

Wstępne wyniki analizy izomerów CLA w mleku rodzimych ras owiec z wykorzystaniem argentometrycznej chromatografii cieczowej (Ag⁺-HPLC)

Aurelia Radzik-Rant¹, Agnieszka Rozbicka-Wieczorek¹,
Marian Czauderna², Witold Rant¹

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie,
Wydział Nauk o Zwierzętach, Katedra Szczegółowej Hodowli Zwierząt,
ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

²Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN,
ul. Instytucka 3, 05-110 Jabłonna

Celem pracy była próba określenia zawartości różnych grup izomerów CLA, w tym c9,t11 w mleku owczym. Badania przeprowadzono na trzech rodzimych rasach owiec: merynosie polskim (MP), owcy pomorskiej (OP) i polskiej owcy górskiej (POG). Próby mleka pobrano od 30 maciorek (10 dla każdej rasy) w wieku 3-4 lat, w czwartym tygodniu laktacji. Izomery CLA oznaczono wykorzystując argentometryczną chromatografię cieczową (Ag⁺-HPLC). Największą zawartość izomeru c9,t11CLA odnotowano w mleku POG. Mleko MP również odznaczało się znacznym poziomem tego izomeru (P<0,01) w porównaniu z owcą pomorską. Zawartość ogólnej sumy izomerów CLA w tłuszczu mleka była największa (P<0,01) u POG, ale udział głównego izomeru c9,t11 był większy u MP (79% vs. 67,5%). W mleku POG znaleziono więcej (P<0,01) ttCLA i ccCLA. Izomery ct/tcCLA największą wartość wykazywały w odniesieniu do mleka MP. Najmniejszy udział wszystkich grup izomerów cc, tt, ct/tcCLA stwierdzono w mleku owcy pomorskiej. Wszystkie grupy izomerów CLA i izomer c9,t11 były dodatnio (P<0,01) skorelowane z zawartością tłuszczu w mleku. Dodatni związek (P<0,05) z zawartością białka określono dla grupy ct/tcCLA, c9,t11 i ogólnej sumy CLA.

SŁOWA KLUCZOWE: owce / mleko / izomery CLA

Stale rosnące zainteresowanie konsumentów żywnością o wysokiej wartości odżywczej i zwiększonych walorach zdrowotnych uzasadnia podejmowanie prac badawczych w tym zakresie. Do produktów charakteryzujących się dużymi walorami zdrowotnymi należy mleko owcze. W porównaniu z mlekiem innych gatunków zwierząt gospodarskich jest ono najbogatszym źródłem bioaktywnych związków, między innymi izomerów CLA [13]. Termin sprzężony kwas linolowy (conjugatet linoleic acid – CLA) odnosi się do 28 izomerów kwasu oktadienowego w cząsteczkach, których wiązania podwójne są rozdzielone tylko jednym wiązaniem pojedynczym.

Istnieje możliwość występowania czterech geometrycznych par izomerów: *cis, trans* (*ct*); *trans, cis* (*tc*); *cis, cis* (*cc*); *trans, trans* (*tt*). Do najbardziej rozpoznanych należą izomery z grupy *cis, trans* i *trans, cis*, jak: *c9,t11* zwany kwasem żwaczowym oraz *t10,c12*. Pierwszy z nich wykazuje działanie antynowotworowe, antymiażdżycowe, immunoregulatorowe i antyoksydacyjne, drugiemu przypisuje się rolę obniżania masy ciała, wykorzystywaną w zwalczaniu otyłości [6].

Większość badań CLA w mleku owczym wykonywana jest za pomocą chromatografii gazowej, gdzie kwas żwaczowy, z uwagi na największą zawartość, maskuje pozostałe izomery [10]. Wciąż nieliczne wykorzystanie innych technik pomiarowych, jak argentometrycznej chromatografii cieczowej (Ag^+ -HPLC), pozwala na określenie innych izomerów kwasu linolowego.

Celem niniejszej pracy była próba określenia zawartości różnych grup izomerów CLA, w tym *c9,t11* w mleku owczym pochodzącym od wybranych rodzimych ras.

