

DOI 10.7251/VETJSR2101133H

UDK 637.12:546.733(497.6)

Originalni naučni rad

BIOAKTIVNE KISELINE OVČIJEG MLIJEKA SA PODRUČJA LIVNA I TRAVNIKA (VLAŠIĆA)

Amina HRKOVIĆ-POROBIJA*, Lejla VELIĆ, Almira SOFTIĆ, Pamela BEJDIĆ, Ermin ŠALJIĆ, Atifa AJANOVIĆ, Amel ĆUTUK

Univerzitet u Sarajevu, Veterinarski fakultet Sarajevo, Bosna i Hercegovina

*Korespondentni autor: Amina Hrković-Porobija, amina.hrkovic@vfs.unsa.ba

Sažetak

Nema sumnje da mlijeko i mliječni proizvodi imaju visoku hranjivu vrijednost. Međutim, njihova današnja potrošnja sve više ovisi o njihovim dijetetskim i zdravstvenim svojstvima. Primjetno je da se posljednjih godina sve veća popularnost pridaje onim mliječnim proizvodima koji imaju pozitivno djelovanje na ljudski organizam. Cilj ovoga rada bio je odrediti masno-kiselinski sastav ovčijeg mlijeka sa područja Livna i Travnika (Vlašića), a sa posebnim osvrtom na sadržaj bioaktivnih masnih kiselina koje imaju pozitivan efekat na zdravlje ljudi. Sastav masnih kiselina ispitivanih uzoraka mlijeka bio je specifičan zbog sadržaja masnih kiselina za koje je dokazano da imaju izuzetno povoljan efekat na ljudsko zdravlje. Koncentracije većine bioaktivnih masnih kiselina su se razlikovale između područja, a razlike su bile statistički značajne za arahidonsku, eikosapentaensku, dokosaheksaensku i rumensku. Uzorci mlijeka sa ispitivanih područja imali su skoro idealan odnos n-6/n-3 masnih kiselina, što ih sa zdravstvenog aspekta čini vrlo povoljnim namirnicama.

Ključne riječi: bioaktivitet, ovčije mlijeko, Livno, Travnik

UVOD

Posljednjih godina važan sektor prehrambene industrije je promicanje zdravstvene prednosti hrane. Korištenje hrane iz zdravstvenih razloga, a ne samo u cilju ishrane otvorilo je potpuno novo polje u proizvodnji i preradi mlijeka (Hrković-Porobija i sar., 2020). Konzumiranje hrane, preko njenih biološki aktivnih sastojaka, je važan faktor u neutralizaciji utjecaja štetnih tvari u ljudskom organizmu. Pojam bioaktivne komponente odnosi se na određene sastojke hrane bilo da su prirodno prisutni ili se pak formiraju u toku procesiranja hrane, a imaju fiziološku i biohemijsku funkciju u organizmu čovjeka (Lisak Jakopović i sar., 2018). Bioaktivne materije najvećim dijelom nalaze se u biljkama, a neke od njih, kao što su probiotici, konjugovana linolna kiselina, CLA (engl. conjugated linoleic acid), n-3 masne kiseline i bioaktivni peptidi nalaze se u animalnim proizvodima (mlijeko i mliječni proizvodi). Sadržaj bioaktivnih komponenti u mlijeku je moguće povećati kroz tradicionalni sistem hranjenja. Stav jednog dijela nutricionističkih stručnjaka je da su masnoće koje sadrži mlijeko i mliječni proizvodi, a prvenstveno zbog

sadržaja zasićenih masnih kiselina, SFA (engl. saturated fatty acid) i trans masnih kiselina nepovoljne po zdravlje konzumenata. S druge strane, prema Elwood i sar. (2004) redovno konzumiranje mlijeka dugoročno može imati utjecaj na smanjenje rizika od kardiovaskularnih bolesti. Poznato je da hemijske tvari koje hranom unosimo u svoj organizam snažno utječu na naše psiho-fizičko zdravlje, ali su istodobno važne u liječenju mnogih bolesti. Neki smatraju da se pravilnom prehranom i odabirom pravih namirnica neke bolesti kao što su karcinomi, demencija, depresija, pa čak i šizofrenija mogu spriječiti, odnosno ublažiti.

Mlijeko sadrži uglavnom estere viših masnih kiselina i glicerola, te određenu količinu fosfolipida, lecitina i holesterola. Mliječna mast sadrži veliki udio kratkolančanih masnih kiselina koje se brzo oksidiraju, opskrbljuje organizam esencijalnim masnim kiselinama i u mastima topivim vitaminima (vitamini A, D, E, K). β -laktoglobulin i α -laktalbumin su proteini sirutke koji također pokazuju antikancerogeno djelovanje sudjelujući u spriječavanju razvoja i rasta hemijski induciranih tumora (Tudor i Havranek, 2009). Među komponentama membrane mliječne masne globule bitnim za zdravlje su: faktor za smanjenje holesterola, inhibitori rasta stanica raka, ksantin-oksidi kao acido-bakterijski član, butirofilin kao mogući suzbijač multiple skleroze, i fosfolipidi kao faktori protiv raka debelog crijeva, gastrointestinalnih patogena, Alzheimerove bolesti, depresije i stresa (Spitsberg, 2005).

