwasy tłuszczowe C20:5 n-3 i C22:6 n-6, przy czym izomer *trans*-10, *cis*-12 CLA jest bardziej efektywny (18).

Mechanizm biologicznego oddziaływania sprzężonych dienów kwasu linolowego nie jest do końca poznany (16). W piśmiennictwie dostępne są również wyniki badań świadczące o prooksydacyjnym działaniu CLA. Dodatek CLA (w ilości 0,1 do 1%) do oleju canola przed ogrzewaniem w temp. 90°C skutkuje przyspieszeniem peroksydacji tłuszczów (19). Również badania prowadzone przez *Van der Berg'a* i współpr. (20) dowodzą, iż CLA nie jest skuteczny w hamowaniu peroksydacji błony (membrany) zbudowanej z 1-palmito-2-linolo-fosfatydylocholino (PLPC). Witamina E (1 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$) skutecznie hamowała utlenianie PLPC zainicjowane przez nadtlenek wodoru/ Fe^{2+} (500 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3/0,05-20 \mu\text{mol}/\text{dm}^3$), podczas gdy CLA (1–50 $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$) okazały się nieskuteczne. Podatność CLA na utlenianie w warunkach doświadczenia była podobna jak kwasu arachidonowego, ale wyższa niż kwasu linolenowego (20).

Ze względu na obecność sprzężonych wiązań nienasyconych CLA są bardziej podatne na procesy oksydacji oraz izomeryzacji, aniżeli ich prekursor – kwas linolowy (21). Powodem rozbieżności wyników uzyskiwanych przez różnych autorów w ocenie antyoksydacyjnej aktywności CLA może być również dysproporcja między kinetyką powstawania wolnych rodników (WR) oraz reakcji zachodzących z ich udziałem, a szybkością eliminowania WR przez antyoksydanty. Kinetyka reakcji z udziałem antyoksydantów jest o kilka rzędów wielkości wolniejsza od tempa powstawania rodników tlenowych i ich reaktywnych pochodnych (22).

Wbrew pozorom, wyniki badań *Badr El-Din* (17) oraz *Chen* (19) dotyczące skuteczności CLA w hamowaniu peroksydacji olejów roślinnych nie są sprzeczne. Olej canola jest wyjątkowo podatny na utlenianie ze względu na wysoką zawartość kwasu linolenowego (6–14%) oraz KT jednonienasyconych (C 18:1, C20:1, C22:1), a także 2-krotnie niższą (w porównaniu do oleju kukurydzianego) zawartość KT nasyconych (17, 19). Jakkolwiek CLA nie zawsze jest skuteczny w hamowaniu procesów oksydacji nienasyconych KT w olejach jadalnych, podczas ich obróbki termicznej, to jednak nie świadczy to o tym, że nie jest on aktywny w organizmie człowieka.

W piśmiennictwie dostępne są liczne prace świadczące o antymiażdżycowych właściwościach sprzężonych dienów kwasu linolowego. Suplementacja wysokotłuszczowej, rzekomo aterogennej, diety mieszaniną CLA w ilości 2,5 g oraz 5,0 g/kg, skutkowała w przypadku myszy spadkiem stężenia triglicerydów oraz znaczącym wzrostem wskaźnika HDL : cholesterol całkowity. Podobnie u myszy z zaawansowaną cukrzycą (ale także w grupie kontrolnej) izomer *cis-9, trans-11* CLA w ilości 0,9% powodował spadek stężenia triglicerydów oraz wzrost poziomu HDL-cholesterolu o ok. 50%, jednak bez zahamowania rozwoju zmian miażdżycowych. Wzbogacenie aterogennej diety w mieszaninę (80:20) izomerów *cis-9, trans-11* oraz *trans-10, cis-12* CLA w ilości 1% skutkowało nie tylko zahamowaniem, ale także cofnięciem 90% zmian miażdżycowych. Z bardziej szczegółowych badań wynika, że izomer *trans-10, cis-12* CLA ogranicza przyrost masy ciała, niestety niekorzystnie wpływa na wskaźniki lipidowe krwi. Natomiast izomer *cis-9, trans-11* CLA wykazuje działanie odwrotne (5).