Material i metody

Próby mleka pobrano od 30 karmiących maciorek 3 ras (po 10 dla każdej rasy): merynosa polskiego (MP) ze stada doświadczalnego Instytutu Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu, owcy pomorskiej (OP) ze stada prywatnego z rejonu Kwidzyna i polskiej owcy górskiej (POG) z indywidualnego stada w rejonie Nowego Targu.

Maciorki żywiono zgodnie z zapotrzebowaniem, według tradycyjnego systemu żywienia maciorek karmiących [12]. Był to okres żywienia zimowego. Maciorki MP otrzymywały: siano łąkowe, śrutę owsianą i kiszonkę z kukurydzy; maciorki OP – siano łąkowe, śrutę owsianą i wysłodki buraczane, natomiast maciorki POG – sianokiszonkę i otręby pszenne. Skład chemiczny i wartość pokarmową skarmianych pasz przedstawiono w tabeli 1.

Wszystkie maciorki, od których pobierano próby mleka były w wieku 3-4 lat i w 4. tygodniu laktacji. Na 2 godz. przed pobraniem prób jagnięta oddzielono od matek, następnie ręcznie pobierano 100 ml próby mleka. Każdą z nich podzielono na dwie części, jedna posłużyła do określenia składu chemicznego mleka, druga do oznaczenia izomerów CLA.

W paszach oznaczono suchą masę, popiół surowy, białko ogólne, tłuszcz surowy oraz włókno surowe, zgodnie z procedurą AOAC [2]. Zawartość składników wyrażono w procentach.

Składniki ogólne mleka: białko, tłuszcz, laktoza, sucha masa i sucha masa beztłuszczowa (wyrażone w procentach), oznaczono na aparacie Milkoscan FT-120 firmy Foss metodą spektrofotometrii w podczerwieni.

Ekstrakcję tłuszczu mleka przeprowadzono zgodnie z metodą Rove-Gotlieba [2]. Analizę wybranych kwasów tłuszczowych (C18) wykonano metodą chromatografii gazowej w układzie gaz-ciecz, stosując chromatograf gazowy firmy Hewlett Packard 5890, wyposażony w detektor FID i kolumnę DB-23 (długość 60 m, średnica wewnętrzna 0,25 mm, grubość filmu fazy ciekłej polarnej 0,25 μ m). Izomery CLA oznaczono wykorzystując chromatograf cieczowy (Waters 625 LC) i detektor fotodiodowy (DAD; model 996, Waters) i profesjonalne oprogramowanie Millennium 32 (ver. 4.00). Izomery CLA w próbkach mleka analizowano na dwóch kolumnach jonowymiennych impregnowanych jonami srebra (ChromSpher 5 μ m Lipids; 250x4,6 mm; Chrompack), zabezpieczonych kolumną

Tabela 1 – Table 1

Skład chemiczny i wartość pokarmowa stosowanych pasz
Chemical composition and nutritional value of used fodder

Wyszczególnienie Specification	Merynos polski Polish Merino			Polska owca górska Polish Mountain Sheep			Owca pomorska Pomeranian Sheep		
	siano hay	śruta owsiana oat meal	kiszonka z kukurydzy corn silage	siano- kiszonka haylage	otręby pszczenne wheat bran	siano hay	śruta owsiana oat meal	wysłodki buraczane beet pulp	
Sucha masa (%) Dry matter (%)	90,99	89,51	34,00	50,34	89,93	82,88	88,75	90,76	
Białko ogólne (%) Crude protein (%)	12,68	14,73	2,52	5,51	15,86	11,79	9,77	1,65	
Ekstrakt eterowy (%) Ether extract (%)	2,60	1,96	0,82	0,64	3,45	0,94	3,18	0,36	
Włókno surowe (%) Crude fibre (%)	26,09	6,29	9,21	17,30	7,93	29,12	9,05	3,39	
Popiół surowy (%) Ash (%)	5,80	6,39	1,53	3,50	4,68	6,92	2,26	1,37	
EN (MJ/kg s.m.)	5,76	6,76	5,98	4,84	6,83	3,89	6,56	7,76	
JPM/kg s.m.	0,74	0,95	0,84	0,68	0,96	0,59	0,90	1,09	
BTIN/kg s.m.	79,00	91,56	47,00	65,00	115,00	70,34	77,23	78,00	