Zemel (2001) je opisao ulogu mlijeka i mliječnih proizvoda u smanjenju krvnog pritiska, tako što kalcij smanjuje nivo vitamina D u krvi te dovodi do smanjenja nivoa intracelularnog kalcija u glatkim mišićima krvnih žila, čime se smanjuje krvni pritisak. Cilj ovoga rada bio je odrediti masno-kiselinski sastav ovčijeg mlijeka sa područja Livna i Travnika (Vlašić), a sa posebnim osvrtom na sadržaj bioaktivnih masnih kiselina koje imaju pozitivan efekat na zdravlje ljudi. Premda još uvijek nisu poznati svi putevi biohidrogenizacije masnih kiselina u buragu, kao ni efekat pojedinih hraniva na sastav mliječne masti, utvrđeno je da se određenom hranidbom ipak može utjecati na sadržaj i sastav mliječne masti. Molekule iz mliječne masti također mogu modulirati imunitet, reducirati lipoprotein niske gustoće, holesterol, a mogu djelovati i kao efikasni antibakterijski agensi. Dakle, kvaliteta sirovog mlijeka može se poboljšati određenom strategijom hranidbe i time povećati udio biološki aktivnih sastojaka u sirovom mlijeku, pa u tehnološkom smislu takvo mlijeko može biti izvrsna sirovina za preradu i plasman mliječnih proizvoda visoke kvalitete. Mlijeko treba posmatrati kao cjelovitu i kompleksnu sirovinu koja sadrži aktivne tvari potencijalno djelotvorne u promociji dobrog zdravlja.

MATERIJALI I METODE

Za istraživanje su odabrani proizvođači ovčijeg mlijeka sa lokaliteta Livna i Travnika (Vlašić). Ispitivanja su izvedena na ovcama pasmine pramenka. Životinje su bile označene odgovarajućim brojem ušne markice na osnovu kojih su se uzimali uzorci uvijek od istih životinja kroz različite vremenske periode. U toku uzimanja uzoraka hranidba ovaca bazirala se na ispaši. Na području Livna izvršena su dva uzorkovanja mlijeka - juli (n=20) i august (n=20), dok su uzorci kod trećeg uzorkovanja bili količinski

nedostatni za izvođenje svih predviđenih analiza, a na području Travnika mlijeko je uzorkovano u tri termina - juli (n=25), august (n=25) i septembar (n=25). Mlijeko je uzorkovano u plastične bočice à 50 ml, a potom deponovano na -20°C do početka analize. Metodom gasne hromatografije (GC) u mlijeku su određene slijedeće masne kiseline: maslačna (C4:0), kapronska (C6:0), kaprilna (C8:0), kaprinska (C10:0), laurinska (C12:0), miristinska (C14:0), pentadekanska (C15:0), palmitinska (16:0), margarinska (C17:0), stearinska (C18:0), arahinska (C20:0), miristoleinska (C14:1cis-9), palmitoleinska (C16:1 cis-9), oleinska (C18:1 cis-9), C18:1 cis-11, elaidinska (C18:1 trans-9), C18:1 trans-10, vakkenska (C18:1 trans-11), arahidonska (C20:4c5,c8,c11,c14), eikosapentaenska kiselina (C20:5c5,c8,c11,c14,c17), dokosaheksaenska kiselina (C22:6 c7,c10,c13,c16,c19), linolna (C18:2 n-6), α linolenska (C18:3 n-3) i rumenska (C18:2 cis-9 trans-11 CLA).

