



Latvijas Lauksaimniecības universitāte
Latvia University of Agriculture

Pārtikas tehnoloģijas fakultāte
Faculty of Food technology

Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskais institūts „Sigra”
Research Institute of Biotechnology and Veterinary Medicine „Sigra”

Unigunde Antone

Mg. sc. ing.

PIENA LIPĪDU STABILITĀTE

MILK LIPID STABILITY

Promocijas darba **KOPSAVILKUMS**
inženierzinātņu doktora zinātniskā grāda iegūšanai
pārtikas zinātnes nozarē

SUMMARY of promotion work for acquiring
the Doctor's degree of Engineering Sciences
in sector of Food Science

Autore / Author _____

ISBN 978-9984-861-45-6 (online)

Jelgava

2013

Promocijas darba
zinātniskās vadītājas: /
Scientific supervisors:

Vadošā pētniece, Dr. sc. ing.
Vita Šterna
Docente, Dr. sc. ing.
Jelena Zagorska

Oficiālie recenzenti / *Official reviewers:*

Dr. sc. ing. Lilita Ozola, emeritētā zinātniece
Dr. biol. Dace Tirzīte, Latvijas Organiskās sintēzes institūta pētniece
Dr. habil. sc. ing. Uldis Iljins, Latvijas Lauksaimniecības universitātes profesors, Informācijas Tehnoloģiju fakultātes dekāns

Promocijas darba izstrāde un noformēšana līdzfinansēta no Eiropas Sociālā fonda (ESF) projekta Nr. 2009/0180/1DP/1.1.2.1.2/09/IPIA/ VAAA/017 „Atbalsts LLU doktora studiju īstenošanai” līdzekļiem. / *The research has been done within framework of the European Social Fund (ESF) Project No 2009/0180/1DP/1.1.2.1.2/09/IPIA/ VAAA/017 “Support for Doctoral studies at Latvia University of Agriculture”.*



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ

Promocijas darba aizstāvēšana notiks LLU Pārtikas zinātnes nozares promocijas padomes atklātajā sēdē 2013. gada 28. jūnijā plkst. 10.00 145. auditorijā Pārtikas tehnoloģijas fakultātē, Lielā ielā 2, Jelgavā.
The defence of thesis in open session of the Promotion Board of Food Science will be held on June 28, 2013, at 10.00 a.m. in auditorium 145, at the Faculty of Food Technology of LLU, 2 Liela Street, Jelgava.

Ar promocijas darbu un kopsavilkumu var iepazīties LLU Fundamentālajā bibliotēkā, Lielā ielā 2, Jelgavā, LV-3001, un tiešsaistē:
http://llufb.llu.lv/promoc_darbi.html

Atsauksmes sūtīt promocijas padomes sekretārei, LLU Pārtikas tehnoloģijas fakultātes docentei Dr.sc.ing. I. Beitānei (Lielā iela 2, Jelgava, LV-3001, e-pasts: Ilze.Beitane@llu.lv).

The thesis and summary is available at the Fundamental Library of LLU, 2 Liela Street, Jelgava, and on internet: <http://llufb.llu.lv/rtqoqeafctdkhtm>

References are welcome to send to Dr.sc.ing. I. Beitane, the Secretary of the Promotion Board in sector of Food Science at LLU (2 Liela Street, Jelgava, LV-3001, Latvia, e-mail: Ilze.Beitane@llu.lv).

SATURS

PĒTĪJUMA AKTUALITĀTE	4
ZINĀTNISKĀ DARBA APROBĀCIJA	6
MATERIĀLI UN METODEDES	9
PĒTĪJUMA REZULTĀTI UN DISKUSIJA	15
1. Piena sastāvs un kvalitāte	15
1.1. β -karotīna, A, E un C vitamīnu asimilācija govju organismā un pienā	15
1.2. Tauku, olbaltumvielu, laktozes saturs pienā un izslaukums	20
1.3. Piena taukskābju sastāvs	22
1.4. Piena un no tā iegūtas sviesta eļļas krāsas intensitātes analīze	27
2. Piena lipīdu stabilitātes pētījumi	30
2.1. Lipīdu oksidatīvā stabilitāte pienā	30
2.2. Sviesta eļļas stabilitātes izvērtējums saistībā ar govīm izēdināto karotinoīdus saturošo barības piedevu veidu	30
2.3. Ar barību uzņemtā antioksidantu daudzuma ietekme uz sviesta eļļas lipīdu stabilitāti	34
2.4. Sviesta eļļas lipīdu stabilitāte atkarībā no tajā esošo antioksidantu satura	35
SECINĀJUMI	36
IETEIKUMI PIENA RAŽOTĀJIEM	37

CONTENTS

TOPICALITY OF THE RESEARCH	38
APPROBATION OF THE SCIENTIFIC WORK	40
MATERIALS AND METHODS	40
RESULTS AND DISCUSSION	42
1. Milk composition and quality	42
1.1. Assimilation of β -carotene, vitamins A, E and C in cow's body and milk	42
1.2. Milk fat, protein, lactose content and yield	44
1.3. Milk fatty acid composition	44
1.4. Analysis of milk and butter oil colour intensity	46
2. Investigations of milk lipid stability	47
2.1. Oxidative stability of lipids in milk	47
2.2. The assessment of butter oil stability in relation to the type of carotenoid supplements fed to cows	47
2.3. Influence of the antioxidant amount ingested by feed on butter oil lipid stability	49
2.4. Dependence of butter oil lipid stability upon to its antioxidant content	50
CONCLUSIONS	51
SUGGESTIONS FOR MILK PRODUCERS	52

PĒTĪJUMA AKTUALITĀTE

Piens un tā produkti satur daudz vērtīgu lipīdu savienojumu, pie kuriem pieder arī karotinoīdi, E un A vitamīns. Tomēr arvien biežāk tiek novērots, ka, palielinoties piena ražošanas intensifikācijai, šo antioksidatīvo savienojumu saturs pienā samazinās. Nereti vērojamas arī to koncentrācijas svārstības, kas saistītas ar sezonālītāti, dzīvnieku veselību, laktācijas periodu un barības kvalitāti. Karotinoīdu u.c. antioksidantu saturs pienā pazeminās govju kūstures perioda beigās, kad barībā esošo antioksidantu koncentrācija, to ilgstoši uzglabājot, samazinās. Tas ietekmē ne tikai piena uzturvērtību, bet arī bioloģiski aktīvo savienojumu saglabāšanos piena produktu ražošanas un uzglabāšanas laikā. Visnestabilākie savienojumi ir fosfolipīdi, polinepiesātinātās taukskābes, vitamīni, to provitamīni u.c. To oksidatīvo un lipolītisko izmaiņu rezultātā samazinās piena produktu uzturvērtība, vērojamas nevēlamas sensoro īpašību (aromāta, garšas, krāsas) u.c. izmaiņas, kā arī pārtikā paaugstinās dažādu veselībai nevēlamu un bīstamu savienojumu koncentrācija.

Lipīdu stabilitāti var paaugstināt, samazinot oksidācijas un lipolīzes procesus, kuru izpētei pēdējos gados pasaules zinātnieki veltījuši daudz uzmanības, tomēr par pienu un tā produktiem šādu pētījumu ir maz. Piena lipīdu oksidatīvo stabilitāti ietekmē dažādi faktori. Novērots, ka zemāka oksidatīvā stabilitāte ir pavasarā mēnešos iegūtam pienam un no tā ražotiem piena produktiem. Arvien vairāk pasaulē palielinās piena ar palielinātu nepiesātināto taukskābju saturu ieguve. Daudz pētījumu tiek veikti par bioloģiski aktīvās un veselībai nozīmīgās konjugētās linolskābes (CLA) satura palielināšanas iespējām piena taukos. Izmainītais taukskābju sastāvs pazemina piena lipīdu oksidatīvo stabilitāti.

Kavējot nepiesātināto taukskābju u.c. lipīdu oksidāciju, var būtiski pagarināt piena taukus saturošu produktu (piena, krējuma, sviesta, dehidratētā piena u.c.) uzglabāšanas ilgumu. Oksidēšanas var kavēt, ne tikai optimizējot piena ieguves, pārstrādes un uzglabāšanas tehnoloģiskos procesus un apstākļus, bet arī uzlabojot sākotnējo izejvielas kvalitāti un ķīmisko sastāvu, kuri saistīti ar dzīvnieku labturību – barību, turēšanas apstākļiem un veselības stāvokli. Pasaulē veikti pētījumi par karotinoīdu un citu antioksidantu satura palielināšanu pienā, slaucamo govju barībai pievienojot dabīgiem identiskus preparātus, kā arī dabīgus savienojumus saturošas barības piedevas, tomēr iegūtie rezultāti ir atšķirīgi. Arī pētījumi par karotinoīdu ietekmi uz piena lipīdu stabilitāti un govju barības bagātināšanas iespējām ar karotinoīdus saturošām piedevām ir nepietiekami, turklāt iegūtie rezultāti ir pretrunīgi.

Daudzas ar piena un tā produktu oksidāciju saistītas problēmas pastiprinās ziemā un pavasarī, tādēļ būtu jāpievērš īpaša uzmanība lipīdu stabilitātes paaugstināšanai šajā laikā. Palielinot dabīgo antioksidantu un taukos šķīstošo vitamīnu – β -karotīna, tokoferolu, A vitamīna u.c. koncentrāciju pienā un tā produktos, var tikt palielināts to antioksidatīvais potenciāls un uzturvērtība, jo pret oksidāciju tiek aizsargāti ne tikai lipīdu savienojumi, bet arī citas piena sastāvdaļas. Viena no iespējām ir dabīgo antioksidantu satura palielināšana pienā kā izejvielā un piena produktos, bagātinot dzīvnieku barību. Šim nolūkam var kalpot augu valsts produkti – burkāni, sarkanā palma eļļa u.c. Lai gan karotinoīdu nozīme ir būtiska kā slaucamo govju imunitātes stiprināšanā, tā arī piena kvalitātes paaugstināšanā, pasaulē un arī Latvijā samērā

maz uzmanības tiek veltīts pētījumiem par to pāreju no barības pienā. Tā kā lopbarībā esošo karotinoīdu ietekme uz piena oksidatīvo stabilitāti nav pilnībā noskaidrota, ir būtiski veikt plašākus pētījumus par lopbarības bagātināšanas iespējām ar karotinoīdiem un to ietekmi uz piena sastāvu un kvalitāti.

Izvirzītā promocijas darba pētījumu **hipotēze** – piena lipīdu sastāvu un stabilitāti ietekmē karotinoīdus saturošu piedevu pievienošana slaucamo govju barībai.

Promocijas darba **pētījumu objekts** ir piens, kurš tika iegūts konvencionālajās saimniecībās, organizējot atšķirīgi ēdinātu slaucamo govju grupas, un no tā iegūtā sviesta eļļa.

Promocijas darba mērķis ir pētīt piena lipīdu stabilitātes paaugstināšanas iespējas, palielinot karotinoīdu saturu slaucamo govju barībā.

Darba mērķa sasniegšanai izvirzīti šādi **uzdevumi**:

1. vērtēt piena ķīmiskā sastāva un krāsas izmaiņas, palielinot karotinoīdu saturu slaucamo govju barībā;
2. salīdzināt karotinoīdus saturošu slaucamo govju barības piedevu ietekmi uz piena lipīdu oksidatīvo stabilitāti;
3. vērtēt antioksidantu ietekmi uz sviesta eļļas oksidatīvo stabilitāti;
4. sniegt rekomendācijas piena ražotājiem par ieteicamām, karotinoīdus saturošām govju barības piedevām piena uzturvērtības paaugstināšanai un lipīdu stabilitātes sekmēšanai.

Promocijas darba hipotēzi pierāda ar šādām **tēzēm**:

1. piena antioksidatīvo potenciālu iespējams paaugstināt, palielinot karotinoīdu saturu lopbarībā;
2. piena tauku taukskābju sastāvu var uzlabot, slaucamām govīm izēdinot karotinoīdus saturošas barības piedevas;
3. sviesta eļļas oksidatīvo stabilitāti ietekmē antioksidantu daudzums govju barībā un sviesta eļļā;
4. piena un sviesta eļļas dzeltenās krāsas intensitāti iespējams palielināt, slaucamajām govīm izēdinot karotinoīdus saturošas barības piedevas.

Promocijas darba **novitāte un zinātniskais nozīmīgums**.

1. Analizēta karotinoīdus saturošu slaucamo govju barības piedevu izēdināšanas ietekme uz piena izslaukuma, kā arī tauku, olbaltumvielu, laktozes, β -karotīna, A, E un C vitamīnu satura izmaiņām pienā.
2. Pētīta piena un sviesta eļļas krāsas intensitāte saistībā ar govīm izēdinātās barības antioksidantu daudzumu.
3. Veikti pētījumi par piena taukskābju sastāva izmaiņām, saistībā ar karotinoīdu daudzumu, kas uzņemts ar govju barību.
4. Pētīta karotinoīdus saturošo barības piedevu izēdināšanas ietekme uz piena lipīdu stabilitāti.
5. Pētīta karotinoīdus saturošo barības piedevu izēdināšanas ietekme uz dažādos temperatūras un gaismas apstākļos uzglabātas sviesta eļļas lipīdu stabilitāti.