Najprawdopodobniej w zapobieganiu miażdżycy bardziej istotna jest wysoka aktywność antyoksydacyjna CLA. Albowiem hipercholesterolemia nie jest ani jedynym, ani najważniejszym czynnikiem ryzyka miażdżycy. U podłoża zmian miażdżycowych leżą wolnorodnikowe reakcje prowadzące do stanów zapalnych. Udowodniono, że

skoniugowane dieny kwasu linolowego nie tylko hamują procesy zapalne w komórkach, ale zapobiegają im poprzez obniżenie stężenia kwasu arachidonowego we frakcji fosfolipidowej osocza (regulują szlak przemian tego kwasu). Odpowiedzialne są również za istotne obniżenie stężenia cholesterolu całkowitego, frakcji LDL cholesterolu oraz triglicerydów w osoczu krwi. CLA w profilaktyce miażdżycy działają wielokierunkowo: regulują profil lipidowy krwi, zapobiegają hipertriglicydemii, a tym samym otyłości i cukrzycy, i co najważniejsze zapobiegają stanom zapalnym.

Przeciwwzpalne działanie CLA jest równoznaczne z działaniem antymiażdżycowym a także antynowotworowym. Pierwsze doniesienia na temat antykancerogennych właściwości CLA, obecnych w smażonej wołowinie, pojawiły na przełomie lat 70. i 80. ubiegłego stulecia. Od tego czasu w licznych badaniach (w modelu *in vitro*) potwierdzono wysoką aktywność antyproliferacyjną na różnych liniach komórek nowotworowych (23, 24). Antynowotworowe właściwości sprzężonych dienów kwasu linolowego dotyczą możliwości ich wbudowywania w fosfolipidowe błony komórkowe, a tym samym modyfikacji ich przepuszczalności. Skutkuje to wzrostem oporności struktur biologicznych na czynniki wywołujące zmiany nowotworowe (4).

CLA hamują rozwój nowotworów na różnych etapach: inicjacji, promocji i progresji bardziej skutecznie niż stosowane równocześnie tokoferole oraz WNKT z tłuszczu ryb i ssaków morskich. Poza tym, mogą także redukować produkcję eikozanoidów, hamować syntezę DNA oraz angiogenezę (3, 23, 24). Przeciwnowotworowe działanie CLA obserwowane jest przy niskiej dawce – zaledwie 1% tłuszczu diety. Natomiast tłuszcze rybne dla osiągnięcia porównywalnego efektu muszą być stosowane w dawce 10-krotnie większej (25). Wyniki badań prowadzonych na zwierzętach świadczą o tym, że dzienna, efektywna w profilaktyce nowotworów u ludzi, dawka CLA wynosi ok. 3,5 g, czyli znacznie więcej niż spożywamy z żywnością (0,5–1,5 g/dzień) (7). Jednak z opracowań epidemiologicznych wynika, że w krajach o największym spożyciu bogatych w CLA serów dojrzewających umieralność z powodu raka piersi jest mniejsza niż w krajach o niższym spożyciu tych produktów (5). Większa skuteczność CLA obecnego w produktach mleczarskich wynika z obecności innych składników o prozdrowotnym działaniu (α -tokoferol, β -karoten, witamina A i D₃, fosfolipidy, krótkołańcuchowe nasycone kwasy tłuszczowe, kwas wakcenyowy, koenzym Q10, lipidy eterowe). Poza tym, w organizmie człowieka możliwe są przekształcenia obecnego w produktach mleczarskich kwasu wakcenyowego do CLA (22).

Pokarmowe źródła CLA

Źródłem sprzężonych dienów kwasu linolowego w diecie człowieka są przede wszystkim produkty mleczarskie, które dostarczają ok. 70%, podczas gdy wołowina zapewnia ok. 25% całkowitego pobrania (26). Najwięcej CLA, nawet 2-krotnie więcej w porównaniu do mleka krowiego, zawiera mleko owcze. Natomiast mleko kłaczy odznacza się ok. 4-krotnie niższą zawartością CLA w porównaniu do krowiego. Również mleko kozie jest gorszym źródłem CLA, aniżeli mleko pozyskiwane od krów (7).

Ważnym źródłem sprzężonych dienów kwasu linolowego jest mięso wołowe (1,2–10,0 mg CLA/g tłuszczu), a przede wszystkim jagnięcina (4,3–11,0 mg CLA/g tłuszczu). Nieznaczne ilości CLA (<1 mg/g tłuszczu) zawiera także mięso wieprzowe oraz drób (27).

W bardzo małych ilościach CLA obecny jest w olejach roślinnych (do 0,7 mg/g tłuszczu). Sprzężone dieny kwasu linolowego powstają w procesie rafinacji, głównie podczas dezodoryzacji, jak również podczas obróbki kulinarnej np. smażenie. Również margaryny zawierają niewielkie ilości CLA (0,1–0,5 mg/g tłuszczu), ze względu na ich obecność w surowcu (oleju), a także w wyniku powstawania podczas procesu uwodornienia (21).