ochronną (10x3 mm). Izokratyczną elucję (1 ml/min) naniesionych na kolumnę izomerów CLA (objętość iniekcji: 20-80 µl) prowadzono przy temperaturze kolumn wynoszącej 25°C, wykorzystując fazę ruchomą składającą się z heksanu (98,3875%, v/v), kwasu octowego (1,6%, v/v) i acetonitrylu (0,0125%, v/v), natomiast detekcję fotodiodową prowadzono przy długości fali równej 234 nm. Do izokratycznej elucji stosowano n-heksan (95%) i acetonitryl (99,9%) czystości HPLC (LabScan, Irlandia) oraz kwas octowy cz.d.a. (POCH, Polska). Kalibrację systemu HPLC przeprowadzono wykorzystując wzorce pojedynczych izomerów CLA *cis*-9, *trans*-11 i *trans*-10, *cis*-12 oraz mieszaniny izomerów CLA (Sigma, USA; Larodan Fine Chemicals AB, Szwecja) [7].

Wyniki opracowano statystycznie, wykorzystując metodę jednoczynnikowej analizy wariancji, przy użyciu pakietu SPSS 14.0. Istotność różnic pomiędzy rasami obliczono przy użyciu wielokrotnego testu rozstępu Duncana. Oszacowano również współczynniki korelacji pomiędzy izomerami CLA a wybranymi składnikami mleka.

Wyniki i dyskusja

Skład chemiczny mleka badanych macierek przedstawiono w tabeli 2. Mleko POG charakteryzowało się największą zawartością tłuszczu w porównaniu do mleka MP i OP, ale różnice potwierdzone statystycznie ($P \leq 0,01$) dotyczyły tylko POG i OP. Największą zawartość białka zarejestrowano w mleku merynosa polskiego ($P \leq 0,05$), następnie polskiej owcy górskiej, a najmniejszy ($P \leq 0,01$) udział tego składnika dotyczył owcy pomorskiej. Z kolei procentowa zawartość laktozy w mleku była najmniejsza ($P \leq 0,01$) u POG w porównaniu do MP i OP. Mleko badanych trzech ras nie różniło się pod względem zawarto-

Tabela 2 – Table 2

Skład chemiczny mleka badanych macierek
The chemical composition of studied ewes milk

Wyszczególnienie Specification	MP	POG	OP	Se
	LSM	LSM	LSM	
Tłuszcz (%) Fat (%)	6,93	7,98 ^A	5,90 ^B	0,31
Białko (%) Protein (%)	5,13 ^{ac}	4,63 ^{bc}	4,04 ^D	0,13
Laktoza (%) Lactose (%)	5,18 ^B	4,83 ^A	5,21 ^B	0,04
Sucha masa (%) Total solids (%)	17,69	18,03	17,41	0,32
Sucha masa beztłuszczowa (%) Solids not-fat (%)	6,84 ^A	6,61 ^B	6,54 ^B	0,03

MP – merynos polski – Polish Merino; POG – polska owca góraska – Polish Mountain Sheep; OP – owca pomorska – Pomeranian Sheep;

A, B – $P \leq 0,01$; a, b – $P \leq 0,05$

Tabela 3 – Table 3

Grupy izomerów CLA w tłuszczu mleka badanych macierek (g/100 g tłuszczu)
The groups of CLA isomers in milk fat of studied ewes (g/100 g fat)

Izomery CLA CLA isomers	MP	POG	OP	Se
	LSM	LSM	LSM	
<i>trans, trans</i> (tt)	0,09 ^B	0,22 ^A	0,05 ^B	0,02
<i>cis, trans/trans, cis*</i> (ct/tc)	0,12 ^A	0,08	0,04 ^B	0,02
<i>cis, cis</i> (cc)	0,08 ^B	0,32 ^A	0,13 ^B	0,03
<i>cis</i> 9, <i>trans</i> 11 CLA	1,16 ^B	1,29 ^B	0,35 ^A	0,15
Izomery CLA ogółem Total CLA isomers	1,46 ^B	1,91 ^B	0,56 ^A	0,19