Uzorci su poslani u zamrznutom stanju na suhom ledu i analizirani u laboartoriji „As Vitas“, Oslo Innovation Centre, Norveška. Uzorci mlijeka su prije analize odmrznuti na sobnoj temperaturi i homogenizirani. Priprema uzoraka je izvršena prema proceduri opisanoj u radu Luna i saradnika (2005), koja uključuje izdvajanje mliječne masti centrifugiranjem i metilaciju masnih kiselina pri čemu nastaju metil-estri masnih kiselina (FAME) koji se analiziraju na gasnom hromatografu. Primijenjena je GC metoda sa velikom rezolucijom koja omogućava veoma dobru separaciju FAME. Korištena je kolona Select FAME dužine 200 mm i izotermalna separacija pika 18:1. Analiza je vršena na instrumentu Agilent 689N GC sa split/splitless injektorom, autosemplerom 7683B i plameno-jonizacijskim detektorom (Agilent Technologies, Palo Alto, CA). Separacija je izvedena korištenjem kapilarne kolone od staljenog silicijum dioksida (Varian Inc.) CP-SELECT CB FOR FAME (200 mm dužina, 0,25 mm unutrašnji dijаметar i 0,25 μ m debljina filma). Primijenjen je sljedeći temperaturni program: početna temperatura od 70°C održavana je 4 minute, zatim zagrijavanje brzinom od 20°C u minuti do temperature od 160°C, koja se održava 80 minuta, a potom zagrijavanje brzinom od 3°C u minuti do temperature od 220 °C, koja se održava 28 minuta. Kao gas nosač korišten je vodik sa pritiskom od 314 kPa. Analiza masnih kiselina (C4:0-C22:6) provedena je autoinjektiranjem po 1 μ l uzorka pri odnosu splita od 70:1, protokom vodika od 151 ml/min i temperturi od 280°C. Temperatura plameno-jonizacijskog detektora bila je 290°C uz brzinu protoka vodika od 40 ml/min, vazduha od 450 ml/min i azota (kao make-up gasa) od 45 ml/min. Frekvencija snimanja tačaka na hromatogramu iznosila je 10 Hz (očitanje 10 puta u sekundi), a vrijeme snimanja jednoga hromatograma 136 minuta. Dobiveni rezultati izraženi su u gramima pojedinačnih masnih kiselina na 100 g ukupnih masnih kiselina (g/100 g FA).

Statistička obrada podataka vršena je korištenjem softverskog paketa / programa SPSS 21.00. Razlike su smatrane statistički značajnim na nivou $p < 0,05$, $p < 0,01$ i $p < 0,001$. Za ispitivanje razlika u sadržaju masnih kiselina mlijeka između pojedinačnih perioda uzorkovanja sa područja Livna i Travnika korišten je Mann Whitney test, a za ispitivanje razlika u sadržaju bioaktivnih masnih kiselina mlijeka između područja Livna i Travnika nezavisno od perioda uzorkovanja korišten je Kruskal-Wallis H test.

REZULTATI I DISKUSIJA

Rezultati ovog istraživanja pokazuju da na profil masnih kiselina mlijeka ovaca sa oba područja uzorkovanja (Livno, Travnik) značajan utjecaj ima hranidba odnosno botanički sastav pašnjaka i period laktacije. Ukupno su određene 24 masne kiseline kroz tri vremenska perioda uzorkovanja (juli, august i septembar). Vrijednosti medijane za sadržaj masnih kiselina u mlijeku ovaca sa područja Livna i Travnika izražene u gramima svake masne kiseline na 100 g ukupne količine masnih kiselina (g/100 g FA) prikazane su u Tabelama 1 i 2, kao i statistička značajnost razlika između perioda uzorkovanja. Medijane za vrijednosti većine SFA u mlijeku sa područja Livna (Tabela 1) bile su manje u II u odnosu na I uzorkovanje, što je u slučaju kiselina C6:0 do C15:0 bilo veoma visoko statistički značajno. Za sadržaj C18:0 čija je medijana u mlijeku bila visoko značajno veća u II uzorkovanju. S druge strane, mononezasićene masne kiseline, MUFA (engl. monounsaturated fatty acid) nađene su u većim količinama u II u odnosu na I uzorkovanje, a statistički značajna razlika utvrđena je samo za sadržaj kiseline C18:1 cis-9. Obrnuto je utvrđeno za kiselinu C18:1 trans-11 čija je vrijednost medijane numerički bila manja u II uzorkovanju. Kod polinezasićenih masnih kiselina, PUFA (engl. polyunsaturated fatty acid) nije postojao jasan trend razlika između dva uzorkovanja, osim kod kiseline C18:3n-3 čija je vrijednost medijane bila značajno manja u II u odnosu na I uzorkovanje. Vrijednosti medijane većine masnih kiselina u mlijeku ovaca sa područja Travnika (Tabela 2) pokazivale su varijacije između perioda uzorkovanja. Vrijednosti medijane zasićenih kiselina C4:0, C6:0 i C18:0, pokazivale su statistički značajan pad u III periodu uzorkovanja u odnosu na prva dva, dok je suprotno utvrđeno za kiseline C14:0 i C16:0 (Tabela 2). U klasi MUFA za C18:1 cis11 i C18:1 trans11 također je utvrđen statistički značajan trend pada vrijednosti medijane po periodima uzorkovanja (Tabela 2). U klasi PUFA utvrđen je statistički visoko značajan rast DHA kiseline, a visoko statistički značajan pad kiseline C18:3 n-3. Kod CLA također su postojale signifikantne razlike, ali nije postojao jasan trend. Testiranjem razlika u sadržaju masnih kiselina između područja Livna i Travnika po periodima uzorkovanja uočene su statistički značajne razlike u sadržaju 17 od ukupno određenih 24 masne kiseline. Komparirajući medijane vrijednosti bioaktivnih masnih kiselina ovčijeg mlijeka (Tabela 4) nezavisno od perioda uzorkovanja (svi uzorci zbirno) utvrđena koncentracija većine masnih kiselina bila je veća u mlijeku ovaca sa područja Travnika. Statistički značajna razlika između bioaktivnih masnih kiselina u ovčijem mlijeku sa područja Livna i Travnika utvrđena je kod C4:0, ARA, EPA, DHA i CLA. Vrijednost medijane C4:0 je bila veća u mlijeku sa područja Livna, dok su vrijednosti medijane ARA, EPA, DHA i CLA bile veće u mlijeku sa područja Travnika.