Sprzężone dieny kwasu linolowego w mleku

Zawartość CLA w mleku krowim jest bardzo zróżnicowana: od 2 nawet do 37 mg/g tłuszczu przy stosowaniu suplementacji paszy olejami roślinnymi (28, 29). Dominującym (85–90%) jest izomer *cis*-9, *trans*-11 CLA, zwany kwasem zwaczowym, bądź rumenowym. Izomery *trans*-7, *cis*-9 oraz *trans*-10, *cis*-12 CLA stanowią odpowiednio ok. 10 i 3–5%, pozostałe izomery stanowią ok. 1% ogółu CLA (7). Zróżnicowanie zawartości CLA w mleku krowim wynika z wielu czynników, zarówno fizjologicznych, takich jak rasa krów, a także środowiskowych, przede wszystkim pory roku oraz sposobu żywienia. Rasa krów wpływa na poziom CLA w większym stopniu niż okres laktacji. *Kelsey* i współpracownicy (30) podaje, iż mleko rasy holsztyńsko-fryzyskiej (hf) zawiera więcej CLA aniżeli mleko rasy jersey oraz brązowej szwajcarskiej (30). Najprawdopodobniej jest to wynikiem większej aktywności Δ^9 -desaturazy u krów rasy hf (6). Wśród krajowych ras krów mlecznych najwyższą zawartość izomerów CLA stwierdza się w mleku polskiej czerwonej oraz siementalskiej (odpowiednio 0,92% i 0,69% całkowitej zawartości KT). Mniej korzystnym udziałem sprzężonych dienów kwasu linolowego odznacza się mleko pozyskiwane od krów rasy biało-czarnej (0,39% całkowitej zawartości KT) (31). Jednak różnice w zawartości CLA obserwuje się także w mleku od krów tej samej rasy, pochodzących z jednego stada, karmionych tą samą paszą (od 2,3 do 7,2 mg/g tłuszczu) (28, 30).

Udział sprzężonych dienów kwasu linolowego w mleku oraz produktach mleczarskich zależy przede wszystkim od sposobu żywienia krów, a także pory roku. Wysokie zawartości CLA stwierdza się w mleku zwierząt, otrzymujących paszę suplementowaną olejami roślinnymi bądź rybnyimi oraz żywionych pastwiskowo (28). Ukierunkowana suplementacja paszy, poprzez dodatek oleju słonecznikowego i lnianego, powoduje wzrost zawartości CLA w mleku (28). Również dodatek do paszy oleju sojowego w ilości 2% skutkuje wzrostem udziału CLA w mleku (o 237%) (32). Dodatek surowych nasion oleistych jest mniej efektywny niż dodatek olejów. Po wytłoczeniu z nasion olej staje się bardziej dostępny dla bakterii zwaczowych, odpowiedzialnych za proces biouwodornienia WNKT n-6 i n-3. Nasiona roślin oleistych stają się bardziej przydatne, jako suplementy pasz (powodujące wzrost CLA w mleku) w wyniku procesu mielenia, prażenia, ekstrudowania, czy też płatkowania (32). Od niedawna popularnym sposobem zwiększania udziału CLA w mleku jest również dodatek do pasz oleju rybnego (7). Należy podkreślić, że olej ten nie jest bogatym źródłem kwasu linolowego. Jednak zawarte w nim kwasy EPA i DHA odpowiedzialne są za hamowanie redukcji kwasu wakcenenowego do kwasu stearynowego, czego skutkiem jest zwiększony poziom kwasu wakcenenowego w zwaczu. Dodatek oleju rybnego do paszy w ilości 2% skutkuje prawie 4-krotnym wzrostem zawartości CLA w mleku (22 mg/g tłuszczu w porównaniu do 6 mg/g tłuszczu) (33).

Dhiman i współpr. (34) udowodnili, że skutkiem pastwiskowego żywienia krów jest duży wzrost zawartości CLA w mleku (prawie o 500% do 2,21% tłuszczu) w porównaniu do mleka od krów skarmianych zbożem lub kiszonkami z lucerny i kukurydzy (0,38% tłuszczu). Prawdopodobnie wynika to z wyższej podaży prekursorów CLA tj. kwasu linolowego oraz linolenowego, w które bogate są świeże trawy. Stwierdzono wysoką korelację pomiędzy pobraniem kwasu linolowego i linolenowego z paszy, a zawartością CLA w mleku. Ponadto, w wyniku żywienia pastwiskowego wzrasta aktywność Δ^9 -desaturazy, co intensyfikuje syntezę CLA (35).