6. Veikta piena un sviesta eļļas taukskābju un taukos šķīstošo A, E vitamīnu un karotinoīdu satūra noteikšanas metožu aprobācija.

Promocijas darba **tautsaimnieciskā nozīmība**.

Promocijas darba rezultāti apstiprina barības sastāva izšķirošo nozīmi kvalitatīva piena ieguvē, pierāda karotinoīdu un E vitamīna nepieciešamību govīm, īpaši kūstures periodā, lai uzlabotu dzīvnieku veselību, kāpinātu piena uzturvērtību, izslaukumu un tauku stabilitāti uzglabāšanas un pārstrādes laikā.

ZINĀTNISKĀ DARBA APROBĀCIJA

Par rezultātiem ziņots 18 starptautiskajās zinātniskajās konferencēs un kongresos Latvijā, Igaunijā, Lietuvā, Polijā, Vācijā, Zviedrijā, Norvēģijā, Turcijā, Francijā un starptautiskajā izstādē Riga Food 2012:

1. **Antone U.**, Šterna V., Zagorska J. Comparison of spectrophotometric methods for assessment of oxidation of milk fat. Ikgadējā 16. starptautiskā zinātniskā konference "Research for Rural Development 2010", Jelgava, Latvija, 2010. gada 19.-21. maijs (referāts / *oral presentation*).
2. **Antone U.**, Šterna V., Zagorska J. Composition of cow milk lipids and factors influencing it. 5. Starptautiskā zinātniskā konference "Students on Their Way to Science", Jelgava, Latvija, 2010. gada 28. maijs (referāts / *oral presentation*).
3. Jemeljanovs A., Šterna V., **Antone U.**, Konošonoka I.H. Deficit of carotenoids in forage and its influence on cow health and milk quality. Starptautiskā zinātniskā konference „Risk Factors in the Process of Animal Feeding and Their Implications on Food Quality”, BaltFoodQual, Palanga-Baisogala, Lietuva, 2010. gada 16.-17. septembris (referāts / *oral presentation*).
4. Zagorska J., **Antone U.**, Šterna V., Ciproviča I. The influence of feed supplemented with carotenoids on antimicrobial proteins in milk. 5. Baltijas pārtikas zinātnes un tehnoloģijas konference „Foodbalt-2010”, Tallina, Igaunija, 2010. gada 29.-30. oktobris (referāts / *oral presentation*).
5. Šterna V., Jemeljanovs A., Konošonoka I.H., **Antone U.**, Lujāne B. Composition of cows milk fat in connection with carotenoids content in feed. 8. Eiropas Lipīdu Federācijas kongress, Minhene, Vācija, 2010. gada 21.-24. novembris (stenda referāts / *poster presentation*).
6. **Antone U.**, Šterna V., Zagorska J. Potential to increase the stability of milk riboflavin against photo-oxidative degradation. 6. Baltijas pārtikas zinātnes un tehnoloģijas konference „Innovations for Food Science and Production Foodbalt-2011”, Jelgava, Latvija, 2011. gada 5.-6. maijs (stenda referāts / *poster presentation*).
7. **Antone U.**, Šterna V., Zagorska J. The influence of cow feed enriched with carrots on milk quality and nutritional value. 17. starptautiskā zinātniskā konference "Research for Rural Development 2011", Jelgava, Latvija, 2011. gada 18.-20. maijs (referāts / *oral presentation*).
8. Zagorska J., **Antone U.**, Ciproviča I., Konošonoka I., Šterna V., Gramatina I., Sarvi S. The influence of immunoglobulins on microbiological quality of milk. Starptautiskais Pārtikas kongress “Novel approaches in Food Industry NAFI 2011”, Cesme-Izmir, Turcija, 2011. gada 26.-29. maijs (stenda referāts / *poster presentation*).

9. Šterna V., Jemeljanovs A., Konošonoka I.H., **Antone U.**, Lujāne B., Aņenkova R. Comparison of carrots and red palm oil as source of carotenoids in feed. 24. Ziemeļvalstu Lauksaimniecības zinātnieku asociācijas (Nordic association of Agricultural Scientists, NJF) kongress „Food, Feed, Fuel and Fun Nordic Light on Future Land Use and Rural Development”, Upsala, Zviedrija, 2011. gada 14.-16. jūnijs (stenda referāts / *poster presentation*).
10. Šterna V., Jemeljanovs A., Konošonoka I. H., **Antone U.**, Lujāne B., Aņenkova R. Comparison of carrots and red palm oil as source of carotenoids in feed. 2. Ziemeļvalstu Lopbarības zinātnes konference, Zviedrijas Lauksaimniecības zinātņu universitāte, Upsala, Zviedrija, 2011. gada 15.-16. jūnijs (stenda referāts / *poster presentation*).
11. Miculis J., Jemeljanovs A., Šterna V., Konošonoka I.H., **Antone U.**, Zagorska J. Opportunity to increase milk quality with biologically active substances. 62. Ikgadējā Eiropas Dzīvnieku Zinātnes federācijas tikšanās (European Federation of Animal Science – EAAP), Stavanger, Norvēģija, 2011. gada 29. Augusts-2. septembris (stenda referāts / *poster presentation*).
12. **Antone U.**, Jemeljanovs A., Šterna V., Konošonoka I.H., Zagorska J. The influence of cow feed carotenoids on milk antimicrobial properties. 3. Starptautiskā konference “Laboratory Diagnostics in Veterinary Medicine, Food and Environmental Safety”, Rīga, Latvija, 2011. gada 15.-16. septembris (stenda referāts / *poster presentation*).
13. Zagorska J., **Antone U.**, Šterna V., Ciproviča I. Evaluation of Immunoglobulin and Lysozyme Concentration in Milk Enriched With Carotenoids. 5. Starptautiskā konference par kvalitāti un drošību pārtikas ražošanas ķēdē (Conference on the Quality and Safety in Food Production Chain), Vroclava, Polija, 2011. gada 19.-20. septembris (stenda referāts / *poster presentation*).
14. **Antone U.**, Šterna V., Zagorska J. Carotenoid Potential to Protect Cow’s Milk Fat against Oxidative Deterioration. Starptautiskā konference par pārtikas inženierzinātņu un biotehnoloģiju (International Conference of Food Engineering and Biotechnology), World Academy of Science, Engineering and Technology (WASET), Parīze, Francija, 2012. gada 24.-26. aprīlis (referāts / *oral presentation*).
15. **Antone U.**, Šterna V., Zagorska J. Enhancement of cow’s milk fat oxidative stability: potential of carrots as source of natural antioxidants. 7. Baltijas pārtikas zinātnes un tehnoloģijas konference “Innovative and healthy food for consumers Foodbalt-2012”, Kauņa, Lietuva, 2012. gada 17.-18. maijs (stenda referāts / *poster presentation*).
16. **Antone U.**, Šterna V., Zagorska J. Investigations into the enhancement of cow’s milk oxidative stability. Ikgadējā 18. starptautiskā zinātniskā konference “Research for rural development 2012”, Jelgava, Latvija, 2012. gada 16.-18. maijs (referāts / *oral presentation*).
17. **Antone U.**, Jemeljanovs A., Šterna V., Zagorska J. Dabīgo antioksidantu – karotinoīdu potenciāls govs piena lipīdu stabilitātes un uzturvērtības uzlabošanā. Izstāde “Riga Food 2012”, Rīga, Latvija, 2012. gada 5.-8. septembris (stenda referāts / *poster presentation*).

18. **Antone U.**, Šterna V., Zagorska J. Improvement of cow's milk fat nutritional value: potential of palm oil as source of natural antioxidants. 10. Eiropas Lipīdu Federācijas kongress, Krakova, Polija, 2012. gada 23.-26. septembris (stenda referāts / poster presentation).

Pētījumu rezultāti apkopoti un publicēti 6 recenzējamās zinātniskajās izdevumos.

1. **Antone U.**, Šterna V., Zagorska J. (2010) Comparison of spectrophotometric methods for assessment of oxidation of milk fat. **In:** *Proceedings of the 16th Annual International Scientific Conference "Research for Rural Development 2010"* 19-21 May 2010, Jelgava. Latvia University of Agriculture. Jelgava: LLU. Vol.1, p. 104-110. (*CABI; AGRIS, CAB Abstracts, Ebscohost*).
2. **Antone U.**, Šterna V., Zagorska J. (2011) The influence of cow feed enriched with carrots on milk quality and nutritional value. **In:** *Proceedings of the 17th Annual International Scientific Conference "Research for Rural Development 2011"* 19-21 May 2010, Jelgava. Latvia University of Agriculture. Jelgava: LLU. Vol.1, p. 80.-86. (*EBSCO Academic Search Complete, CAB Abstracts, CABI, AGRIS*).
3. **Antone U.**, Ošmane B., Šterna V. (2011) Lopbarībā esošo karotinoīdu raksturojums un loma piena ieguvē (Carotenoids in Feedstuffs and Their Role in Milk Production). *Latvijas Lauksaimniecības Universitātes Raksti*. Jelgava: LLU, Latvija, Vol. 26 (321), 60.-68. lpp. (in Latvian). (*CAB Abstracts; CABI full text, AGRIS, Ebscohost*).
4. Šterna V., Jemeljanovs A., Konošonoka I.H., **Antone U.**, Lujāne B., Anenkova R. (2011) Comparison of carrots and red palm oil as source of carotenoids in feed. **In:** *Proceedings of the 2nd Nordic Feed Science Conference*. 15th-16th June 2011, Uppsala, Sweden. Swedish University of Agricultural Sciences. Department of Animal Nutrition and Management. Uppsala, p. 68-72. (*CAB Abstracts, CABI full text, Ebscohost*).
5. **Antone U.**, Šterna V., Zagorska J. (2012) Carotenoid Potential to Protect Cow's Milk Fat against Oxidative Deterioration. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, issue 64, April. Paris, France, p. 1132-1136.
6. **Antone U.**, Šterna V., Zagorska J. (2012) Investigations into the enhancement of cow's milk oxidative stability. **In:** *Proceedings of the 18th Annual International Scientific Conference "Research for Rural Development 2012"*. 16-18 May, 2012, Jelgava. Latvia University of Agriculture. Jelgava: LLU. Vol.1, p. 164-170. (*CABI, AGRIS*).

Pateicības

Promocijas darba autore izsaka vislielāko pateicību Latvijas Lauksaimniecības universitātes Pārtikas tehnoloģijas fakultātes mācībspēkiem, pētniekiem un darbiniekiem par sniegtajiem padomiem un palīdzību promocijas darba izstrādē.

Pateicos Latvijas Lauksaimniecības universitātes aģentūras „Bioķīmijas un veterinārmedicīnas zinātniskā institūta „Siga”” kolēģiem par sniegtajām konsultācijām un palīdzību pētījumu praktiskās daļas realizācijā un Siguldas novada zemnieku saimniecību “Dzilnas” un “Strautiņi” saimniekiem par sadarbību pētījumu veikšanā.

Paldies arī manai ģimenei un draugiem par atbalstu ceļā uz doktora grāda iegūšanu.

MATERIĀLI UN METODES

Pētījumu laiks un vieta

Pētījumi veikti no 2009. gada septembra līdz 2013. gada janvārim:

1. LLU aģentūras „Biotehnoloģijas un veterinārmedicīnas zinātniskā institūta „Siga”” Bioķīmijas un mikrobioloģijas zinātniskajā laboratorijā;
2. LLU Pārtikas tehnoloģijas fakultātes Piena un gaļas produktu tehnoloģijas un Iepakojuma materiālu īpašību izpētes laboratorijās;
3. RTU Materiālzinātnes un Lietišķās Ķīmijas fakultātes Degvielu kvalitātes kontroles un pētījumu laboratorijā;
4. AS „Siguldas ciltslietu un mākslīgās apsēklošanas stacija” Piena kvalitātes kontroles laboratorijā;
5. Karotinoīdu piedevu izēdināšanas izmēģinājumi slaucamajām govīm veikti Siguldas novada zemnieku saimniecībās “**Strautiņi**” **03.2010.–05.2010.** un “**Dzilnas**” **03.2011.–06.2011.**; **03.2012.–06.2012.**

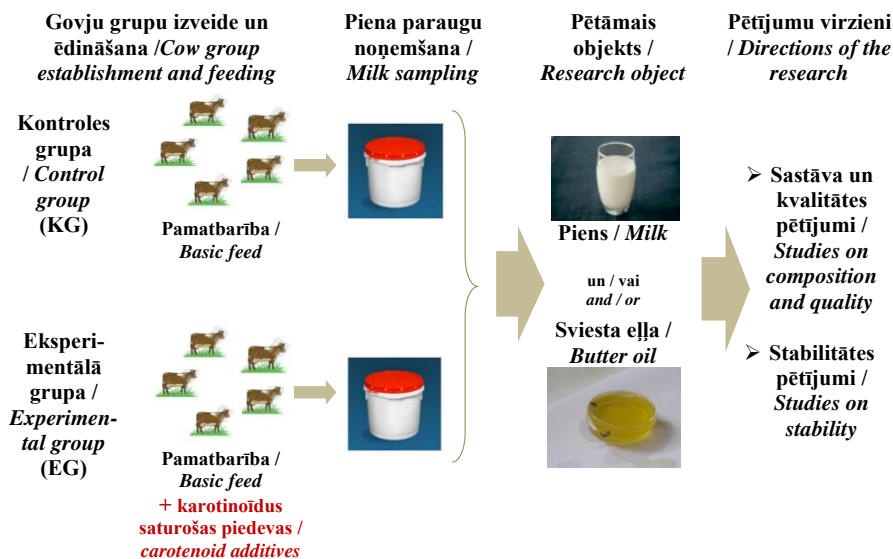
Pētījumā izmantotie materiāli

Pētījuma objekts ir piens, kurš tika iegūts konvencionālajās saimniecībās, organizējot atšķirīgi ēdinātu slaucamo govju grupas (skat. 1. att.), un no tā iegūtā sviesta eļļa. Izmēģinājumi tika veikti kūstures perioda beigās – pavasarī.