Табела 1 Вриједност медијане садржаја масних киселина у мaсти млијека овaca за два узорковања са подручја Livна

	I узорковање	II узорковање	p
Масна киселина (g/100g FA)	SFA		
Mаслаћна C4:0	3,86	3,69	
Капронска C6:0	2,08	1,40	***
Каприлна C8:0	1,64	0,98	***
Капринска C10:0	4,29	2,81	***
Лaуринска C12:0	2,66	2,07	***
Миристинска C14:0	9,55	8,45	***
Пентадеканска C15:0	1,18	1,07	***
Палмитинска C16:0	22,30	21,85	
Маргаринска C17:0	0,81	0,82	
Стеаринска C18:0	8,64	9,72	**
Арахинска C20:0	0,42	0,43	
	MUFA		
Миристолеинска C14:1cis-9	0,25	0,27	
Палмитолеинска C16:1cis-9	0,90	1,00	
Олеинска C18:1cis-9	17,93	22,27	***
C18:1 cis-11	0,89	0,95	
Елаидинска C18:1 trans-9	0,28	0,40	
C18:1 trans-10	0,50	0,57	
Вакценска C18:1 trans-11	2,87	2,48	
	PUFA		
Арахидонска C20:4 n-6	0,16	0,17	
Еикосапентаенска C20:5 n-3 (EPA)	0,15	0,12	
Докосахексаенска C22:6 n-3 (DHA)	0,10	0,09	
Линолна C18:2 n-6	2,46	2,70	
α-линоленска C18:3 n-3	2,26	1,34	***
Руменска C18:2 cis-9, trans-11 (CLA)	1,63	1,49	
Σn-3	2,52	1,62	***
Σn-6	2,61	2,91	*
ΣSFA	57,29	53,78	**
ΣMUFA	23,97	28,09	***
ΣPUFA	6,89	6,01	*
ΣUFA	31,30	33,86	**
Односи сума масних киселина			
n-6/n-3	1,05	1,92	***
SFA/MUFA	2,36	1,97	***
SFA/PUFA	8,36	8,98	
MUFA/PUFA	3,48	4,63	***
SFA/UFA	1,82	1,61	**
UFA/MUFA	1,29	1,22	***
UFA/PUFA	4,48	5,63	***

***представља p<0,001, ** p<0,01; *p<0,05; I, II – представљају периоде узорковања: јули i август

SFA – засићене масне киселине; MUFA – мононе zasiћене масне киселине; PUFA – полинезасићене масне киселине; UFA – незасићене масне киселине

Табела 2 Вриједност медијане садржаја масних киселина у масти млијека овца за три узорковања са подручја Травника

	I узорковање	II узорковање	III узорковање	p
Масна киселина (g/100g FA)	SFA			
Maslačna C4:0	3,43 ^a	3,30 ^a	2,86 ^b	***
Kapronska C6:0	1,86 ^a	1,77 ^a	1,49 ^b	*
Kaprilna C8:0	1,47	1,32	1,22	
Kaprińska C10:0	3,87	3,60	3,68	
Laurinska C12:0	2,51	2,24	2,83	
Miristinska C14:0	9,01 ^a	9,05 ^a	10,19 ^b	*
Pentadekanska C15:0	1,21	1,16	1,13	
Palmitinska C16:0	21,62 ^a	22,58 ^a	23,74 ^b	**
Margarinska C17:0	0,70	0,73	0,66	
Stearinska C18:0	9,22 ^a	9,37 ^a	7,70 ^b	***
Arahinska C20:0	0,37	0,41	0,38	
	MUFA			
Miristoleinska C14:1 cis-9	0,55	0,37	0,35	
Palmitoleinska C16:1 cis-9	1,01	1,04	1,16	
Oleinska C18:1 cis-9	20,90	20,77	20,83	
C18:1 cis-11	0,74 ^a	0,71 ^a	0,59 ^b	***
Elaidinska C18:1 trans-9	0,26	0,26	0,23	
C18:1 trans-10	0,35	0,31	0,26	
Vakcenska C18:1 trans-11	3,20 ^a	2,61 ^b	2,55 ^b	**
	PUFA			
Arahidonska C20:4 n-6	0,23	0,24	0,24	
Eikosapentaenska C20:5 n-3 (EPA)	0,14	0,14	0,15	
Dokosaheksaenska C22:6 n-3 (DHA)	0,11 ^a	0,15 ^b	0,18 ^b	**
Linolna C18:2 n-6	2,44	2,57	2,19	
α- linolenska C18:3 n-3	1,91 ^b	1,98 ^b	1,64 ^a	**
Rumenska C18:2 cis-9, trans- 11 (CLA)	2,21 ^a	1,69 ^b	2,04 ^a	***
Σn-3	2,08	2,29	2,02	
Σn-6	2,64	2,74	2,55	
ΣSFA	55,93	56,85	56,73	
ΣMUFA	27,39	26,11	27,38	
ΣPUFA	6,71	6,98	6,66	