O zawartości CLA w mleku decyduje nie tylko ilość jego prekursorów w paszy. Mleko krów żywionych pastwiskowo odznacza się wyższym udziałem CLA (2,21% tłuszczu), mimo niższej podaży kwasu linolenowego (102 g/dzień) w porównaniu do mleka krów otrzymujących paszę suplementowaną olejem lnianym (aż 575 g/dzień kwasu linolenowego), które zawiera CLA w ilości 1,67% tłuszczu. Ma to związek ze znacznie mniejszą (średnio o 50–60%) wydajnością mleczną krów wypasanych pastwiskowo, co skutkuje wyższą – nawet o 300–400% koncentracją CLA w mleku (28).

W badaniach *Nalecz-Tarwackiej* (36) określono wpływ zróżnicowanych dawek pokarmowych – letniej opartej na żywieniu pastwiskowym oraz zimowej, której podstawą są kiszonki – na zawartość komponentów frakcji tłuszczowej mleka. W okresie letnim, w mleku stwierdzono istotnie wyższe, aniżeli zimą zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych: linolenowego o 23, EPA o 26,1 oraz DHA o 15%. Stwierdzono także większą zawartość naturalnych izomerów *trans*: kwasu wakceniowego o 88 oraz CLA o 46,1% (36). Podobne zróżnicowanie zawartości CLA w mleku udowodniono w badaniach brytyjskich: najwyższą zawartość CLA stwierdzono w mleku pozyskanym w lipcu oraz sierpniu (2,81 i 2,37 mg/g tłuszczu), najniższą zaś w mleku pochodzącym z listopada i grudnia (0,91 i 1,22 mg/g tłuszczu). Zaobserwowano wyraźną tendencję spadkową zawartości CLA w mleku w okresie od lipca aż do marca (37). Z badań meksykańskich wynika, że średnia zawartość izomeru *cis-9*, *trans-11* CLA była bardzo wysoka i wynosiła aż 9,81 mg/g tłuszczu, przy czym najniższą zawartość stwierdzono w lipcu (8,50 ± 0,37). W badanym mleku nie stwierdzono natomiast obecności izomeru *trans-10*, *cis-12* CLA. Wysoka zawartość CLA była wynikiem diety, zawierającej głównie lucernę (ponad 58,8%), która jest bogatym źródłem prekursorów CLA, tj. kwasu linolowego i linolenowego (38).

Wpływ procesów technologicznych na zmiany zawartości CLA

Wpływ parametrów obróbki surowca na zawartość CLA w mleku spożywczym był przedmiotem wielu badań. Udowodniono, że wysoka pasteryzacja mleka, stosowana w produkcji fermentowanych napojów mlecznych nie wpływa na zmianę zawartości CLA (39, 40). Wiadomo jednak, iż izomery CLA są wrażliwe na oksydację lub izomeryzację podczas ogrzewania. Tłumaczy to spadek zawartości izomeru *cis-9*, *trans-11* CLA w wyniku obróbki cieplnej w temp. powyżej 200°C przez 15 min z 1,7 do 1,1% tłuszczu (40). Tak drastyczna obróbka termiczna nie jest jednak stosowana w przetwórstwie mleka.

W niektórych procesach technologicznych możliwe jest również powstawanie CLA. Obserwowany podczas pieczenia wołowiny, a także produkcji serów topionych wzrost zawartości CLA jest konsekwencją wolnorodnikowej oksydacji kwasu

linolowego. Podczas produkcji sera topionego zawartość CLA wzrasta z 9,5 mg/g tłuszczu w surowym mleku do 10,7 mg/g tłuszczu w produkcie gotowym. Niezależnie od tego wzrost zawartości CLA w serach topionych powoduje dodatek koncentratu białek serwatkowych (41). Podobnie podczas klarowania masła ghee w temp. 110 i 120°C ma miejsce wzrost zawartości CLA: z 0,6% tłuszczu w surowym mleku do 0,9 i 2,1% tłuszczu w gotowym produkcie (42).

Zdolność do przekształcania kwasu linolowego w sprzężone dieny o konfiguracji *cis*-9, *trans*-11 oraz *trans*-9, *cis*-11 posiadają niektóre szczepy bakterii propionowych oraz pałeczek mlekowych (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, i *Lactobacillus acidophilus*), a także *Bifidobacterium* (43). Zdecydowanie wyższa zawartość CLA w serach dojrzewających (ok. 8,8 mg/g tłuszczu) w porównaniu do mleka surowego (< 1,0 mg/g tłuszczu) dowodzi, że mikroflora sera, prawdopodobnie także starterowe kultury serowarskie, wykazuje zdolność do syntezy sprzężonych dienów kwasu linolowego (44). Podobnie dodatek oleju słonecznikowego (w ilości 100 µl) przed fermentacją z zastosowaniem szczepów *Lactobacillus acidophilus* oraz *Lactobacillus plantarum*, skutkuje wzrostem zawartości CLA w produktach fermentowanych ze 116 mg/100 g tłuszczu do 178 oraz 187 mg/100 g tłuszczu (45). Natomiast przechowywanie w warunkach chłodniczych nie ma wpływu na zawartość CLA w maśle, jogurtach oraz śmietanie (21).