MP – merynos polski – Polish Merino; POG – polska owca górska – Polish Mountain Sheep; OP – owca pomorska – Pomeranian Sheep

**cis, trans/trans, cis* – izomery tej konfiguracji bez *cis*9, *trans*11 – isomers of this configuration without *cis*9, *trans*11

A, B – $P \leq 0,01$; a, b – $P \leq 0,05$

ści suchej masy, natomiast udział suchej masy beztłuszczowej był największy ($P \leq 0,01$) u merynosa polskiego.

Podobne wartości odnośnie do składu mleka merynosa polskiego uzyskali Ciuryk i wsp. [5], ale w 3. miesiącu laktacji. Mleko POG pod względem zawartości białka i laktozy nie różniło się od włoskiej dojrzonej rasy sarda utrzymywanej na pastwisku, zawartość tłuszczu była większa niż w wspomnianej rasy, jak i u greckiej rasy chios [1, 16]. Najmniejszy procent tłuszczu w mleku owcy pomorskiej można przypisać udziałowi w diecie wysłodków buraczanych. Wpływ buraków na obniżenie tego składnika w mleku krów był obserwowany bardzo wcześnie, a cytowany przez Van Soest [20].

Największą zawartość wszystkich grup izomerów CLA zanotowano w tłuszczu mleka POG (tab. 3). Wysokim poziomem tych izomerów charakteryzowało się też mleko merynosa polskiego, a najmniejszy udział ($P \leq 0,01$) był w mleku owcy pomorskiej (tab. 3). Główny izomer *c*9,*t*11 dominował u POG, ale jego udział procentowy w stosunku do wszystkich izomerów był większy u merynosa polskiego (67,53% vs. 79,45%). U owcy pomorskiej zawartość tego izomeru była najmniejsza ($P \leq 0,01$), a procentowy udział wynosił 62,5 (tab. 3).

Uzyskane w niniejszych badaniach granice udziału kwasu żwaczowego, będącego dominującym wśród izomerów CLA, są zbliżone do wyników Partidario i wsp. [14] dla owiec portugalskich (67-74%). Park i wsp. [13] określili udział *c*9,*t*11 w mleku owczym na 76-82%. W tych granicach mieści się tylko mleko merynosa polskiego. Zawartość *c*9,*t*11 określona w tłuszczu mleka owcy pomorskiej w niniejszych badaniach była taka sama, jaką uzyskali Tsiplakou i wsp. [18] oraz Or-Rashid i wsp. [11] dla owiec fryzyjskich i kanadyjskiej rasy rideou-arcott, wykorzystując do oznaczeń chromatografię gazową.

Tabela 4 – Table 4

Zawartość kwasów tłuszczowych C18 w tłuszczu mleka badanych macierek (g/100 g tłuszczu)*
The C18 fatty acids content in milk fat of studied ewes (g/100 g fat)*

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	MP	POG	OP	Se
	LSM	LSM	LSM	
C18:1 <i>t</i> 11	1,77 ^A	2,11 ^A	1,14 ^B	0,14
C18:2	2,30 ^A	2,11 ^A	1,46 ^B	0,18
C18:3 <i>n</i> 3	0,49 ^A	2,06 ^B	0,25 ^C	0,03

MP – merynos polski – Polish Merino; POG – polska owca górską – Polish Mountain Sheep; OP – owca pomorska – Pomeranian Sheep

A, B – $P \leq 0,01$; a, b – $P \leq 0,05$

*Oznaczenia wykonano przy użyciu chromatografii gazowej – values obtained using gas chromatography

Kwas żwaczowy powstaje głównie na drodze endogennej syntezy, przy udziale $\Delta 9$ desaturazy z kwasu wakcenenowego w gruczole mlekowym [15]. Jego zawartość zależy w dużej mierze od żywienia zwierząt. Żywienie pastwiskowe powoduje wzrost aktywności $\Delta 9$ desaturazy i wzmacnia produkcję *c*9,*t*11 [9]. Na zawartość tego izomeru w tłuszczu mleka POG mogło mieć wpływ stosowanie w diecie sianokiszonki, w której, wprawdzie mniej aniżeli w trawie, ale więcej niż w sianie, znajduje się kwasu linolenowego dostarczającego w procesie biohydrogenazy prekursora (C18:1 *t*11) do endogennej syntezy CLA [8] (tab. 4).