Tika veikti trīs atsevišķi eksperimenti, katrā eksperimentā izveidojot vienu vai vairākas eksperimentālās govju grupas, kuru barība tika papildināta ar karotinoīdus saturošām piedevām, un viena kontroles grupa, kurā govju barība netika papildināta. Grupās tika iekļautas veselas govīs ar somatisko šūnu skaitu pienā līdz 400 tūkst. mL⁻¹. Govju grupas komplektētas iespējami līdzīgas, ņemot vērā šķirni, laktācijas mēnesi, laktāciju skaitu, piena tauku, olbaltumvielu saturu un izslaukumu.

Katra eksperimenta ietvaros visas grupas nodrošināja ar vienādu pamatbarību. Eksperimentos izmantotas Latvijā pieejamas dzīvnieku barības piedevas ar atšķirīgu karotinoīdu saturu, sagatavošanas un uzglabāšanas veidu – **burkāni**, rapšu eļļa, sarkanās palmu eļļas barības piedeva **Carotino¹ CAF 100**, sarkanā palmu eļļa **Carotino NVRSO** un sarkanās palmu eļļas karotinoīdu koncentrāts **Carotino CC-05**, ko šķīdināja rapšu eļļā, iegūstot 5% šķīdumu.

¹ Carotino SDN. BHD, J.C. Chang Group, Malaizija / *Malaizija*



1. att. Vispārīgā izmēģinājumu shēma / Fig. 1. General research scheme

Govīm izēdinātās pamatbarības, barības piedevu daudzums un raksturojums, kā arī uzņemtais karotinoīdu un α -tokoferola daudzums apskatāms 1. tabulā. Katrā eksperimentā piena paraugi ņemti vairakkārt.

Pētījumā tika vērtēta minēto piedevu izēdināšanas ietekme uz piena un sviesta eļļas kvalitāti, sastāvu un lipīdu stabilitāti.

Paraugu noņemšana un sagatavošana analizēm

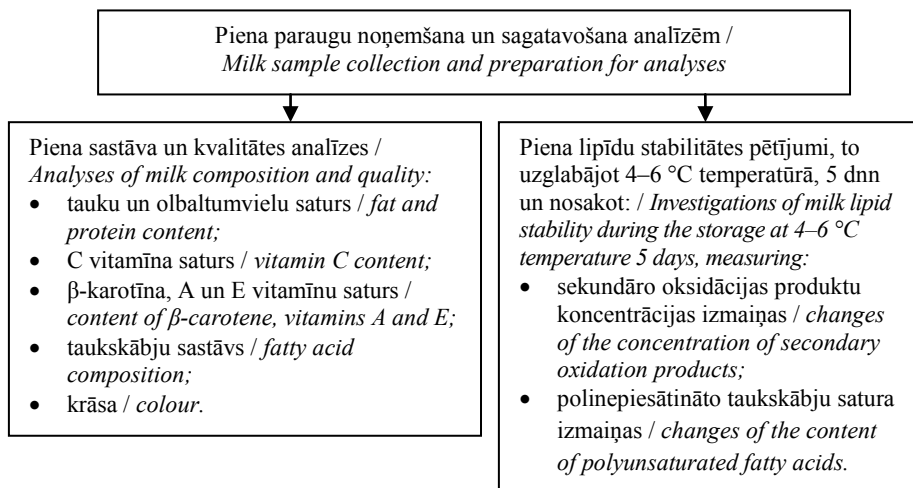
Pētījuma laikā analizēti dažādi paraugi: piens un no tā iegūta sviesta eļļa. Paraugu sagatavošanas un veikto pētījumu shēmas dotas 2. un 3. attēlos.

Piena paraugu noņemšana veikta saskaņā ar standartu LVS EN ISO 707:2011 L „Piens un piena produkti. Norādījumi par paraugu ņemšanu (ISO 707:2008)”. Fizikāli-ķīmisko analīžu veikšana sāka tūlīt pēc paraugu nogādāšanas laboratorijā. Grupu vidējie koppiena paraugi sastāva un lipīdu stabilitātes pētījumiem iegūti, sajaļot kopā atsevišķu govju pienu vienādos daudzumos.

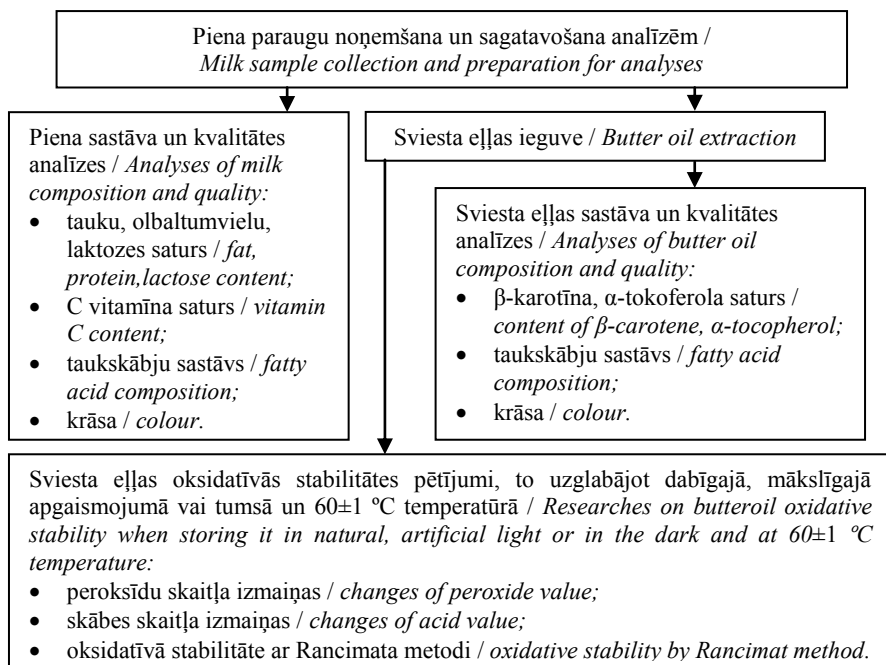
Izēdinātās pamatbarības, piedevu un ar barību uzņemtais antioksidantu daudzums (govij dienā)/
Amount of basic feed, feed supplements and antioxidants ingested by feed (per cow per day)

Eksperimenta Nr. / Experiment No	Govju grupas / Cow groups	Pamatbarība / Basic feed	Izēdinātās piedevas / Feed supplements	Ar barību uzņemtais vidējais antioksidantu daudzums, mg govij dienā / Amount of antioxidants ingested by feed, mg per cow per day				
				kop. karotīnu saturs / total carotenes	β-karotīns / β-carotene	α-karotīns / α-carotene	likopēns / lycopene	α-tokofērols / α-tocopherol
I	KG I	zāles skābbarība / grass silage – ad libidum; rapšu rauši / rapeseed meal – 2 kg	rapšu eļļa / rapeseed oil – 100 g	225	207	<i>z.n.r.</i>	<i>z.n.r.</i>	210
	EG I-1		burkāni / carrots – 7 kg, rapšu eļļa / rapeseed oil – 100 g	1325	1090	221	<i>z.n.r.</i>	210
	EG I-2		NVRSO – 100 g	275	225	22	0.8	640
	EG I-3		CC-05 šķīdums rapšu eļļā (5%) / solution in rapeseed oil (5%)	320	250	20	2.0	210
II	KG II	skābsiens, siens / haylage, hay – ad libidum; papildbarība slaucamām govīm	-	242	195	<i>z.n.r.</i>	<i>z.n.r.</i>	80
	EG II-1	LUX – feed additive for dairy cattle	burkāni / carrots – 7 kg	387	329	47	<i>z.n.r.</i>	80
	EG II-2	LUX – 2 kg	CAF 100 – 400 g	292	239	16	7.4	200
	visas / all	ganību zāle / pasture grass – ad libidum; siens / hay – 10 kg	-	707	650	<i>z.n.r.</i>	<i>z.n.r.</i>	1235
III	KG III	siens, skābsiens / haylage, hay – ad libidum; papildbarība slaucamām govīm	-	217	206	<i>z.n.r.</i>	<i>z.n.r.</i>	273
	EG III	LUX – feed additive for dairy cattle LUX – 2 kg; cukurbiešu melase / beet molasses – 0.5 L	burkāni / carrots – 7 kg	299	268	32	<i>z.n.r.</i>	273
	abas/ both	ganību zāle / pasture grass – ad libidum; siens / hay – 10 kg	-	590	568	<i>z.n.r.</i>	<i>z.n.r.</i>	1053

z.n.r. – zem noteikšanas robežas / below detection limit



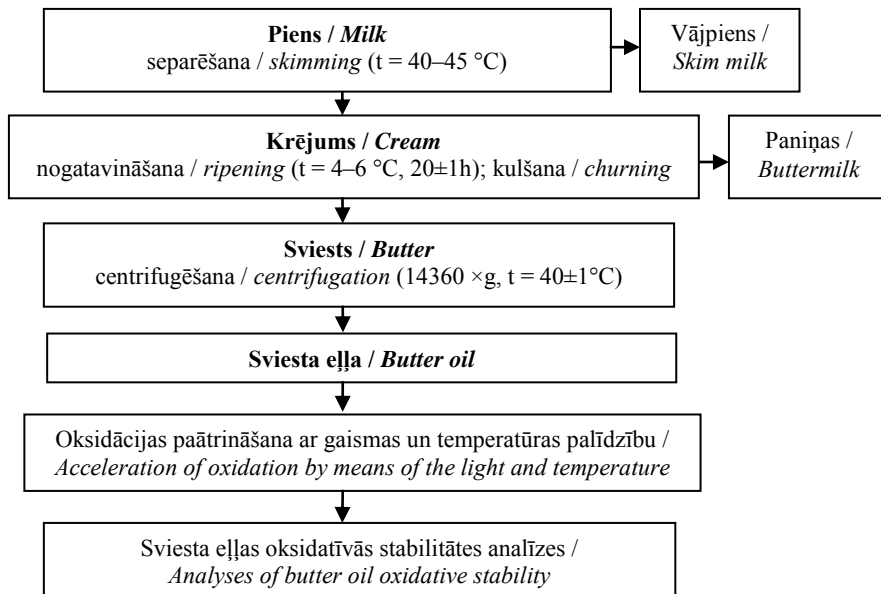
**2. att. Noteiktie rādītāji I eksperimentā iegūtiem paraugiem /
Fig. 2. Parameters determined for samples acquired within Experiment I**



**3. att. Noteiktie rādītāji II un III eksperimentā iegūtiem paraugiem /
Fig. 3. Parameters determined for samples acquired within Experiments II and III**

Piena paraugu sagatavošana piena lipīdu oksidatīvās stabilitātes pētījumiem. Nepasterizēta piena paraugi ielieti 500 mL aizvākojamos stikla traukos un uzglabāti aizvērtā veidā ledusskapī 4–6 °C temperatūrā 5 diennaktis.

Sviesta eļļas iegūšana un sagatavošana lipīdu oksidatīvās stabilitātes pētījumiem. Pēc piena nogādāšanas laboratorijā no tā tika iegūta sviesta eļļa saskaņā ar 4. attēlā redzamo shēmu.



**4. att. Sviesta eļļas ieguve un sagatavošana oksidatīvās stabilitātes pārbaudei /
Fig. 4. Butter oil extraction and preparation for analysis of oxidative stability**

Sviesta eļļas paraugu oksidācijas paātrināšana veikta sekojoši:

- **II eksperimentā** tos uzglabājot tumsā (4–6 °C, 3 h), vai saules gaismā (20±1 °C, 3 h). Turpmāk paraugi 25 dnn uzglabāti termostatā 60 °C temperatūrā.
- **III eksperimentā** oksidācijas procesu paātrināšanai sviesta eļļas paraugi izturēti 48 h fluorescentajā gaismā 40±1 °C temperatūrā (Angelantoni EkoChil klimatiskajā kamerā 1500P-IW dienasgaismas spuldžu apgaismojumā, kura intensitāte 7560±20 Lux un gaismas viļņa garums 400-750 nm). Turpmāk 25 dnn paraugi uzglabāti termostatā 60±1 °C temperatūrā.

Peroksīdu un skābes skaitļa mērījumi tumsā uzglabātiem paraugiem veikti vairākas reizes 25 dienu periodā, bet gaismā uzglabātiem sviesta eļļas paraugiem – 14 (II eksperimentā) vai 25 dienu (III eksperimentā) periodā. Indukcijas perioda ilgums aprēķināts, izmantojot tangenšu metodi (Zlatkevich, 2002).