Zawartość CLA w produktach mleczarskich

Najlepszym źródłem CLA są wysokotłuszczowe produkty mleczarskie. W przeliczeniu na 1 g tłuszczu najwięcej CLA (12,40–14,00 mg) zawierają sery dojrzewające, znacznie mniej (8,09–9,48 mg) masło (46).

Z badań włoskich (47) wynika, że sery Grana Padano produkowane z mleka od krów wypasanych w górach odznaczają się lepszym profilem kwasów KT – zawierają większe ilości kwasu żwaczowego (*cis*-9, *trans*-11 CLA), wakcenowego, linolowego oraz długołańcuchowych wielonienasyconych KT – niż sery produkowane z mleka krów wypasanych na terenach nizinnych. Najwyższy udział CLA stwierdzono w serach z mleka od stad z rejonów górskich z okresu letniego (9,47 mg/g tłuszczu) oraz wiosennego (6,52 mg/g tłuszczu). Najniższy natomiast w serach wyprodukowanych z mleka z rejonu nizinnego w okresie wiosennym (5,29 mg/g tłuszczu). Sery z mleka od krów wypasanych na nizinach w okresie letnim odznaczały się tylko nieznacznie większą zawartością CLA (5,75 mg/g tłuszczu). W powyższych badaniach wykazano liniową zależność zawartości CLA od podaży β -karotenu w paszy, co potwierdza wysoką zawartość β -karotenu w zielonkach pastwiskowych (47).

W produktach mleczarskich produkcji krajowej zawartość CLA jest znacznie mniejsza w porównaniu do wyrobów portugalskich i włoskich. Dostępne na rynku polskim masło (różnych producentów) w okresie zimy i wiosny odznaczało się prawie dwukrotnie mniejszą zawartością CLA (1,51 mg/g tłuszczu) niż w okresie lata i jesieni (2,65 mg/g tłuszczu). Podobnie sery z okresu letniego zawierały ponad 2-krotnie więcej CLA niż sery z okresu zimowego, odpowiednio: 1,21–2,40 w porównaniu do 0,51–1,1 mg/g produktu (7). Również w innych krajowych produktach mleczarskich zawartość CLA była niewielka i wynosiła średnio (mg/g tłuszczu): 2,4 w serach dojrzewających, 1,91 w serach z przerostem pleśni oraz 3,0 w twarogu domowym. Najniższą zawartością CLA (1,68 mg/g tłuszczu) odznaczał się oscypek.

Tabela I. Sumaryczna zawartość CLA oraz izomeru *cis-9, trans-11* CLA (42, 49)Table I. Total content of CLA, and *cis-9, trans-11* CLA isomer (42, 49)

Produkt	CLA (mg/g tłuszczu)	Izomer <i>cis-9, trans-11</i> CLA (% CLA)
Produkty płynne		
Mleko pełne	3,4–6,8	82–97
Mleko 2%	4,1	bd
Mleko skondensowane	6,3–7,0	82
Lody	3,6–5,0	76–78
Sery		
Ser cheddar	4,0–5,3	78–82
Feta	4,9	81
Cottage	4,5–5,9	83
Mozzarella	3,4–5,0	78–95
Parmezan	3,0	90
Ricotta	5,6	84
Romano	2,9	92
Ser cheddar	3,6	92
Ser topiony	4,1–10,7	75
Fermentowane produkty		
Masło	4,7–9,4	78–88
Maślanka	5,4–6,7	bd
Jogurt	3,8–8,8	83–84
Jogurt niskotłuszczowy	4,4	86
Śmietana	4,6–7,5	78–90

Tabela II. Zawartość izomeru *cis-9, trans-11* CLA w polskich produktach mleczarskich (5)Table II. Content of *cis-9, trans-11* CLA isomer in Polish dairy products (5)

Produkt	Zawartość izomeru <i>cis-9, trans-11</i> CLA (mg/g tłuszczu)
Masło	1,05–4,72
Sery pleśniowe z porostem	1,66–2,39
Sery pleśniowe z przerostem	1,74–3,07
Sery kozie	1,96–2,50
Sery dojrzewające	0,50–6,26
Oscypek	1,7
Twaróg	3,0

Niska zawartość CLA w produktach mleczarskich produkcji krajowej jest konsekwencją żywienia krów zgodnie z technologią TMR (Total Mixed Ration). Około 90% surowca mlecznego produkowane jest w wysokospecjalistycznych fermach stosujących wyłącznie tę technologię. W mleku od krów pozostających na całorocznej monodiece zawartość biologicznie aktywnych składników jest 3-, a nawet 5-krotnie mniejsza.