ΣUFA	33,84	33,25	34,16	
Односи сума масних киселина				
n-6/n-3	1,26 ^{ab}	1,21 ^b	1,31 ^a	*
SFA/MUFA	2,02	2,11	2,01	
SFA/PUFA	8,23	8,30	8,66	
MUFA/PUFA	3,97	3,79	4,27	
SFA/UFA	1,64	1,73	1,64	
UFA/MUFA	1,25	1,26	1,23	
UFA/PUFA	4,97	4,79	5,27	

Медијане вриједности у истом реду различите словне ознаке разликују се значајно, гдје ***представља $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$; I, II, III – представљају периоде узорковања: јули, август и септембар; SFA – засићене масне киселине; MUFA – мононе zasiћене масне киселине; PUFA – полинезасићене масне киселине; UFA – незасићене масне киселине

Табела 3 Статистичка значајност разлика у садржају масних киселина мlijека са подручја Livна и Travnika између периода узорковања

Масне киселине	LI/ТИ	LI/ТII	LI/ТIII	LII/ТИ	LII/ТII	LII/ТIII
Маслачна C4:0	*	*	*	*	*	*
Капронска C6:0					*	*
Каприлна C8:0					*	
Капринска C10:0						
Луринска C12:0				*		
Миристинска C14:0		*	*			
Пентадеканска C15:0		*				
Палмитинска C16:0			*		*	*
Маргаринска C17:0						
Стеаринска C18:0						
Арахинска C20:0		*				*
Миристолеинска C14:1 cis-9		*				
Палмитолеинска C16:1 cis-9						
Олеинска C18:1 cis-9		*				
C18:1 cis -11						
Елаидинска C18:1 trans-9			*		*	
C18:1 trans-10		*			*	
Вакценска C18:1 trans-11						
Арахидонска C20:4 n-6		*			*	
Еикосапентаенска C20:5 n-3 (EPA)		*				
Докосахексаенска C22:6 n-3 (DHA)						
Линолна C18:2 n-6		*		*	*	*

α - linolenska C18:3 n-3		*			*	
Rumenska C18:2 cis-9, trans-11(CLA)						*
Σ n-3	*		*	*	*	*
Σ n-6						*
Σ SFA						*
Σ MUFA	*	*	*		*	
Σ PUFA				*	*	*
Σ UFA	*	*	*			
Odnosi suma masnih kiselina						
n-6/n-3	*	*	*	*	*	*
SFA/MUFA	*	*	*		*	
SFA/PUFA						
MUFA/PUFA	*		*	*	*	*
SFA/UFA	*		*			
UFA/MUFA	*		*	*	*	*
UFA/PUFA	*		*	*	*	*

*p<0,05. L - područje uzorkovanja LIVNO; T - područje uzorkovanja TRAVNIK. I, II, III - periodi uzorkovanja: juli, august i septembar;

SFA – zasićene masne kiseline; MUFA – mononezasićene masne kiseline; PUFA – polinezasićene masne kiseline; UFA – nezasićene masne kiseline

Tabela 4 Vrijednost medijane sadržaja bioaktivnih masnih kiselina u ovčijem mlijeku sa područja Livna i Travnika za sve uzorke zbirno

Masne kiseline g/100g FA	Livno	Travnik	p
Maslačna C4:0	3,64	3,24	*
Kapronska C6:0	1,75	1,73	
Kaprilna C8:0	1,32	1,37	
Kaprinska C10:0	3,69	3,83	
Stearinska C18:0	9,02	8,77	
Oleinska C18:1 cis-9	20,54	21,07	
Linolna C18:2 n-6	2,46	2,36	
Vakcenska C18:1 trans-11	2,73	2,89	
α - linolenska C18:3 n-3	1,83	1,87	
Arahidonska C20:4 n-6	0,21	0,27	*
Eikosapentaenska C20:5 n-3 (EPA)	0,13	0,15	*
Dokosaheksaenska C22:6 n-3 (DHA)	0,11	0,14	*
Rumenska C18:2 cis-9, trans-11 (CLA)	1,66	2,0	*