Darbā izmantoto analīžu metožu raksturojums. Iegūto piena un sviesta eļļas paraugu analīzes veiktas saskaņā ar 2. tabulā apkopotajām metodēm.

Pētījumos izmantotās analīžu metodes / Analytical methods

Pētījumi / Studies	Analīžu nosaukums / Name of analysis	Metode / Method
Sastāva un kvalitātes pētījumi / Studies on composition and quality	Tauku, olbaltumvielu, laktozes saturs / Fat, protein, lactose content	ISO 9622-1999 (E)
	C vitamīna (L-askorbīnskābes) saturs / Content of vitamin C (L-ascorbic acid)	Tilmansa metode / Method of Tilmans (Matiseks u.c., 1998)
	β -karotīna, retinola, α - un γ -tokoferolu saturs / Content of β -carotene, retinol, α - and γ -tocopherol	AEŠH metode / HPLC method LVS EN ISO 9936:2006, LVS EN 12823-1:2001, LVS EN 12823-2:2001, Granelli, Helmersson (1996)
	Taukskābju saturs / Content of fatty acids (FA)	Gāzu hromatogrāfijas metode / Gas chromatography method Semporé, Bézard (1996), ISO 15885:2002
	Dzeltenās krāsas intensitāte (b*) / Yellow colour intensity (b*)	CIE 1976 L*a*b* krāsu modelis / model of colours (Coultrate, 2002)
Lipīdu stabilitātes pētījumi / Studies on lipid stability	Sekundāro oksidācijas produktu (karbonilsavienojumu) koncentrācija / Concentration of secondary oxidation products (carbonyl compounds)	Endo et al. (2003)
	Peroksīdu skaitlis / Peroxide value	Jodometriskās titrēšanas metode / Iodometric titration method (Охрименко и др., 2005)
	Skābes skaitlis / Acid value	LVS EN ISO 660:2009
	Oksidatīvās stabilitātes noteikšana ar Rancimata metodi / Analysis of oxidative stability with Rancimat method	LVS EN ISO 6886:2009

Atsevišķu taukskābju veidu saturs tika aprēķināts saskaņā ar 1. – 6. formulām:

- **piesātinātās taukskābes (PTS) / saturated fatty acids (SFA)** = sum (C4:0, C6:0, C8:0, C10:0 līdz / till C18:0, C20:0, C22:0, C24:0) (1.)

- **īso un vidēji garo ķēžu piesātinātās taukskābes / short and medium chain saturated FA** = sum (C4:0, C6:0, C8:0, C10:0) (2.)

- **mononepiesātinātās taukskābes (MNTS) / monounsaturated FA (MUFA)** = sum (C14:1, C15:1, C16:1, C18:1 ω 9c, C18:1 ω 9t, C20:1 ω 9) (3.)

- **polinepiesātinātās taukskābes (PNTS) / polyunsaturated FA** = sum (C18:2 ω 6, C18:2t, C18:3 ω 6, C18:3 ω 3, C20:4 ω 6, C20:5 ω 3, C22:5 ω 3, C22:6 ω 3) (4.)

- ω 3 = sum (C18:3 ω 3, C20:5 ω 3, C22:5 ω 3, C22:6 ω 3) (5.)

- ω 6 = sum (C18:2 ω 6, C18:3 ω 6, C20:4 ω 6) (6.)

Taukskābju veselības ietekmes indeksi aprēķināti saskaņā Ulbricht un Southgate (1991) izstrādātajām formulām (7.-8.):

- **aterogēnais indekss / index of atherogenicity (IA)** = $[C12:0 + (4 \times C14:0) + C16:0] / [MNTS + PNTS\omega6 + PNTS\omega3]$ (7.)

- **trombogēnais indekss / index of thrombogenicity (IT)** = $[C14:0 + C16:0 + C18:0] / [(0,5 \times MNTS) + (0,5 \times PNTS\omega6) + (3 \times PNTS\omega3) + (PNTS\omega3 / PNTS\omega6)]$ (8.)

III eksperimentā ar spektrofotometrisko metodi (*Лабораторные исследования в ветеринарии*, 1971) noteikts kopējais karotīnu saturs govju asins plazmā. Paraugi ņemti dienu pirms un 6 nedēļas pēc karotinoīdu piedevu izēdināšanas uzsākšanas.

Statistiskā datu apstrāde

Rezultātu statistiskā apstrāde veikta, izmantojot MS Office programmu Excel, kā arī programmu Microsoft Windows for SPSS (SPSS 17,0, SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA). Dati atspoguļoti kā vidējais \pm vidējā standartnovirze (SN) vai vidējā standartklūda. Pazīmju atšķirības vairāku paraugkopu salīdzināšanai izvērtētas ar ANOVA metodi. Izvirzītās hipotēzes pārbaudītas ar ticamības intervāla un p-vērtības metodi, un faktori novērtēti kā būtiski, ja p-vērtība $< \alpha_{0,05}$. Izvērtējot dažādu pazīmju savstarpējās kopsakarības, tika izmantota korelācijas un regresijas analīze.

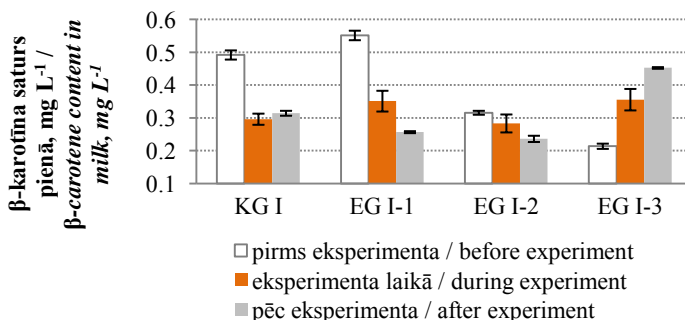
REZULTĀTI UN DISKUSIJA

1. Piena sastāvs un kvalitāte

1.1. β -karotīna, A, E un C vitamīnu asimilācija govju organismā un pienā

Lai spriestu par dažādu karotinoīdu piedevu izēdināšanas ietekmi uz analizēto vitamīnu saturu pienā, vērtētas to saturs izmaiņas I eksperimentā iegūtajos paraugos.

β -karotīna saturs pienā pirms karotinoīdus saturošu barības piedevu izēdināšanas, tās laikā un 1 nedēļu pēc tās pārtraukšanas apskatāms 5. attēlā.



5. att. β -karotīna saturs salīdzinājums atšķirīgi ēdinātu govju pienā / Fig 5. Comparison of β -carotene content in milk of cows fed differently

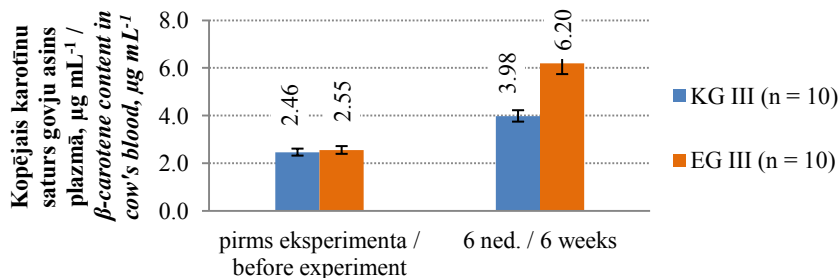
Sākotnējais β -karotīna saturs četrus govju grupu koppiena paraugos bija būtiski ($p < 0,05$) atšķirīgs. KG I un EG I-1 pienā tas bija visaugstākais: $0,49 \pm 0,014$ un $0,55 \pm 0,015$ mg L⁻¹, bet EG I-2 un EG I-3 pienā – $0,32 \pm 0,006$ un $0,21 \pm 0,008$ mg L⁻¹. Karotinoīdu piedevu izēdināšanas periodā (tā ilgums – 6 nedēļas) β -karotīna saturs EG I-1 un KG I pienā būtiski samazinājās līdz $0,30 \pm 0,017$ un $0,35 \pm 0,032$ mg L⁻¹, EG I-2 būtiski nemainījās ($0,28 \pm 0,027$ mg L⁻¹), bet EG I-3 grupas pienā būtiski

paaugstinājās līdz $0,36 \pm 0,033 \text{ mg L}^{-1}$ ($p < 0,05$), salīdzinot ar β -karotīna saturu pirms eksperimenta. Eksperimenta laikā vidējais β -karotīna saturs visu grupu paraugos būtiski neatšķīrās. Sākotnējās β -karotīna satura atšķirības un tā izmaiņas šo grupu pienā ir skaidrojamas ar vairākiem iemesliem.

1. Zemāks sākotnējais β -karotīna saturs EG I-2 un EG I-3 grupu pienā un izteiktā samazināšanās KG I un EG I-1 grupu pienā ($p < 0,05$) var būt saistīta ar grupās iekļauto dzīvnieku individuālajām īpatnībām un β -karotīna patērēšanu dažādām organisma vajadzībām (A vitamīna sintēzei, rezervju uzkrāšanai organismā, govju imunitātes funkciju nodrošināšanai).
2. KG I, EG I-1 un EG I-2 grupu pienā novērotā β -karotīna satura samazināšanās var būt saistīta ar govju laktācijas perioda izmaiņām.
3. β -karotīna satura nepaaugstināšanos EG I-1 un EG I-2 grupu pienā, salīdzinot rādītājus piedevu izēdināšanas periodā un pirms tās, var skaidrot ar citu pētnieku novēroto, ka karotinoīdu pāreja no barības pienā ir salīdzinoši zema.
4. Piedevas izēdināšanas ietekme nav tūlītēja, bet var parādīties pēc noteikta laika posma, turklāt eksperimentā iekļautas arī melnraibo šķirņu govīs, kurām karotinoīdu pāreja pienā ir mazāk izteikta nekā sarkano šķirņu govīm.

Pēc eksperimenta β -karotīna saturs būtiski palielinājās EG I-3 grupas pienā ($p < 0,05$), KG I pienā būtiski nemainījās, EG I-1 grupas pienā būtiski samazinājās ($p < 0,05$), bet EG I-2 grupas pienā samazinājās nebūtiski, ko var skaidrot ar iepriekšminētajiem iemesliem. β -karotīns ir viena no svārstīgākajām piena sastāvdaļām. Tā saturs var būt atkarīgs no daudzu dažādu faktoru ietekmes – barības sastāva un kvalitātes, barošanas režīma, laktācijas perioda, piena tauku satura, no govju šķirnes un veselības stāvokļa, kā arī no uzņemto barības piedevu veida, taukvielu klātbūtnes.

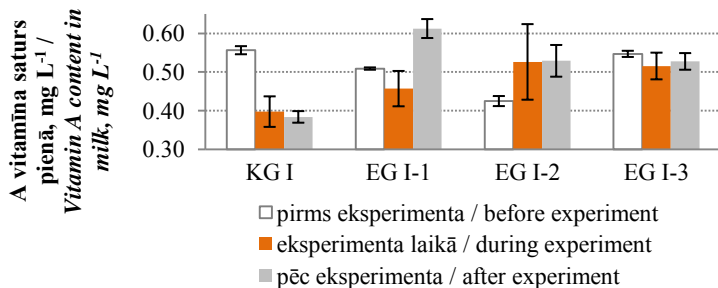
III eksperimentā tika salīdzināts kopējais karotīnu saturs dzīvnieku asins plazmā pirms un pēc 6 nedēļu ilgās burkānu piedevas izēdināšana (6. att.).



**6. att. Kopējā karotīnu satura izmaiņas govju asinīs /
Fig. 6. Changes of total carotene content in cow blood**

Pirms piedevu izēdināšanas abu grupu dzīvnieku asins vidējais kopējais karotīnu līmenis bija zem ieteicamā $3,0 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ līmeņa (Friesecke, 1978). Novērojumu periodā vidējais kopējais karotīnu saturs izteiktāk palielinājās eksperimentālās grupas dzīvnieku asinīs – 2,6 reizes, kamēr kontroles grupā – tikai 1,7 reizes. Tas ir nopietns faktors, kas ietekmē ne vien govju veselību, bet arī iegūtā piena kvalitāti.

A vitamīna (retinola) saturs izmaiņas pienā I eksperimentā iegūtajos piena paraugos apskatāmas 7. attēlā.