PODSUMOWANIE

Najlepszym źródłem CLA są wysokotłuszczowe produkty mleczarskie. W przeliczeniu na 1 g tłuszczu najwięcej CLA – z reguły – zawierają sery dojrzewające oraz masło.

Z opracowań epidemiologicznych wynika, że proporcjonalnie do spożycia produktów mleczarskich maleje ryzyko chorób nowotworowych oraz miażdżycy. Wykazano, że kraje o największym spożyciu bogatych w CLA serów dojrzewających (Francja, Włochy, Grecja), odznaczają się znacznie mniejszą umieralnością z powodu raka piersi, niż kraje o niższym spożyciu tych produktów (Belgia, Holandia, Wielka Brytania). W badaniach dotyczących osób predysponowanych do wystąpienia chorób układu krążenia wykazano, że ryzyko choroby wieńcowej w grupie regularnie spożywającej masło (źródło CLA) było znacznie niższe niż w grupie zastępującej masło, margaryną (7). Prozdrowotne działanie serów dojrzewających i masła nie może być jednak utożsamiane wyłącznie z obecnością CLA. W profilaktyce schorzeń metabolicznych skuteczne są bowiem również inne składniki tłuszczu mlekowego: α -tokoferol, β -karoten, witaminy A i D₃, fosfolipidy, krótkołańcuchowe nasycone kwasy tłuszczowe.

W wyniku stosowania technologii TMR w żywieniu krów zawartość CLA w produktach mleczarskich produkcji krajowej jest znacznie niższa w porównaniu do analogicznych wyrobów pochodzących z Portugalii, Włoch i Meksyku. Z tego powodu, a także ze względu na niskie spożycie produktów mleczarskich w Polsce (41% dziennego zalecanego spożycia wśród kobiet oraz 51% wśród mężczyzn) nie ma możliwości na zapewnienie w diecie minimalnej dawki CLA, wykazującej działanie prozdrowotne: przeciwnowotworowe, przeciwmiażdżycowe, immunomodulacyjne oraz przeciw cukrzycowe (25).

M. Kowalska, G. Cichosz

DAIRY PRODUCTS – THE BEST SOURCE OF CLA

PIŚMIENNICTWO

1. Kochan Z., Karbowska J., Babicz-Zielińska E.: Trans kwasy tłuszczowe w diecie – rola w rozwoju zespołu metabolicznego. *Postepy Hig Med Dośw.*, 2010; 64: 650-658. – 2. Blankson H., Stakkestad J., Fagertum H., Thom E., Wadstein J., Gudmundsen O.: Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *J.Nutr.*, 2000; 130(12): 2943-2948. – 3. Bhattacharya A., Banu J., Rahman M., Causey J., Fernandes G.: Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *J.Nutr.*

Biochem., 2006; 17: 789-810. – 4. *Corl B.A., Barbano D.M., Bauman D.E., Ip C.*: Cis-9, trans-11 CLA derived endogenously from trans-11 18:1 reduces cancer risk in rats. *J Nutr.*, 2003; 133: 2893-2900. – 5. *Bialek A., Tokarz A.*: Źródła pokarmowe oraz efekty prozdrowotne sprzężonych dienów kwasu linolowego (CLA), *Biul. Wydz. Farm. WUM*, 2009; 1: 1-24. – 6. *Griinari J.M., Corl B.A., Lacy S.H., Chouinard P.Y., Nurmela K.V.V., Bauman D.E.*: Conjugated lin oleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by $\Delta 9$ -desaturase. *J Nutr.*, 2000; 130, 2285-2291. – 7. *Janeczek W., Kupczyński R.*: Czynniki decydujące o zawartości sprzężonego kwasu linolowego (CLA) w tłuszczu mleka krów. *Acta Sci. Pol., Med. Veterinaria*, 2006; 5(1): 65-82. – 8. *Yamasaki M., Kishihara K., Mansho K., Ogino Y., Kasai M., Sugano M., Tachibana H., Yamada K.*: Dietary conjugated lin oleic acid increases immunoglobulin productivity of Sprague-Dawley rat spleen lymphocytes. *Biosci Biotech Biochem* 2000; 64(10): 2159-2164. – 9. *Song H.J., Grant I., Rotondo D., Mohede I., Sattar N., Heys S.D., Wahle K.W.J.*: Effect of CLA supplementation on immune function in young healthy volunteers. *Eur J Clin Nutr*, 2005; 59: 508-517. – 10. *Risérus U., Berglund L., Vessby B.*: Conjugated linoleic acid (CLA) reduced abdominal adipose tissue in obese middle-aged men with signs of the metabolic syndrome: a randomised controlled trial. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2001; 25(8): 1129-1135.