*p<0,05

Tokom perioda uzorkovanja mlijeko ovaca sa područja Livna i Travnika sadržavalo je veći udio SFA u odnosu na UFA. Kod većine SFA u mlijeku ovaca sa područja Livna utvrđene razlike između perioda uzorkovanja najvjerovatnije mogu biti posljedica razlika u sastavu pašnjaka u vrijeme kada su oni korišteni za hranidbu životinja. Kiseline iz klase SFA sa područja Livna pojedinačno su bile statistički značajno vezane za period uzorkovanja, i to u pravcu smanjenja njihovog sadržaja idući ka kraju laktacionog perioda (Tabela 1). Sadržaj C4:0 kiseline u uzorcima mlijeka sa područja Livna imao je približnu vrijednost koju su u svojim istraživanjima utvrdili Mihaylova i sar. (2005), ali značajno nižu od vrijednosti koju su u mlijeku Merino ovaca utvrdili Mierlita i sar. (2011). Na oba područja uzorkovanja kod C4:0 utvrđen je trend pada po periodima uzorkovanja, s tim da su utvrđene razlike za područje Travnika bile i veoma visoko signifikantne (Tabela 1 i 2). Obroci koji sadrže veću količinu šećera uzrokuju stvaranje C4:0, te je za te obroke karakterističan veći sadržaj C4:0 u mliječnoj masti.

Na području Livna za vrijednosti C6:0, C8:0 i C10:0 kiseline, utvrđena je statistički veoma visoko značajna razlika između perioda uzorkovanja, ponovno uz trend pada idući ka kraju laktacije (Tabela 1), a utvrđene vrijednosti su niže u odnosu na vrijednosti koje navode drugi autori (Mierlita i sar., 2011; Mihaylova i sar., 2005). Sadržaj C10:0 u mlijeku sa oba područja uzorkovanja je bio znatno niži u odnosu na vrijednosti drugih autora (Addis i sar., 2005). Sadržaj C6:0 i C8:0 u mliječnoj masti ovaca sa područja Travnika imao je također trend pada vrijednosti idući ka kraju laktacionog perioda (Tabela 2), s tim da su razlike kod C6:0 bile i statistički značajne.

U zavisnosti od lokaliteta i perioda uzorkovanja statistički značajne razlike na nivou $p < 0,05$ uočene su najvećim dijelom kod MUFA, PUFA, UFA i odnosa suma masnih kiselina mlijeka (Tabela 3). Osobito su izražene razlike kada se kompariraju vrijednosti sadržaja masnih kiselina između različitih perioda uzorkovanja različitih područja (LI/TL, LI/TII; LI/TIII; LII/TL, LII/TIII). Pažnju treba obratiti na floru planine Vlašić i njenu starost. Planina Vlašić svojim geografskim položajem, konfiguracijom terena i planinskom klimom znatno utječe na sastav, raspored i dinamiku pojavljivanja određenih biljnih vrsta u ovom ekosistemu. S obzirom na činjenicu da je paša bila osnovni dio obroka ovaca sa oba područja uzorkovanja u periodu našeg istraživanja, vegetacijske promjene neupitno su se odrazile na masno-kiselinski sastav mlijeka. Područje Livna svojim geografskim položajem, konfiguracijom terena i karakterističnom klimom predstavlja područje jedinstvene flore s velikim brojem interesantnih biljnih vrsta. Botanički sastav krmnih biljaka i njihova procentualna zastupljenost na ovim lokalitetima Livanjskog kantona, koji se s obzirom na nadmorsku visinu i ostale klimatsko-edafske uvjete mogu svrstati u planinske prirodne travnjake.

Količina, sastav i osobine proizvedenoga mlijeka, posebno ovaca držanih na paši u datim okolišnim uvjetima ovise o kombinovanim utjecajima sezonskih promjena klime i raspoložive hrane, te o varijacijama metaboličkog statusa ovce do kojih dolazi odmicanjem laktacije, na osnovu čega se mogu objasniti utvrđene promjene masno-kiselinskog sastava mlijeka u toku ovog istraživanja.

Treba posmatrati i godišnja doba koja u cjelini ne djeluju jednako na životinjski organizam, te je potrebno promatrati kao pojedinačne faktore i njihov mogući utjecaj na

proizvodne performanse. Visoke temperature zraka mogu nepovoljno djelovati na mliječnost i sadržaj masti u mlijeku, a što bi se moglo odraziti i na masno-kiselinski sastav mlijeka.

Sadržaj C12:0 u uzorcima mlijeka sa području Livna se veoma visoko statistički značajno razlikovao između perioda uzorkovanja (Tabela 1). Valvo i sar. (2007) su u svojim istraživanjima ustanovili da je sadržaj C12:0, C14:0 i C16:0 bio veći u mlijeku ovaca koje su stajski držane za razliku od ovaca na paši, a što je posljedica većeg udjela C14:0 i C16:0 u sijenu i ječmu u odnosu na grahorice pašnjaka.