Zawartość pozostałych izomerów należących, tak jak i kwas żwaczowy, do grupy *ct*/*tc*CLA była największa u MP, a najmniejsza ($P \leq 0,01$) u owcy pomorskiej (tab. 3). Procentowy ich udział w stosunku do ogólnej sumy izomerów CLA u MP, OP i POG wynosił, odpowiednio: 8,22%; 7,14%; 4,19%. Sehat i wsp. [17] oznaczyli udział tej grupy izomerów, z wyłączeniem *c*9,*t*11, w serze owczym na 10-13%. W obrębie tej grupy znajdują się izomery *t*10,*c*12 oraz *t*7,*c*9. Udział tego ostatniego, poza *c*9,*t*11, jest uznawany za największy (8,5-16% [14]; 3-18 [15]). Khanal i Dhiman [8] określili izomer *t*10,*c*12 jako trzeci, co do jego udziału w obrębie wszystkich izomerów CLA. Wzrost produkcji *t*10,*c*12CLA w żwaczu jest związany ze wzrostem jego zawartości w mleku i obniżaniem w nim zawartości tłuszczu [3]. W niniejszych badaniach zawartość tego izomeru była niedetektowalna.

Większą zawartość izomerów z grupy *tt*CLA ($P \leq 0,01$) odnotowano w mleku POG w porównaniu do MP i OP (tab. 3). Największy był również procentowy udział tej grupy izomerów (11,5%) u POG, zaś u MP i OP wynosił odpowiednio 6,12% i 8,92%. Podobne rezultaty (8-12%) w mleku portugalskich ras owiec dla izomerów *tt*CLA uzyskali Partidario i wsp. [14]. Udział tych izomerów w serze owczym wynosił 5-9% [17].

Tłuszcz mleka polskiej owcy górskiej charakteryzował się także większą ($P \leq 0,01$) zawartością izomerów *cc*CLA (tab. 3). Największy ich udział w stosunku do wszystkich izomerów odnotowano dla owcy pomorskiej, zaś najmniejszy dla MP. W badaniach tłuszczu mleka i sera owiec portugalskich izomery z grupy *cc*CLA były niedetektowalne, chociaż do oznaczeń, podobnie jak w niniejszych badaniach, wykorzystywano metodę Ag^+ -HPLC [14].

Tabela 5 – Table 5

Współczynniki korelacji pomiędzy izomerami CLA a składnikami mleka
Correlation coefficients between CLA isomers and milk components

Izomery CLA CLA isomers	Tłuszcz Fat	Białko Protein	Laktoza Lactose
<i>trans, trans*</i> (<i>tt</i>)	0,49**	0,19	-0,62**
<i>cis, trans/ trans, cis</i> (<i>ct/tc</i>)	0,47**	0,42*	-0,40
<i>cis, cis</i> (<i>cc</i>)	0,46**	0,08	-0,69**
<i>cis9, trans11</i> CLA	0,49**	0,42*	-0,43*
Izomery CLA ogółem Total CLA isomers	0,53**	0,38*	-0,52**

**Istotność statystyczna przy $P \leq 0,01$ – Statistical significance at $P \leq 0,01$

*Istotność statystyczna przy $P \leq 0,05$ – Statistical significance at $P \leq 0,05$