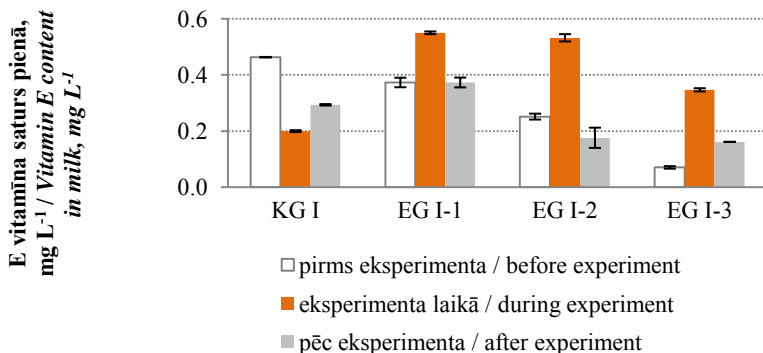


7. att. A vitamīna saturs salīdzinājums atšķirīgi ēdinātu govju pienā / Fig. 7. Comparison of vitamin A content in milk of cows fed differently

Sākotnējā A vitamīna koncentrācija 4 grupu pienā bija būtiski ($p < 0,05$) atšķirīga: KG I – $0,56 \pm 0,011 \text{ mg L}^{-1}$, EG I-1 – $0,51 \pm 0,003 \text{ mg L}^{-1}$, EG I-2 – $0,43 \pm 0,013$ un EG I-3 pienā $0,55 \pm 0,008 \text{ mg L}^{-1}$. A vitamīna koncentrācija karotinoīdu piedevu izēdināšanas laikā KG I pienā būtiski samazinājās līdz $0,40 \pm 0,040 \text{ mg L}^{-1}$ ($p < 0,05$), bet EG I-1, EG I-2 un EG I-3 pienā būtiski nemainījās (attiecīgi $0,46 \pm 0,046$, $0,53 \pm 0,098$ un $0,52 \pm 0,035 \text{ mg L}^{-1}$), salīdzinot ar saturu pirms eksperimenta. A vitamīna saturs samazinājās KG I pienā skaidrojama ar govju laktācijas perioda izmaiņām līdzīgi kā β -karotīna gadījumā. Laktācijai progresējot, tas var gan palielināties, gan samazināties atkarībā no govju nodrošinājuma ar karotinoīdiem. Tā koncentrācijas samazināšanās KG I grupas pienā saistāma ar iespējamo karotinoīdu deficītu. Pārējās grupās bija vērojama retinola koncentrācijas stabilitāte, kas, visticamāk, saistīta ar karotinoīdus saturošo barības piedevu izēdināšanu eksperimentālajās grupās. Eksperimenta laikā retinola saturs starp grupām būtiski neatšķirās, tomēr bija vērojama tendence, ka vidējais līmenis KG I un EG I-1 grupu pienā bija zemāks nekā pārējās grupās. Pēc piedevu izēdināšanas pārtraukšanas tas būtiski mainījās tikai EG I-1 pienā, paaugstinoties līdz $0,61 \pm 0,024 \text{ mg L}^{-1}$ ($p < 0,05$). Tā kā β -karotīna saturs šīs grupas pienā piedevu izēdināšanas laikā un pēc piedevu izēdināšanas pārtraukšanas būtiski ($p < 0,05$) samazinājās, salīdzinot ar saturu pirms eksperimenta, jāsecina, ka tas izmantots retinola sintēzei.

E vitamīna saturs izmaiņas pienā I eksperimentā parādītas 8. attēlā.

Sākotnējā E vitamīna koncentrācija 4 govju grupu pienā būtiski atšķirās ($p < 0,05$). KG I un EG I-1 tā bija $0,46 \pm 0,001$ un $0,37 \pm 0,017 \text{ mg L}^{-1}$. EG I-2 un EG I-3 pienā E vitamīna saturs bija zemāks – $0,25 \pm 0,011$ un $0,07 \pm 0,005 \text{ mg L}^{-1}$. Līdzīga tendence novērota arī attiecībā uz β -karotīna saturu pienā. Atšķirības skaidrojamas ar grupās iekļauto dzīvnieku individuālajām īpatnībām, tā izmantošanu organisma vajadzībām.

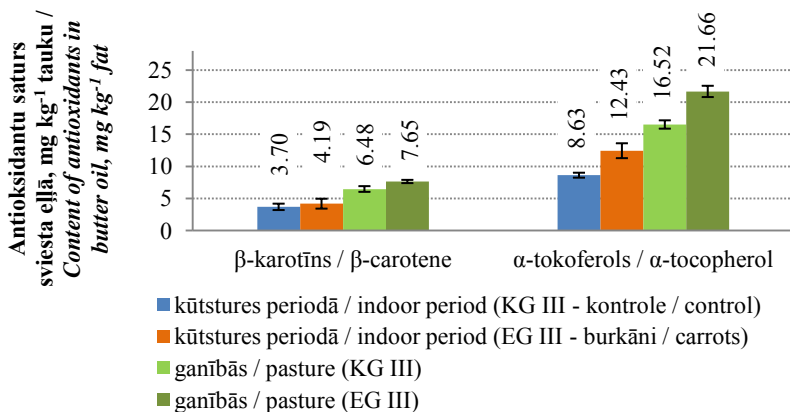


**8. att. E vitamīna satura salīdzinājums atšķirīgi ēdinātu govju pienā /
Fig. 8. Comparison of vitamin E content in milk of cows fed differently**

Eksperimenta laikā E vitamīna koncentrācija KG I pienā būtiski ($p < 0,05$) samazinājās līdz $0,20 \pm 0,003 \text{ mg L}^{-1}$, bet EG I-1, EG I-2 un EG I-3 pienā būtiski ($p < 0,05$) palielinājās (attiecīgi līdz $0,55 \pm 0,005$, $0,53 \pm 0,013$ un $0,35 \pm 0,006 \text{ mg L}^{-1}$). E vitamīna samazināšanās KG I pienā var būt saistīta ar laktācijas perioda, kā arī pamatbarības sastāva (t.i., antioksidantu satura) izmaiņām kūstures periodā. Paaugstināšanās EG I-2 grupas pienā skaidrojama ar palmu eļļas izēdināšanu, jo tā satur ne tikai karotinoīdus, bet arī E vitamīnu. Šajā grupā ar barību uzņemtā E vitamīna daudzums bija vislielākais. Tomēr arī EG I-1 un EG I-3 grupu, kurās ar barību uzņemts mazāk α -tokoferola, E vitamīna saturs pienā būtiski palielinājās ($p < 0,05$). Tātad E vitamīna pāreju pienā ietekmē ar barību uzņemto antioksidantu kopējais daudzums. Jo tas lielāks, jo vairāk E vitamīna var tikt izmantots piena sintēzei.

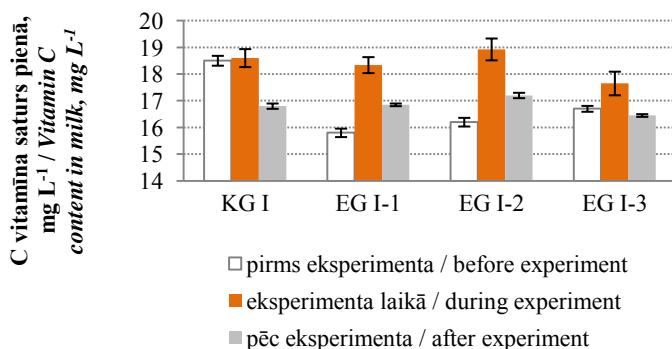
Taukos šķīstošo antioksidantu – β -karotīna un α -tokoferola – satura izmaiņas no piena iegūtā sviesta eļļā III eksperimentā apskatāms 9. attēlā. Kūstures periodā β -karotīna vidējais saturs KG III un EG III sviesta eļļas paraugos neatšķīrās.

α -tokoferola vidējais saturs bija būtiski augstāks EG III paraugos ($p < 0,05$). Ganību sezonā (7 nedēļas pēc tās sākuma jeb piedevu izēdināšanas beigām) antioksidantu saturs eļļā, salīdzinot ar kūstures periodu, būtiski palielinājās ($p < 0,05$).



9. att. β-karotīna un α-tokoferola saturs sviesta eļļā /
Fig. 9. β-carotene and α-tocopherol content in butter oil

C VITAMĪNA saturs izmaiņas pienā I eksperimentā apskatāmas 10. attēlā. Sākotnējā C vitamīna koncentrācija 4 grupu pienā atšķirās būtiski ($p < 0,05$).



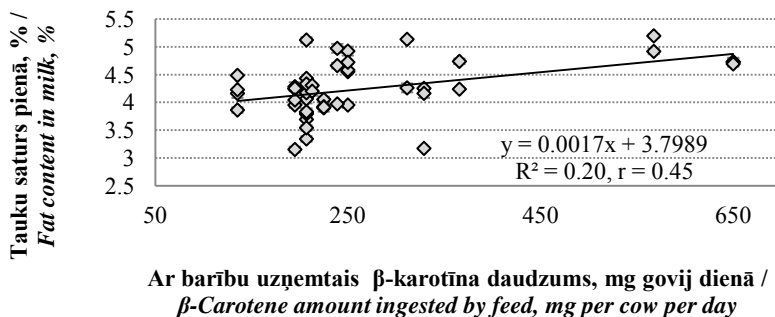
10. att. C vitamīna saturs izmaiņas atšķirīgi ēdinātu govju pienā /
Fig. 10. Changes in content of vitamin C in milk of cows fed differently

Piedeļu izēdināšanas laikā kontroles grupas pienā tā nemainījās; EG I-1 un EG I-2 pienā – palielinājās būtiski ($p < 0,05$), bet EG I-3 pienā – nebūtiski. C vitamīna saturs palielināšanās varētu būt saistīta ar to, ka, uzņemot ar barību papildu antioksidantus; organisma patērētā C vitamīna daudzums samazinās, un pienā tas pāriet lielākā daudzumā. **Jāsecina**, ka, izēdinot burkānu un sarkanās palmu eļļas pienesas, piena antioksidatīvais potenciāls uzlabojas – palielinās taukos šķīstošā (A, E, β-karotīna), kā arī ūdenī šķīstošā C vitamīna saturs tajā. Tomēr to var ietekmēt ne tikai izēdināto priedu veids un antioksidantu saturs tajās, bet arī to izmantošanas efektivitāte, piena izslaukuma, tauku saturs svārstības u.c. faktori.

1.2. Tauku, olbaltumvielu, laktozes saturs pienā un izslaukums

Apkopojums par piena tauku, olbaltumvielu satura un izslaukuma rādītājiem skatāms 3. tabulā. Salīdzinot grupu vidējos rādītājus pirms piedevu izēdināšanas un tās laikā, izmaiņas nebija būtiskas nevienā no grupām. Novērota tendence **tauku saturam** KG I, EG I-1 un EG I-2 grupu pienā samazināties, bet EG I-3 – palielināties. II eksperimentā vidējais tauku saturs visvairāk samazinājās kontroles grupas KG II pienā, tomēr šīs izmaiņas nebija būtiskas. III eksperimentā tendence bija pretēja. Izteiktākā tauku satura samazināšanās KG I un KG II grupu pienā var būt saistīta ar to, ka barība netika papildināta ar karotinoīdu piedevām. Arī **olbaltumvielu satura** izmaiņas pienā nevienā no eksperimentos iekļautajām grupām nebija būtiskas, tomēr bija vērojama tendence, ka KG I, EG I-1 un EG I-2 grupu pienā vidējais olbaltumvielu saturs pazeminājās, bet EG I-3, kā arī II eksperimentā visās grupās palielinājās. **Izslaukuma** izmaiņas nevienā no grupām nebija būtiskas, tomēr novērota tendence, ka KG I, EG I-2 un KG III grupās tas samazinājās, bet pārējās grupās palielinājās. Tātad katrā eksperimentā karotinoīdu piedevu izēdināšanas ietekme bija atšķirīga. To var ietekmēt dažādi faktori – izēdināšanas ilgums, daudzums, sastāvs, antioksidantu saturs tajās, kā arī izēdinātās pamatbarības sastāvs, kvalitātes svārstības vai izmaiņas govju laktācijas periodā. Bez tam ar barību ņemtais β -karotīna daudzums eksperimentālajās grupās visos 3 eksperimentos bija salīdzinoši neliels – mazāks par 100 mg β -karotīna govij dienā, izņemot EG I-1 grupu.

Vērtējot ar barību ņemtā antioksidantu daudzuma ietekmi uz piena tauku un olbaltumvielu saturu, veikta regresijas analīze visā pētījumu laikā iegūtiem datiem (skat. 11. un 12. att.).