Najzastupljenija MUFA u mliječnoj masti ovčijeg mlijeka sa području Livna i Travnika je C18:1 cis-9 čija je vrijednost varirala u zavisnosti od lokaliteta i perioda uzorkovanja (Tabela 1 i 2), a što može biti posljedica sezonskog efekta koji se povezuje sa načinom hranjenja u ljetnom periodu. Popović-Vranješ i saradnici (2010) su utvrdili da se početkom pašnog razdoblja udio C18:1 cis-9 u organskom mlijeku postepeno povećavao, da bi u avgustu dostigao vrijednost koja je viša od prosječne vrijednosti utvrđene u konvencionalnom mlijeku. Kiseline MUFA i PUFA pokazuju mnogobrojna pozitivna dejstva, ali je bitno napomenuti da su veoma sklone oksidaciji, kako u organizmu tako i van njega, uslijed čega dolazi do nastanka izuzetno reaktivnih slobodnih radikala (Marenjak i sar., 2006).

Pored apsolutnog sadržaja n-3 masnih kiselina u obroku ništa manje nije značajan odnos između n-3 i druge vrste UFA, a to su n-6 masne kiseline. U analiziranim uzorcima mlijeka sa oba područja sadržaj C18:3 n-3 imao je trend pada idući ka kraju laktacionog perioda (Tabela 1 i 2), što može biti posljedica stadija vegetacije, jer su mlađe biljke bogatije C18:3 n-3, a njen sadržaj opada odmicanjem vegetacije. Kiseline C18:2 n-6 se metabolizira u ARA, a C18:3 n-3 u DHA ili EPA. Ovakva transformacija je moguća u ljudskom organizmu kao i u većine životinja, što je i dokazano upotrebom denaturirane C18:3 n-3 (Tota i Milin, 2000). Povećanje unosa C18:2 n-6 kod ovaca u toku pašnog perioda od posebnog je značaja jer se time stvaraju uvjeti za povećanje sadržaja CLA u mliječnoj masti. Pojedini autori ukazuju da se povećanim unosom C18:2 n-6 i hranidbom na paši povećava i sadržaj CLA u mlijeku (Popović-Vranješ i sar., 2010).

Sadržaj CLA na oba područja uzorkovanja ima trend variranja po mjesecima uzorkovanja, što može biti posljedica hranidbe na pašnjacima, naročito u kojoj se fazi vegetacije nalaze prisutne trave, jer naša istraživanja CLA pokazuju trend pada vrijednosti idući ka kraju laktacije, a ujedno i kraju pašnog razdoblja kada se hranjiva vrijednost biljnog pokrivača smanjuje. Hranidba na pašnjacima povećava CLA u mlijeku, naročito prisustvo trava u ranoj fazi rasta. Niže vrijednosti CLA u mlijeku ovaca sa područja Livna mogu biti posljedica povećanog priliva međuproizvoda razgradnje C18:1 cis-9 iz buraga, posebno izomera C18:1 trans-10. U Tabelama 1 i 2, su također, prikazane ukupne količine SFA, MUFA, PUFA i UFA mlijeka ovaca sa područja Livna i Travnika. Utvrđene su statistički značajne razlike u najvećem dijelu kod SFA i PUFA kiselina unutar područja i između područja po periodima uzorkovanja (Tabela 1). Unatoč razlikama u sadržaju pojedinih masnih kiselina između perioda uzorkovanja, na oba područja trend je ostao isti. Zbirni udio SFA u mlijeku ovaca sa oba područja je bio veći u

односу на збирни удио MUFA и PUFA, али без статистичке значајности за подручје Travnika, као и између подручја (Табела 1 и 3).

Испитујући однос зума масних киселина у узорцима млијека са подручја Livna утврђене су веома високо статистички значајне разлике између периода узорковања за SFA/MUFA, MUFA/PUFA, UFA/MUFA и UFA/PUFA (Табела 3), али не и за SFA/PUFA (Табела 1). CLA је привукла значајну пажњу оtkако је установљено да инхибира синтезу туморских станца млјечне жлијезде (Chinnadurai и сар., 2008). На овакав састав биоактивних масних киселина млијека овца са два подручја посебно могу утјецати климатски фактори и састав тла јер одређују састав билјних заједница на пањњацима који служе за храниду овца.

ZAKLJUČAK

Истраживањем је утврђено варирање садржаја масних киселина како унутар тако и између подручја узорковања, са релативно високим садржајем SFA, а млјекко овца са подручја Livna и Travnika садржавало је већи удио SFA у односу на UFA. На оба испитивана подручја доминантне масне киселине очекивано су биле миристинска, палмитинска, стеаринска и олеинска. Компарирајући садржај биоактивних масних киселина овчијег млијека са подручја Livna и Travnika утврђена је статистички значајна разлика код C4:0, ARA, EPA, DHA и CLA. Компарирајући вриједности медијане биоактивних масних киселина независно од периода узорковања утврђена концентрација већине масних киселина била је већа у млјекку овца са подручја Travnika.