Wszystkie oznaczone grupy izomerów CLA i *c9,t11* były dodatnio ($P \leq 0,01$) skorelowane z zawartością tłuszczu w mleku (tab. 5). We wszystkich przypadkach wystąpił również dodatni związek z procentowym udziałem białka w mleku, ale istotne ($P \leq 0,05$) zależności odnotowano dla grupy *ct/tc*CLA, *c9,t11* oraz ogólnej sumy izomerów CLA (tab. 5). Korelacje pomiędzy zawartością laktozy a grupami izomerów CLA były ujemne i w większości wysoko istotne statystycznie (tab. 5). Dodatni i wysoko istotny związek *c9,t11*CLA z zawartością tłuszczu i białka w mleku potwierdzili Carta i wsp. [4] w badaniach mieszańców owiec sarda x lacune. Tsiplakou i wsp. [19] określili ujemny związek CLA z zawartością tłuszczu w mleku owiec greckich. Należy zaznaczyć, że interpretacja uzyskanych korelacji pomiędzy grupami izomerów CLA a składnikami mleka w prezentowanych badaniach wymaga ostrożności, ze względu na małą liczebność materiału.

Otrzymane wyniki wskazują, iż spośród badanych rodzimych ras owiec, mleko polskiej owcy górskiej odznaczało się największą zawartością korzystnego dla zdrowia człowieka izomeru *c9,t11* oraz innych grup izomerów CLA, na co mogło mieć również wpływ zastosowanie innych pasz w ramach żywienia zimowego. Udział głównego izomeru był największy w mleku merynosa polskiego. Najmniejszą zawartość wszystkich grup badanych izomerów CLA odnotowano w tłuszczu mleka owcy pomorskiej.

Przedstawione w niniejszej pracy wyniki zawartości grup izomerów CLA z wykorzystaniem argentometrycznej chromatografii cieczowej (Ag^+ -HPLC) należy traktować jako wstępne. Badania są kontynuowane na innych polskich rasach utrzymywanych w ujednoliconych warunkach środowiskowych.

PIŚMIENNICTWO

1. ADDIES M., CABIDDU A., 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*. *Journal of Dairy Science* 88, 3443-3454.

2. AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1990 – Food Composition Additives Natural Contaminants. 2.4 Oils and Fats, 963.
3. BAUMGARD L.H., CORL B.A., DWYER D.A., SAEBR A., BAUMAN D.E., 2001 – Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *American Journal of Physiology* 278, 179-184.
4. CARTA A., PIREDDA G., ADDIES M., CABIDDU A., FIORI M., LEROUX C., BARI-LLET F., 2003 – Fatty acid composition of sheep milk from a backcross Sarda x Lacaune resource population: Preliminary QTL detection for CLA content. CIHEAM – Options Méditerranéennes, 107-113.
5. CIURYK S., MOLIK E., KACZOR U., BONCZAR G., 2004 – Chemical composition of colostrum and milk of Polish Merino Sheep lambing at different time. *Archiv Tierzucht Dummerstorf* 47, Special Issue, 129-134.
6. COLLOMB M., SCHMID A., SIEBER R., WECHSLER D., RYHANEN E.L., 2006 – Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects. *International Dairy Journal* 16, 1347-1361.
7. CZAUDERNA M., KOWALCZYK J., WĄSOWSKA I., NIEDŹWIEDZKA K.M., 2003 – Determination of conjugated linoleic acid isomers by liquid chromatography and photodiode array detection. *Journal of Animal and Feed Sciences* 12, 369-382.
8. KHANAL R.C., DHIMAN T.R., 2004 – Biosynthesis of conjugated linoleic acid (CLA): a review. *Pakistan Journal of Nutrition* 3, 72-81.
9. LOCK A.L., GARNSWORTHY P.C., 2003 – Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and $\Delta 9$ -desaturase activity in dairy cow. *Livestock Production Science* 79, 47-59.
10. LUNA P., FONTECKA J., JUAREZ M., DE LA FUENTE M.A., 2005 – Conjugated linoleic acid in ewe milk fat. *Journal of Dairy Research* 72, 415-424.
11. OR-RASHID M.M., FISHER R., KARROW N., ALZAHAL O., MCBRIDE B.W., 2010 – Fatty acid profile of colostrum and milk of ewes supplemented with fish meal and the subsequent plasma fatty acid status of their lambs. *Journal of Animal Science* 88, 2092-2102.
12. OSIKOWSKI M., PORĘBSKA W., KORMAN K., 1998 – Normy żywienia owiec. Normy żywienia bydła i owiec systemem tradycyjnym. (red. R. Ryś) Wyd. XII, IZ Kraków.
13. PARK Y.W., JUAREZ M., RAMOS M., HAENLEIN G.F., 2007 – Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminants Research* 68, 88-113.
14. PARTIDARIO A.M., RIBEIRO J.C.M., PRATES J.A.M., 2008 – Fatty acid composition and nutritional value of fat in three PDO ewes milk Portuguese cheeses. *Dairy Science of Technology* 88, 683-694.
15. PIPEROVA L.S., SAMPUGNA J., TETER B.B., KALSCHUR M.P., YURAWECZ M.P., KU Y., MOREHOUSE K.M., ERMAN R.A., 2002 – Doudenal and milk trans octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of cis-9-containing CLA in lactating dairy cow. *Journal of Nutrition* 132, 1235-1241.
16. PLOUMI K., BELIBASAKI S., TRIANTAPHYLIDIS G., 1998 – Some factors affecting daily milk yield and composition in a flock of Chios ewes. *Small Ruminants Research* 28, 89-92.
17. SEHAT N.J., KRAMER K.G., MOSSOBA M.M., YURAWECZ J.A., ROACH G., EULITZ K., MOREHOUSE K.M., KU., 1998 – Identification of conjugated linoleic acid isomers in