11. *Choi Y., Kim Y.C., Han Y.B., Park Y., Pariza M.W., Ntambi J.M.*: The trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid downregulates stearoyl-CoA desaturase 1 gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *J Nutr.*, 2000; 130(8): 1920-1924. – 12. *Evans M., Geigerman C., Cook J., Curtis L., Kuebler B., McIntosh M.*: Conjugated linoleic acid suppresses triglyceride accumulation and induces apoptosis in 3T3-L1 preadipocytes. *Lipids*, 2000; 35(8): 899-910. – 13. *Laso N., Brugué E., Vidal J., Ros E., Arnaiz J.A., Carné X., Vidal S., Mas S., Deulofeu R., Lafuente A.*: Effects of milk supplementation with conjugated linoleic acid (isomers cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12) on body composition and metabolic syndrome components. *Br J Nutr*, 2007; 98(4): 860-867. – 14. *Moloney F., Yeow T.P., Mullen A., Nolan J.J., Roche H.M.*: Conjugated linoleic acid supplementation, insulin sensitivity, and lipoprotein metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*, 2004; 80: 887-895. – 15. *Kim H.K., Kim S.R., Ahn J.Y., Cho I.J., Yoon C.S., Ha T.Y.*: Dietary conjugated linoleic acid reduces lipid peroxidation by increasing oxidative stability in rats. *J Nutr Sci Vitaminol*, 2005; 51: 8-15. – 16. *Leung Y.H., Liu R.H.*: Trans-10, cis-12-conjugated linoleic acid isomer exhibits stronger oxy radical scavenging capacity than cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid isomer. *J. Agric. Food Chem.*, 2000; 48: 5469-5475. – 17. *Badr El-Din N.K., Omaye S.T.*: Concentration-dependent antioxidant activities of conjugated linoleic acid and α -tocopherol in corn oil. *J Sci Food and Agriculture*, 2007; 87(14): 2715-2720. – 18. *Fagali N., Catalá A.*: Antioxidant activity of conjugated linoleic acid isomers, linoleic acid and its methyl ester determined by photoemission and DPPH techniques. *BiophysChem*, 2008; 137(1): 56-62. – 19. *Chen Z.Y., Chan P.T., Kwan K.Y., Zhang A.*: Reassessment of the antioxidant activity of conjugated linoleic acid. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1997; 74: 749-753. – 20. *Van den Berg J.J., Cook N.E., Tribble D.L.*: Reinvestigation of the antioxidant properties of conjugated linoleic acid. *Lipids*, 1995; 30: 599-605.

21. *Gnädig S., Xue Y., Berdeaux O., Chardigny J.M., Sebedio J.L.*: Conjugated linoleic acid (CLA) as a functional ingredient. in: *Mattila-Sandholm T., Saarela M.* (Eds.), *Functional Dairy Products*. CRC Press, USA, 2003; 263-298. – 22. *Cichosz G., Czczot H.*: Tłuszcz mlekowy w profilaktyce chorób nowotworowych. *Polski Merkuriusz Lekarski*, 2012; 33(195): 168. – 23. *Kelley N.S., Hubbard N.E., Erickson K.L.*: Conjugated linoleic acid isomers and cancer. *J Nutr*, 2007; 137: 2599-2607. – 24. *Lee K.W., Lee H.J., Cho H.Y., Kim Y.J.*: Role of the conjugated linoleic acid in the prevention of cancer. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2005; 45(2): 135-144. – 25. *Przybojewska B., Rafalski H.*: Kwasy tłuszczowe występujące w mleku a zdrowie człowieka. *Sprzężony kwas linolowy CLA (cz. 2)*. *Przeł. Mlecz.*, 2003; 4: 148-151. – 26. *Ritzenthaler K.L., McGuire M.K., Falen R., Shultz T.D., Dasgupta N., McGuire M.A.*: Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment methodologies underestimates actual intake evaluated by food duplicate methodology. *J. Nutr.*, 2001; 131: 1548-1554. – 27. *Schmid A., Collomb M., Sieber R., Bee G.*: Conjugated linoleic acid in meat and meat products: a review. *Meat Sci*. 2006; 73: 29-41. – 28. *Kelly M.L., Berry J.R., Dwyer D.A., Griinari J.M., Chouinard P.Y., Van Amburgh M.E., Bauman D.E.*: Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *J Nutr*, 1998; 128: 881-888. – 29. *Collomb M., Schmid A., Sieber R., Wechsler D., Ryhänen E.L.*: Conjugated linoleic acids in milk fat: variation and physiological effects. *Inter Dairy J.*, 2006; 16: 1347-1361. – 30. *Kelsey J.A., Corl B.A., Collier R.J., Bauman D.E.*: The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2003; 86: 2588-2597.