Садржај укупних n-3 масних киселина у млјекку са подручја Livna имао је тенденцију пада идући ка крају лактационог периода, а n-6 масних киселина обрнут тренд, и ове разлике између I и II узорковања су биле и статистички значајне. Највеће вриједности садржаја укупних n-3 и n-6 масних киселина за подручје Travnika утврђене су, пак, у II периоду узорковања, али без статистичке значајности утврђених разлика између периода узорковања. Испитујући однос зума различитих класа масних киселина у узорцима млијека са подручја Livna утврђене су статистички значајне разлике између периода узорковања за SFA/MUFA, MUFA/PUFA, UFA/MUFA и UFA/PUFA, са изузетком односа SFA/PUFA. У млјекку са подручја Travnika исти односи нису се статистички значајно разликовали између периода узорковања, могуће због стабилнијег састава билјног покривача. Узорци млијека са подручја Travnika садржавали су више PUFA у односу на млјекко са подручја Livna и повољнији однос SFA/PUFA.

Изјава о sukобу интереса: Аутори изјављују да не постоји sukоб интереса.

LITERATURA

- Addis M., Cabiddu L., Pinna G., Decandia M., Piredda G., Pirisi A., Molle G. (2005): Milk and Cheese Fatty Acid Composition in Sheep Fed Mediterranean Forages with Reference to Conjugated Linoleic Acid cis-9, trans-11. *J. Dairy Sci.*, 88:3443-3454.
- Hrković-Porobija A., Rustempašić A., Velić L., Batinić V. (2020): Masno-kiselinski sastav tokom laktacije i zdravstveni značaj ovčijeg mlijeka. Radovi Poljoprivredno-prehrambenog fakulteta Univerziteta u Sarajevu, LXV, 70:99.
- Elwood P. C., Pickering J. E., Hughes J., Fehily A. M., Ness A. R. (2004): Milk drinking, ischaemic heart disease and ischaemic stroke II. Evidence from cohort studies. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 58(5):718-724.
- Flis Z., Molik E. (2021): Importance of Bioactive Substances in Sheep's Milk in Human Health. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 4364.
- Lisak Jakopović L. K., Barukčić I., Božanić R. (2018): Bioaktivne komponente mlijeka. 43. hrvatski simpozij mljekarskih stručnjaka s međunarodnim sudjelovanjem, 36-37.
- Ljubičić I., Britvec M., Mioč B., Prpić Z., Pavić V., Vnučec I. (2012): Florni sastav ovčarskih pašnjaka otoka Paga. *Mljekarstvo*, 62(4):269-277.
- Luna P., Juarez M., De La Fuente M. A. (2005): Validation of a rapid milk fat separation method to determine the fatty acid profile by gas chromatography. *J. Dairy Sci.*, 88(10):3377-3381.
- Marenjak T. S., Poljičak-Milas N. (2005): Utjecaj hranidbe krava na sastav bioaktivnih masnih kiselina u mlijeku. *Krmiva*, 47(5):245-252.
- Marenjak T. S., Poljičak-Milas N., Delaš I. (2006): Biološki aktivne tvari u kravljem mlijeku i njihov učinak na zdravlje. *Mljekarstvo*, 56(2):119-137.
- Mihaylova G., Jahre G., Odjakova T., Kafedjiev V. (2005): Fatty acid profile of milk from sheep raised on mountain pastures. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 21(5-6):93-96.
- Mierlita D., Daraban S., Lup F. (2011): Effects of breed on milk fatty acid profile in dairy ewes, with particular reference to cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid. *South African J. Anim. Sci.*, 41(3):223-231.
-

- Pascal G. (1996): Les apports quotidiens recommandés en lipides et en acides gras. *OCL*, 3:205-210.
- Popović-Vranješ A., Krajinović M., Kecman J., Trivunović S., Pejanović R., Krajinović G., Mačak G. (2010): Usporedba sastava masnih kiselina konvencionalnog i organskog mlijeka. *Mljekarstvo*, 60(1):59-66.
- Purchas R. W., Knight T. W., Busboom J. R. (2005): The effect of production system and age on concentrations of fatty acids in intramuscular fat of longissimus and triceps brachii muscles of Angus-cross heifers. *Meat Science*, 70(4):597-603.
- Spitsberg, V. L. (2005): Bovine milk fat globule membrane as a potential nutraceutical. *J Dairy Sci.*, 88(7):2289-2294.
- Tudor M., Havranek J. (2009): Nutritivna i zdravstvena vrijednost fermentiranih mlijeka. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*, 4(3-4):85-91.
- Tota M., Milin Č. (2000): Metabolizam polienskih kiselina. *Biochemia Medica*, 10(1-2):11-20.
- Valvo M. A., Bella M., Scerra M., Biondi L. (2007): Effects of ewe feeling system (gross vs concentrate) on milk fatty acid composition. *Options Mediterraneennes, series A*, 74:227-231.
- Zemel, M. B. (2001): Calcium Modulation of hypertension and obesity: Mechanisms and implications. *J. Am. Coll. Nutr.*, 20(5):428-435.

Rad primljen: 03.07.2021.
Rad prihvaćen: 13.10.2021.