- cheese by gas chromatography, silver ion high performance liquid chromatography and mass spectral reconstructed ion profiles. Comparison of chromatographic elution sequences. *Lipids* 33, 963-971.
18. TSIPLAKOU E., MOUNTZOURIS K.C., ZERVES G., 2006 – The effect of breed, stage of lactation and parity on sheep milk fat CLA content under the same feeding practices. *Livestock Science* 105, 162-167.
 19. TSIPLAKOU E., MOUNTZOURIS K.C., ZERVES G., 2006 – Concentration of conjugated linoleic acid in grazing sheep and goat milk fat. *Livestock Science* 103, 74-84.
 20. VAN SOEST P.J., 1963 – Ruminant fat metabolism with particular reference to factors affecting low milk fat and feed efficiency. A review. *Journal of Dairy Science* 46, 204-216.

Aurelia Radzik-Rant, Agnieszka Rozbicka-Wieczorek,
Marian Czauderna, Witold Rant

The preliminary determination of conjugated linoleic acid isomers in milk of Polish sheep breeds by silver ion liquid chromatography (Ag⁺-HPLC)

Summary

The purpose of the presented study was to determine the content of different CLA isomers' groups including *c9,t11* in sheep milk. The experiment was carried out on three domestic sheep breeds: Polish Merino (MP), Pomeranian Sheep (OP) and Polish Mountain Sheep (POG). The milk samples were collected from 30 ewes (10 for each breed), which were at the age of 3-4 years and at the 4th week of lactation. CLA isomers were detected using silver ion liquid chromatography (Ag⁺-HPLC). The highest content of *c9,t11* CLA isomer was recorded in milk of POG ewes. Milk from MP was characterized by considerable level of the mentioned isomer as well ($P \leq 0.01$) in comparison with OP sheep. In milk fat of POG the total CLA isomers content was the highest ($P \leq 0.01$), but proportion of the main isomer *c9,t11* was higher in MP milk (79% vs. 67,5%). The *tt* and *cc* CLA isomers were higher ($P \leq 0.01$) in POG milk, while *ct/tc* isomers showed the highest value in MP milk. The lowest proportion of all groups of CLA isomers (*cc*, *tt*, *ct/tc*) has been found in OP milk. All groups of CLA isomers, as well as *c9,t11* isomer were positively ($P \leq 0.01$) correlated with fat content in milk. Positive correlations ($P \leq 0.05$) with protein content were determined for *ct/tc* CLA group, *c9,t11* and total CLA isomers.

KEY WORDS: sheep / milk / CLA isomers