11. att. Tauku satura pienā un ar barību ņemtā β -karotīna daudzuma korelācija / Fig. 11. Correlation between fat content in milk and amount of β -carotene ingested by feed

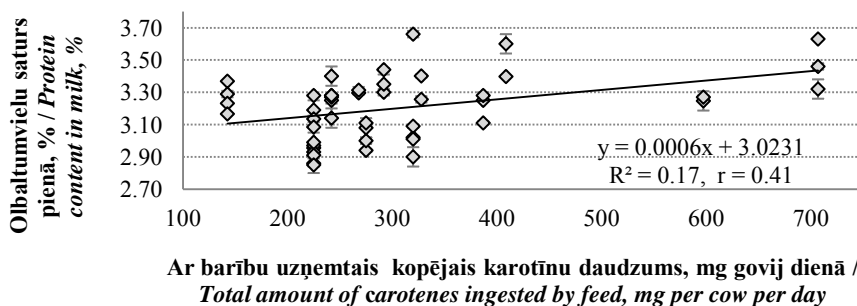
Atšķirīgi ēdinātu govju piena vidējā tauku, olbaltumvielu, laktozes saturs un izslaukuma salīdzinājums /
Comparison of the average milk fat, protein, lactose content and milk yield of differently fed cow groups

Rādītāji / Indicators		KG I	EG I-1	EG I-2	EG I-3	KG II	EG II-1	EG II-2	KG III	EG III
		Vidējais±SN / Average±SD	Vidējais±SN / Average±SD	Vidējais±SN / Average±SD	Vidējais±SN / Average±SD	Vidējais±SN / Average±SD	Vidējais±SN / Average±SD	Vidējais±SN / Average±SD	Vidējais±SN / Average±SD	Vidējais±SN / Average±SD
Pirms piedevu izēdināšanas / Before supplementation	Tauku saturs, % / Fat content, %	4.06±1.02	4.43±0.09	4.17±0.16	4.33±0.32	4.56±0.39	3.92±1.09	4.53±0.69	4.16±0.65	4.48±0.37
	Olbaltumvielu saturs, % / Protein content, %	2.96±0.13	3.28±0.35	3.14±0.08	3.09±0.09	3.13±0.17	3.17±0.04	3.22±0.09	3.29±0.23	3.37±0.39
	Laktozes saturs, % / Lactose content, %	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	4.78±0.12	4.65±0.11
	Izslaukums, kg dienā / Milk yield, kg per day	27.59±0.81	22.31±1.21	25.11±0.88	21.26±1.22	17.43±1.17	19.40±1.09	18.48±1.53	20.42±1.08	17.79±1.81
Piedevu izēdināšanas laikā / During supplementation	Tauku saturs, % / Fat content, %	3.66±0.22 (↓)	4.28±0.18 (↓)	3.95±0.07 (↓)	4.50±0.40 (↑)	4.15±0.17 (↓)	3.86±0.60 (↓)	4.53±0.51	4.37±0.54 (↑)	4.37±0.25 (↓)
	Olbaltumvielu saturs, % / Protein content, %	2.92±0.05 (↓)	2.98±0.16 (↓)	3.03±0.08 (↓)	3.15±0.35 (↑)	3.32±0.07 (↑)	3.21±0.09 (↑)	3.36±0.07 (↑)	3.26±0.10 (↓)	3.40±0.14 (↑)
	Laktozes saturs, % / Lactose content, %	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	4.78±0.08	4.64±0.11
	Izslaukums, kg dienā / Milk yield, kg per day	26.34±1.39 (↓)	23.01±1.01 (↑)	23.50±0.91 (↓)	24.46±3.97 (↑)	18.30±2.06 (↑)	19.97±2.20 (↑)	19.32±1.25 (↑)	19.72±1.09 (↓)	18.04±0.57 (↑)

n.a. – netika analizēts / not analysed; (↓) – nebūtiski samazinājās / diminished not significantly ($p \geq 0,05$);

(↑) nebūtiski palielinājās / increased not significantly ($p \geq 0,05$).

Starp **piena tauku saturu** un uzņemto kopējo karotīnu un β -karotīna daudzumu, novērota vāja, tomēr būtiska korelācija ($r = 0,45$ abos gadījumos; $p < 0,05$). Tauku saturam pienā ir tendence ($p < 0,05$) pieaugt, palielinoties ar barību uzņemto karotīnu daudzumam. Starp uzņemtā kopējā karotīnu vai β -karotīna daudzumu un **olbaltumvielu saturu pienā** korelācija ir vāja ($r = 0,41, 0,40$) ($p < 0,05$), tomēr lineārā tendence ir pozitīva (skat. 3.13. att.) ($p < 0,05$).

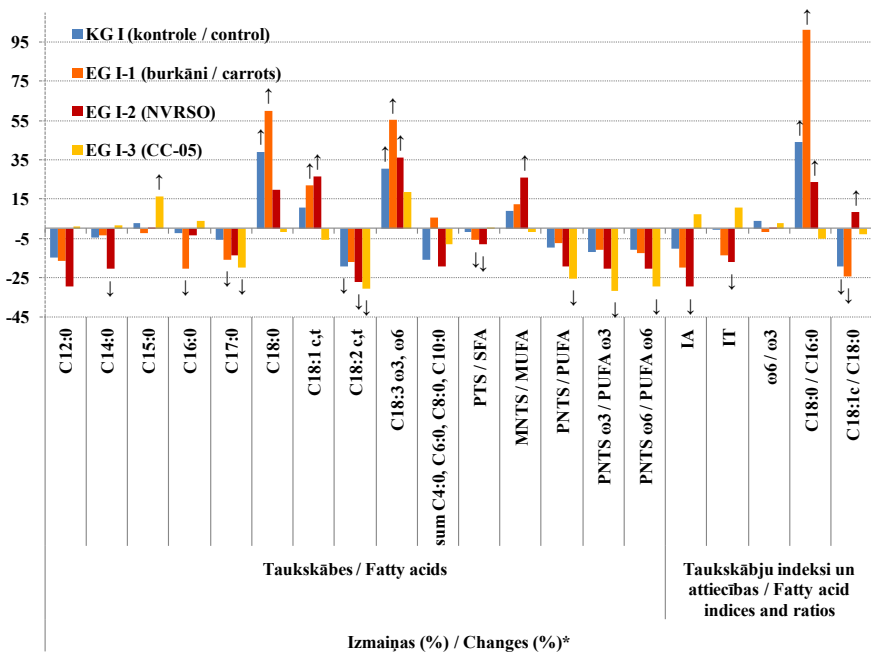


12. att. Olbaltumvielu saturs pienā un ar barību uzņemtā kopējā karotīnu daudzuma korelācija / Fig. 12. Correlation between protein content in milk and total amount of carotenes ingested by feed

Tauku un olbaltumvielu saturs palielināšanos pienā varēja sekmēt arī izēdinātās karotinoīdus saturošās barības piedevas kā papildus enerģijas avots, jo lopbarības saknes un eļļu mēdz izmantot govju barības enerģētiskās vērtības palielināšanai.

1.3. Piena taukskābju sastāvs

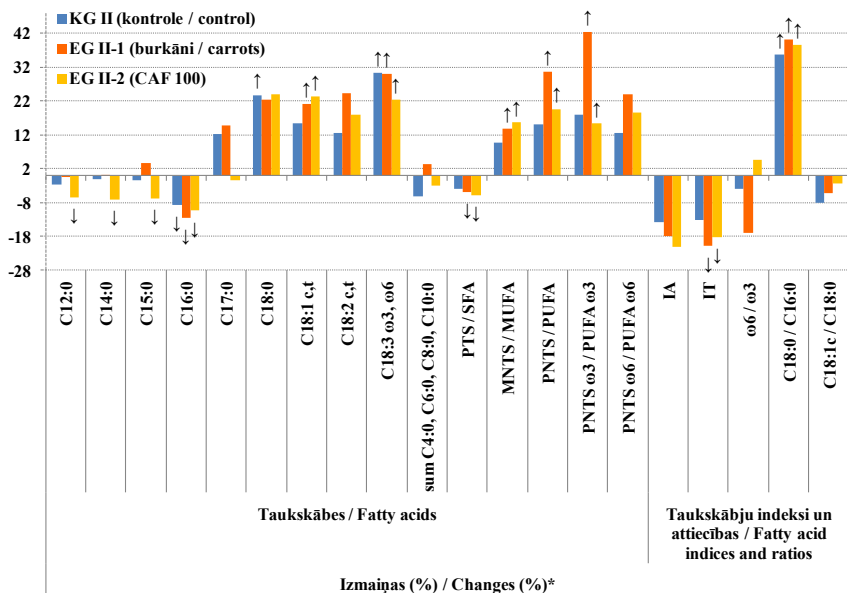
Taukskābju sastāvs ietekmē piena tauku uzturvērtību, to fizikālās īpašības, arī izturību pret oksidāciju. Lai prognozētu tauku vai eļļu iespējamo ietekmi uz veselību, tiek aprēķinātas noteiktu taukskābju attiecības un veselības ietekmes indeksi. Ir vēlama IA un IT indeksu un $\omega 6 / \omega 3$ taukskābju saturs attiecības pazemināšanās (Simopoulos, 2008), bet stearīn- / palmitīnskābes (C18:0 / C16:0) un oleīn- / stearīnskābes (C18:1c / C18:0) attiecības palielināšanās (Chillard et al., 2000). Promocijas darbā vērtētas taukskābju sastāva un veselības ietekmes indeksi izmaiņas pirms piedevu izēdināšanas un tās laikā. III eksperimentā salīdzināta arī kūtstures un ganību sezonas ietekme. **I eksperimentā** (13. att.), izēdinot **burkānus un rapšu eļļu**, izteiktāk nekā kontroles grupā palielinājās stearīn-, oleīn- un linolēnskābes saturs ($p < 0,05$), nebūtiski palielinājās īso un vidēji garo ķēžu (C4:0-C10:0) un MNTS saturs. Izteiktāk pazeminājās ($p < 0,05$) palmitīnskābes saturs.



13. att. Taukskābju sastāva un veselības ietekmes indeksu izmaiņas pienā I eksperimentā / Fig. 13. Changes in FA content and health indices in milk (Exp. I)

*izmaiņas, salīdzinot rādītājus pieteikuma izēdināšanas periodā ar rādītājiem pirms pieteikuma izēdināšanas / changes comparing parameters before and during supplementation period; ↑, ↓ – palielinājās vai samazinājās būtiski ($p < 0,05$) / increased or decreased significantly ($p < 0,05$).

Tas pozitīvi ietekmēja indeksu IA un IT izmaiņas. Būtiski palielinājās stearīn- / palmitīnskābes satura attiecība ($p < 0,05$). Izēdinot **sarkano palmu eļļu (NVRSO)**, pozitīvas tendences novērotas attiecībā uz laurīn- un miristīnskābes satura pazemināšanos, oleīn-, linolēnskābes un kopējā MNTS satura paaugstināšanos, kā rezultātā IA un IT indeksu samazināšanās ($p < 0,05$) bija izteiktāka, nekā izēdinot burkānus. Palielinājās arī oleīnskābes / stearīnskābes satura attiecība, tomēr PNTS saturs samazinājās vairāk nekā kontroles grupā. Sarkanās **palmu eļļas koncentrāta CC-05 rapšu eļļas šķīduma** izēdināšanas ietekme bija atšķirīga – būtiski ($p < 0,05$) pazeminājās PNTS saturs, bet indeksu IA un IT vērtības nebūtiski palielinājās. Oleīn- / stearīnskābes un stearīn- / palmitīnskābes satura attiecība pazeminājās nebūtiski, tomēr pēdējās samazināšanās tendence bija mazāk izteikta nekā kontroles grupā, kas vērtējams pozitīvi. Arī **II eksperimentā**, izēdinot burkānus vai sarkanās palmu eļļas pieteikuma CAF 100, pozitīvās izmaiņas attiecībā uz lielāko daļu taukskābju bija izteiktākas, salīdzinot ar izmaiņām kontroles grupā (skat. 14. attēlu).



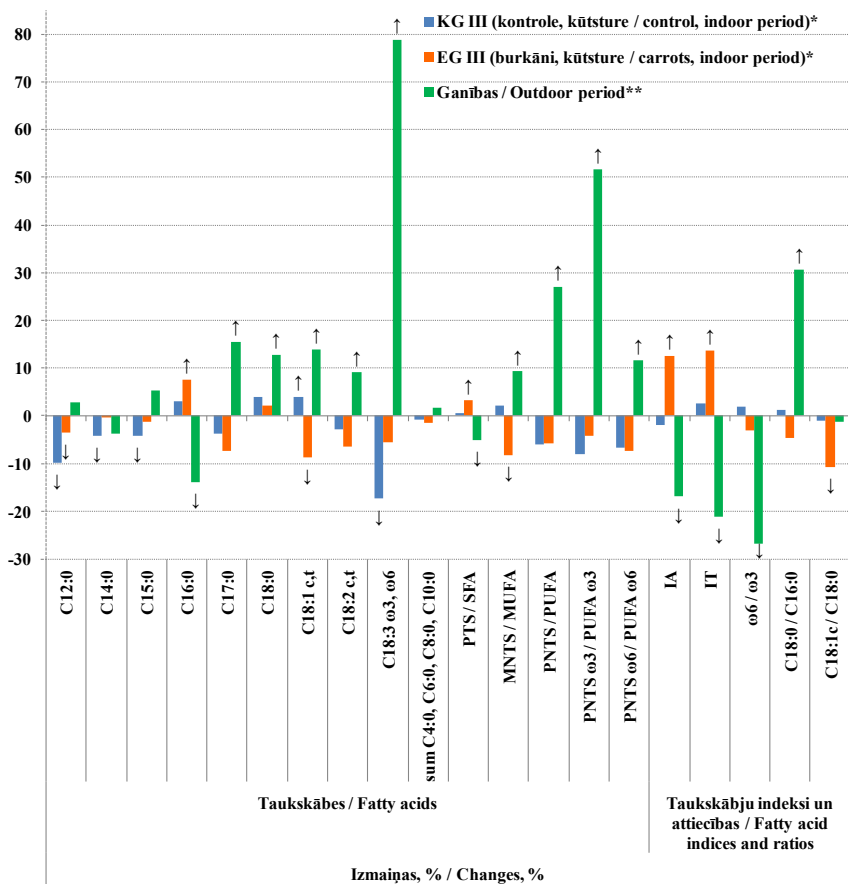
14. att. Taukskābju sastāva un veselības ietekmes indeksu izmaiņas pienā II eksperimentā / Fig. 14. Changes in FA content and health indices in milk (Exp. II)

*izmaiņas, salīdzinot rādītājus priedevu izēdināšanas periodā ar rādītājiem pirms priedevu izēdināšanas / changes comparing parameters before and during supplementation period; ↑, ↓ – palielinājās vai samazinājās būtiski ($p < 0,05$) / increased or decreased significantly ($p < 0,05$).