31. *Grega T., Sady M., Najgebauer D., Domagala J., Pustkowiak H., Faber B.* Factors affecting the level of conjugated linoleic acid (CLA) in milk from different cow's breeds. *Biotech in Anim. Husb.* 2005; 21 (5-6): 241-244. – 32. *Dhiman T.R., Helmink E.D., McMahon D.J., Fife R.L., Pariza M.W.*: Conjugated linoleic acid content of milk and cheese from cows fed extruded oilseeds. *J. Dairy Sci.* 1999; 82: 412-419. – 33. *Donovan C.D., Schingoethe D.J., Baer R.J., Ryali J., Hippen A.R., Franklin S.T.*: Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in milk fat from lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2000; 83: 2620-2628. – 34. *Dhiman T.R., Satter L.D., Pariza M.W., Galli M.P., Albright K., Tolosa M.X.*: Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci.* 2000; 83: 1016-1027. – 35. *Tanaka K.*: Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its physiological functions. *Animal Science Journal*, 2005; 76: 291-303. – 36. *Należcz-Tarwacka T., Grodzki H., Kuczyńska B., Słószarz J.*: Wpływ wybranych czynników na zawartość koniugowanego kwasu linolowego w mleku krów. *Medycyna Weterynaryjna*, 2009; 65: 5. – 37. *Lock A.L., Garnsworthy P.C.*: Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid $\Delta 9$ -desaturase activity in dairy cows. *Livest Prod Sci.* 2003; 79: 47-59. – 38. *Martínez-Borraz A., Moya-Camarena S.Y., González-Ríos H., Hernández J., Pinelli-Saavedra A.*: Conjugated linoleic acid (CLA) content in milk from confined Holstein cows during summer months in northwestern Mexico. *Rev Mex Cienc Pecu* 2010; 1(3): 221-235. – 39. *Zengin G., Cakmak Y.S., Guler G.P., Oguz E., Aktumesk A., Akin M.*: The effect of pasteurisation temperature on the CLA content and fatty acid composition of white pickled cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 2011; 64(4): 509-516. – 40. *Mattila-Sandholm, T., Saarela, M.*: *Functional Dairy Products*. 2003. New York: CRC Press.
41. *García-Lopez S., Echeverría E., Tsui I., Blkanch B.*: Changes in the content of conjugated linoleic acid (CLA) in processed cheese during processing. *Food Research International*, 1994; 27: 61-64. – 42. *Dhiman T.R., Ure A.L., Walters J.L.*: Conjugated linoleic acid: An Anticancer Fatty Acid Found in Milk and Meat. w: *Teale M.C.*, Omega 3 Fatty Acid Research. Nova Publishers, Hauppauge NY, USA, 2005. – 43. *Sieber R., Collomb M., Aeschlimann A., Jelen P., Eyer H.*: Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products a review. *Inter Dairy J*, 2004; 14: 1-15. – 44. *Akuzawa R., Miura T., Kawakami H.*: Bioactive Components in Caseins, Caseinates, and Cheeses w *Bioactive Components w: Milk and Dairy Products* (ed *Y.W. Park*), 2009. – 45. *Salamon R.V., Lóki K., Varga-Visi É., Mándoki Zs., Csapó J.*: Increase of conjugated linoleic acid content of dairy products by adding sunflower oil. *Acta Univ Sapientiae Aliment*, 2009; 2(2): 287-293. – 46. *Pestana J.M., Martins S.I.V., Alfaia C.M.M., Lopes P.A., Costa A.S.H., Castro M.L.F., Prates J.A.M.*: Content and distribution of octadecadienoic acid isomers in milk, cheese and butter from Azores. *Dairy Sci. Technol*, 2009; 89: 193-200. – 47. *Prandini A., Sigolo S., Cerioli C., Piva G.*: Survey on conjugated linoleic acid (CLA) content and fatty acid composition of Grana Padano cheese produced in different seasons and areas. *Ital J Anim Sci*, 2009; 8: 531-540. – 48. *Kritchevsky D.*: Antimutagenic and some other effects of conjugated linoleic acid. *Br. J. Nutr.*, 2000; 83: 459-465.

Adres: 10-719 Olsztyn, ul. Oczapowskiego 7 bl. 35