Izēdinot **burkānus**, būtiski palielinājās mono- un polinepiesātināto, sevišķi $\omega 3$ taukskābju saturs ($p < 0,05$), kā arī bija vērojama penta- (C15:0), heptadekānskābes (C17:0) un īso un vidēji garo ķēžu (C4:0-C10:0) piesātināto taukskābju satura palielināšanās tendence. Izteiktāk nekā kontroles grupā, tomēr nebūtiski samazinājās $\omega 6 / \omega 3$ taukskābju satura attiecība. **Priedevas CAF 100** izēdināšanai bija pozitīva ietekme uz MNTS un PNTS satura palielināšanos ($p < 0,05$). Tomēr $\omega 6 / \omega 3$ taukskābju satura attiecības izmaiņu tendence, salīdzinot ar abām pārējām grupām bija mazāk pozitīva – tā palielinājās nebūtiski. Abās eksperimentālajās grupās spēcīgāk nekā kontroles grupā samazinājās palmitīnskābes, kopējais PTS saturs ($p < 0,05$), IA ($p \geq 0,05$) un IT ($p < 0,05$) indeksi. Bija vērojamas arī pozitīvākas izmaiņas stearīn- / palmitīnskābes (palielinājās būtiski ($p < 0,05$) un izteiktāk kā KG II), un oleīn- / stearīnskābes ($p \geq 0,05$) attiecībās.

Taukskābju sastāva izmaiņas **III eksperimentā** aplūkojamas 15. attēlā.

Abās grupās, piena taukskābju sastāvā nebūtiski samazinājās PNTS saturs, taču EG III $\omega 3$ taukskābju, t.sk. linolēnskābes, satura samazināšanās tendence bija mazāk izteikta nekā kontroles grupā. Tā rezultātā EG III piena taukos $\omega 6 / \omega 3$ taukskābju attiecība pazeminājās, kas uzlūkojams pozitīvi.



15. att. Taukskābju sastāva un veselības ietekmes indeksu izmaiņas pienā III eksperimentā / Fig. 15. Changes in FA content and health indices in milk (Exp. III)

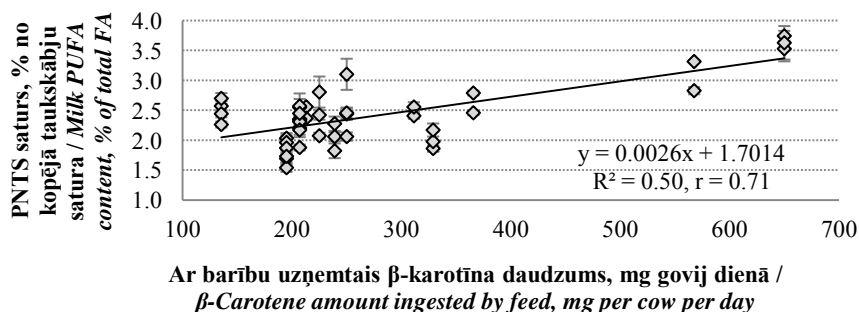
*izmaiņas, salīdzinot rādītājus pieteikuma izvēdināšanas periodā ar rādītājiem pirms pieteikuma izvēdināšanas / Changes comparing parameters before and during supplementation period; **izmaiņas, salīdzinot rādītājus ganību sezonā (abas grupas) ar rādītājiem kūtstures periodā (kontrolē grupa) / Changes comparing parameters during outdoor and indoor period; ↑, ↓ – palielinājās vai samazinājās būtiski ($p < 0,05$) / increased or decreased significantly ($p < 0,05$).

Visos 3 veiktajos eksperimentos novērots, ka **burkānu** pieteikuma izvēdināšana sekmē ω6 / ω3 taukskābju attiecības uzlabošanu. Tomēr ietekme uz citām taukskābju sastāva un veselības ietekmes indeksu izmaiņām nebija vienāda. Izteikti pozitīva ietekme uz indeksu IA un IT vai uz stearīn- / palmitīnskābes attiecības izmaiņām novērota, izvēdinot burkānus ar augstāku karotinoīdu saturu (I un II eksp.). Burkānus izvēdinot kopā ar rapšu eļļu (EG I-1), palmitīnskābes saturs taukos samazinājās izteiktāk, nekā pamatbarībai pievienojot tikai rapšu eļļu (KG I) vai tikai burkānus (EG II-1). Izvērtējot **sarkanās palmu eļļas** pieteikuma NVRSO un CAF 100 izvēdināšanas ietekmi uz piena taukskābju sastāvu, jāsecina, ka tā kopumā ir pozitīva.

Izteiktāk, kā izēdinot burkānus, palielinājās MNTS saturs ($p < 0,05$), samazinājās IA vērtība. Abu piedevu izēdināšana palielināja ($p < 0,05$) C18:1 *cis* un *trans* izomēru saturu piena taukos; tā rezultātā bija vērojama pozitīva tendence attiecībā uz oleīn- / stearīnskābes satura attiecības izmaiņām. Palmitīnskābes saturu piena taukos tā būtiski neietekmēja – izmaiņas eksperimentālajās un atbilstošajās kontroles grupās bija līdzīgas. Tomēr, salīdzinot ar burkāniem, palmu eļļas piedevu izēdināšanas ietekme bija mazāk izteikta uz PNTS, t.sk. linolēnskābes satura un uz stearīn- / palmitīnskābes attiecības izmaiņām. **III eksperimentā ganību sezonā** bija izteikti pozitīvas izmaiņas piena taukskābju sastāvā – būtiski ($p < 0,05$) palielinājās heptadekānskābes (C17:0), arī MNTS un PNTS, sevišķi $\omega 3$, taukskābju saturs, kā arī stearīn- / palmitīnskābes satura attiecība. Spēcīgāk, nekā kontroles grupā, samazinājās palmitīnskābes saturs ($p < 0,05$), indeksi IA un IT, kā arī $\omega 6 / \omega 3$ taukskābju attiecība. Tātad ganību periodā piena tauku uzturvērtība taukskābju sastāva un iepriekš apskatītā antioksidantu satura ziņā palielinās.

Lai izvērtētu saistību starp uzņemtās barības antioksidantu daudzumu un piena taukskābju sastāvu vai veselības ietekmes indeksu izmaiņām, tika veikta regresijas un korelācijas analīze. Noteikts, ka starp PNTS saturu piena taukos un ar barību uzņemto kopējo karotīnu un β -karotīna daudzumu ir lineāra, vidēji cieša ($r = 0,64$, $r = 0,71$; $p < 0,05$) un pozitīva saistība ($p < 0,05$) (skat. 16. att.). Tātad, palielinoties ar barību uzņemtajam karotīnu daudzumam, piena taukos palielinās PNTS saturs. Uzņemtajam kopējam karotīnu un β -karotīna daudzumam ir vidēji cieša ($r = 0,73$, $0,75$; $p < 0,05$), lineāra un pozitīva saistība ar **linolēnskābes** saturu piena taukos ($p < 0,05$). Savukārt linolēnskābes, PTS un MNTS saturu piena taukos uzņemtais kopējais karotīnu un β -karotīna daudzums neietekmē.

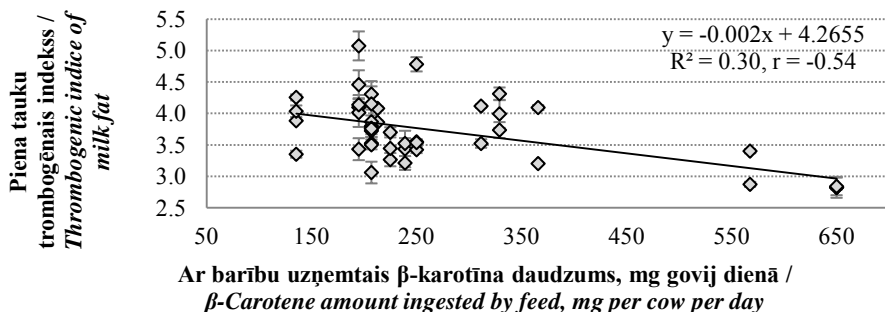
Uzņemot lielāku kopējo karotīnu daudzumu, taukos samazinās $\omega 6 / \omega 3$ **taukskābju attiecība**, tomēr lineārā tendence, kaut arī ir būtiska ($p < 0,05$), ir vāja ($r = -0,44$; $p < 0,05$). To var ietekmēt izēdināto piedevu veids – vizīteiktākā ietekme uz šīs attiecības samazināšanos bija burkānu izēdināšanai.



16. att. Ar barību uzņemtā β -karotīna daudzuma un piena tauku polinepiesātināto taukskābju satura korelācija / Fig. 16. Correlation between β -carotene amount ingested by feed and milk PUFA content

Analizējot ar barību uzņemto karotīnu daudzuma un taukskābju veselības ietekmes **trombogēnā indeksa** (IT) korelāciju (skat. 17. att.), jāsecina, ka tendence

ir lineāra, būtiska ($p < 0,05$) un vidēji cieša ($r = -0,51$ ar kopējo karotīnu daudzumu un $r = -0,54$ ar β -karotīna daudzumu; $p < 0,05$). Tātad, slaucamajām govīm ar barību uzņemot lielāku karotīnu daudzumu, samazinās piena tauku trombogēnā indeksa vērtība, kas ir vēlams no uzturvērtības viedokļa.



17. att. Ar barību uzņemtā β -karotīna daudzuma un piens tauku trombogēnā indeksa korelācija / Fig. 17. Correlation between β -carotene amount ingested by feed and thrombogenic indice of milk fat

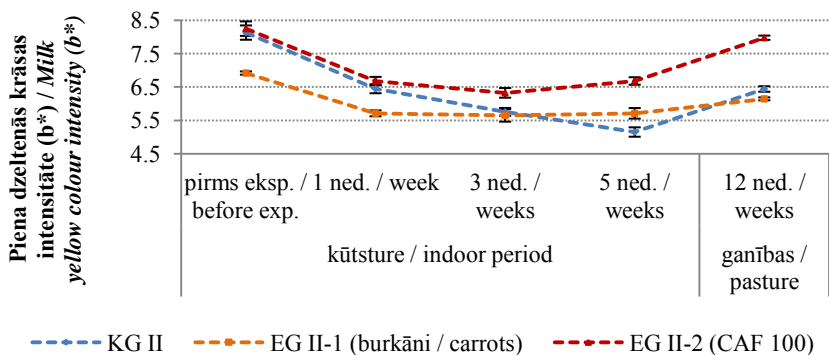
Regresijas analīzē starp uzņemto karotīnu daudzumu un tauku aterogēno indeksu netika konstatēta statistiski nozīmīga sakarība. Līdzīgi rezultāti iegūti arī attiecībā uz stearīn- / palmitīnskābes un oleīn- / stearīnskābes satura attiecībām, taču atsevišķu piedevu ietekme var būt izteiktāka nekā pārējām.

Kopumā jāsecina, ka, palielinoties ar barību uzņemtajam karotīnu daudzumam, palielinās piens taukos esošo polinepiesātināto taukskābju saturs, uzlabojas tauku trombogēnais indekss. Tomēr to var ietekmēt arī citi piedevu sastāvā esošie savienojumi. Nozīmīgs ir izēdināto piedevu veids. Burkānu izēdināšana veicina arī stearīn- / palmitīnskābes satura, bet palmu eļļas piedevu izēdināšana sekmē oleīn- / stearīnskābes satura attiecības palielināšanos. Tomēr polinepiesātināto taukskābju satura palielināšanās dēļ šādi tauki var būt vieglāk oksidējami, tāpēc svarīgi, lai tajos pietiekamā daudzumā būtu arī dabīgi antioksidanti.

1.4. Piens un no tā iegūtas sviesta eļļas krāsas intensitātes analīze

Karotinoīdi kā dzeltenas, sarkanas un oranžas krāsas pigmenti ietekmē daudzus pārtikas produktu krāsu. Darbā tika pētīts, vai tos saturošu barības piedevu izēdināšana ietekmē piens un sviesta eļļas dzeltenās krāsas intensitāti (DzKI). Tās izmaiņas **pienā II eksperimentā** attēlotas 18. attēlā.

Pirms piedevu izēdināšanas piens DzKI starp grupām būtiski atšķīrās ($p < 0,05$). Tas skaidrojams ar grupās komplektēto govju individuālajām īpatnībām (spēju absorbēt karotīnu un tā pāreju pienā), kā arī ar piens tauku satura atšķirībām. Eksperimenta laikā DzKI visizteiktāk samazinājās kontroles grupas pienā.

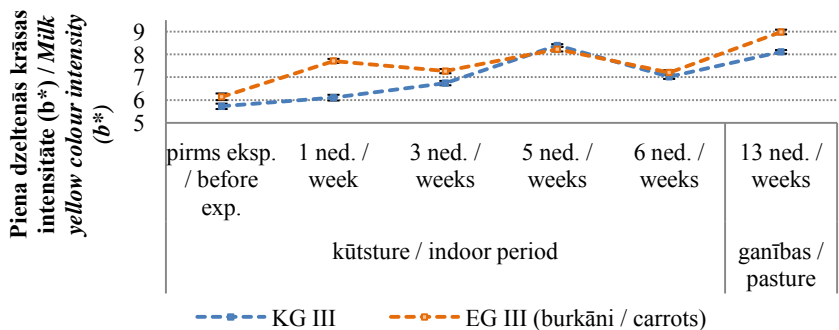


18. att. Piena dzeltenās krāsas intensitātes izmaiņas II eksperimentā /
Fig. 18. Changes in intensity of milk yellow colour found out during Experiment II

Eksperimentālajās grupās sākotnēji novērotā DzKI samazināšanās skaidrojama ar to, ka barības papildināšanas efekts nav tūlītējs, tas saistīts ar karotinoīdu rezervju veidošanos un izmantošanu govju organismā. Kaut arī karotinoīdus saturošās piedevas nepalielināja, tās tomēr kavēja DzKI samazināšanos eksperimentālo grupu pienā. Ganību sezonā DzKI būtiski palielinājās visu grupu pienā.

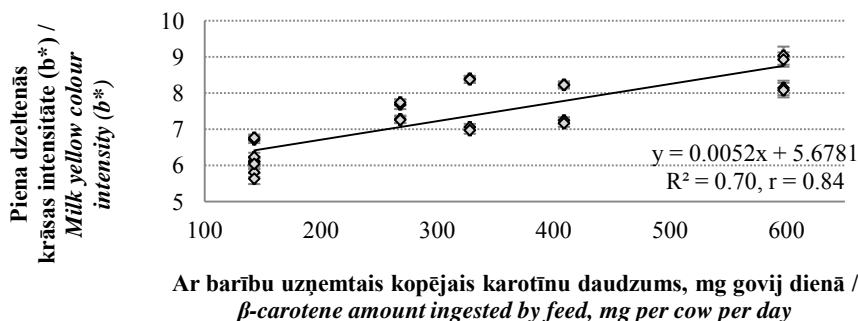
Piena DzKI izmaiņas **III eksperimentā** attēlotas 19. attēlā.

Abās grupās kūstures periodā iegūtos piena paraugos (līdz 5 ned.) DzKI palielinājās. Izmaiņas kontroles grupas paraugos, kuras barība netika papildināta ar burkānu piedevu, skaidrojamas ar govīm izēdinātās pamatbarības karotinoīdu satura palielināšanos. Ganību sezonā DzKI abu grupu pienā būtiski palielinājās.



19. att. Piena dzeltenās krāsas intensitātes izmaiņas III eksperimentā /
Fig. 19. Changes in intensity of milk yellow colour found out during Experiment III

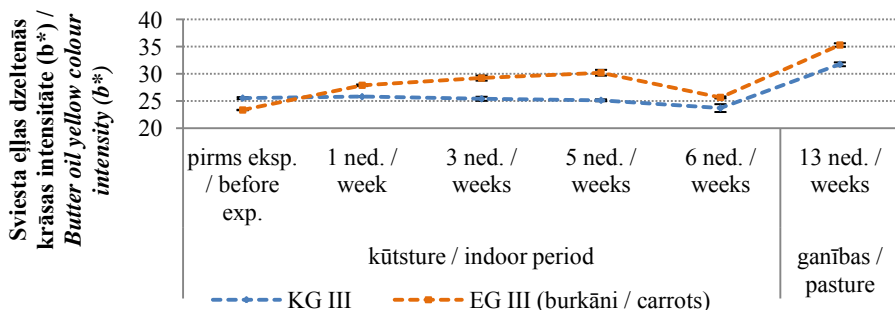
Analizējot III eksperimentā ar barību uzņemto antioksidantu (kopējā karotīnu un β -karotīna) daudzuma un piena DzKI saistības ciešumu, redzams (skat. 20. att.), ka lineārā korelācija ir cieša ($r = 0,84, 0,81$; $p < 0,05$) un pozitīva ($p < 0,05$).



20. att. Piena dzeltenās krāsas intensitātes un ar barību uzņemtā kopējā karotīnu daudzuma korelācija / Fig. 20. Correlation between β -carotene amount ingested by feed and intensity of milk yellow colour

Iepriekš tika konstatēts, ka, palielinoties ar barību uzņemtajam karotīnu daudzumam, palielinās arī piena tauku saturs, tādēļ pētīts, vai DzKI palielināšanos ietekmē tauku satura izmaiņas pienā. Noteikts, ka piena DzKI un tauku satura lineārā korelācija ir cieša ($r = 0,83$; $p < 0,05$) un pozitīva ($p < 0,05$).

Sviesta eļļas DzKI izmaiņas III eksperimentā, attēlotas 21. attēlā. Piedevu izēdināšanas laikā EG III paraugu DzKI bija augstāka, nekā kontroles grupai. Ganību sezonā bija vērojama abu grupu sviesta eļļas DzKI izteikta palielināšanās līdzīgi, kā piena paraugiem.



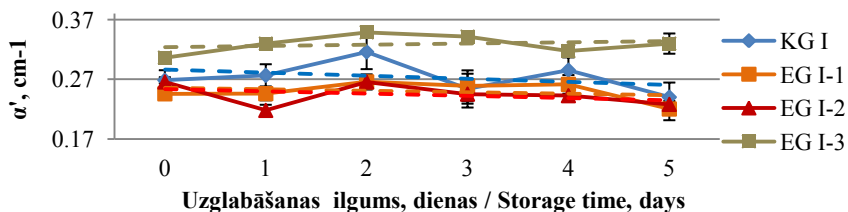
21. att. Sviesta eļļas dzeltenās krāsas intensitātes izmaiņas III eksperimentā / Fig. 21. Changes in intensity of butter oil yellow colour during Exp. III

Analizējot sakarību starp sviesta eļļas DzKI un ar barību uzņemto antioksidantu (kopējā karotīna un β -karotīna) daudzumu, noteikts, ka saistība ir lineāra, pozitīva un vidēji cieša ($r = 0,74$ un $0,73$; $p < 0,05$). Analizējot sakarību starp sviesta eļļas DzKI un tajā esošā β -karotīna saturu, secināts, ka lineārā tendence ir pozitīva ($p < 0,05$), bet vāja ($r = 0,49$; $p < 0,05$), liecinot par blakus faktoru ietekmi. Taču nelineārās polinomiālās sakarības determinācijas koeficienta vērtība ir augsta $R^2 = 0,79$ ($p < 0,05$). Saistība starp α -tokoferola saturu sviesta eļļā un DzKI ir cieša ($r = 0,83$; $p < 0,05$), lineāra un pozitīva.

2. Piena lipīdu stabilitātes pētījumi

2.1. Lipīdu oksidatīvā stabilitāte pienā

Piena kopējā karbonilsavienojumu satura izmaiņas **I eksperimentā** (piedevu izēdināšanas ilgums – 3 ned.) atspoguļotas 22. attēlā. Salīdzinot rezultātus piena uzglabāšanas sākumā un beigās (1. un 6. diena), visu grupu paraugos tās bija nebūtiskas. Tātad, iespējams, ka šajā laikā oksidācija pienā nenotiek (pienā antioksidantu saturs vēl ir pietiekams) vai metodes jutība ir nepietiekami augsta.



22. att. Kopējā karbonilsavienojumu satura izmaiņas pienā, kas kontrolētas ar absorbcijas mērījumiem pie viļņa garuma 420 nm /

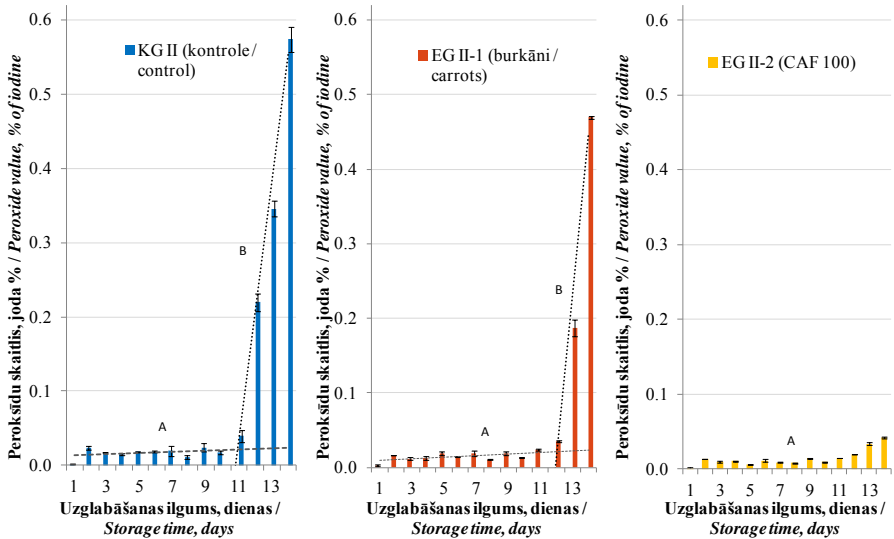
Fig. 22. Changes in total carbonyl compound content in milk controlled with measurements of absorption at wave length 420 nm

Pētot **piena polinepiesātināto taukskābju (PNTS) stabilitāti**, secināts, ka kopējā PNTS satura izmaiņas, pienu uzglabājot 5 diennaktis 4–6 °C temperatūrā tumšā, visās paraugu noņemšanas reizēs iegūtam pienam nebija būtiskas nevienas grupas pienā. Turpmāk nolemts lietot apstākļus, kas piena lipīdu oksidāciju veicinātu un lipīdu stabilitātes pētījumus veikt no piena atdalītai sviesta eļļai.

2.2. Sviesta eļļas stabilitātes izvērtējums saistībā ar govīm izēdināto karotinoīdus saturošo barības piedevu veidu

Peroksīdu skaitļa izmaiņas. Sviesta eļļas paraugu, kas iegūti **II eksperimentā** pēc 3 nedēļu ilgas piedevu izēdināšanas un uzglabāti 3h tumsā, kam sekoja uzglabāšana 60±1 °C temperatūrā, oksidatīvā stabilitāte bija salīdzinoši augsta – 25 dienu laikā bija vērojams tikai indukcijas periods, kad skābekļa patēriņš ir neliels un pietiekamā daudzumā ir antioksidanti; brīvo radikāļu veidošanās tikai sākas. Gaismas iedarbībai pakļautiem (3h) paraugiem novērotas daudz ātrākas oksidatīvās izmaiņas (skat. 23. att).

4. tabulā apkopotī rezultāti par paraugu indukcijas perioda ilgumu un PNTS saturu. Abu eksperimentālo grupu sviesta eļļas paraugu (3 ned.) oksidatīvā stabilitāte bija būtiski ($p < 0,05$) augstāka, salīdzinot ar kontroles grupas sviesta eļļas stabilitāti. Tā iemesls varētu būt karotinoīdus saturošo piedevu izēdināšana eksperimentālajām grupām. Visaugstākā stabilitāte noteikta EG II-2 eļļas paraugiem.



23. att. Gaismā (3h) un 60 ± 1 °C temperatūrā uzglabātas sviesta eļļas peroksīdu skaitļa izmaiņas / Fig. 23. Changes of peroxide value of butter oil stored in light (3 h) and at 60 ± 1 °C temperature

A – indukcijas periods, B – aktīvā peroksīdu un hidroperoksīdu veidošanās fāze /
A – induction period, B – active phase of peroxide and hydroperoxide formation

Tas skaidrojams ar izēdinātās piedevas augsto karotinoīdu, α -tokoferola un likopēna saturu, kā arī ar, iespējams, labāku tajā esošo taukos šķīstošo antioksidantu absorbciju govs organismā, salīdzinot ar burkāniem.

4. tabula / Table 4

Sviesta eļļas paraugu indukcijas perioda ilgums un polinepiesātināto taukskābju saturs / Butter oil samples: induction period and PUFA content

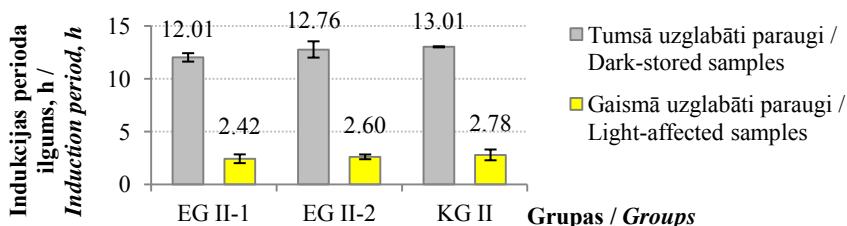
Grupas / Groups	Indukcijas perioda ilgums, dienas / Induction period, days		PNTS saturs, % no kopējām taukskābēm (\pm SN) / PUFA content, % of total FA (\pm SD)	
	3 ned.*	5 ned.*	3 ned.*	5 ned.*
KG II (kontrolē/control)	10.97 ^a	11.85 ^a	1.96 \pm 0.27 ^a	1.87 \pm 0.23 ^a
EG II-1 (burkāni/carrots)	12.03 ^b	12.54 ^a	1.98 \pm 0.38 ^a	2.17 \pm 0.24 ^a
EG II-2 (CAF 100)	> 14.00 ^c	13.44 ^b	2.28 \pm 0.27 ^a	2.06 \pm 0.17 ^a

*Piedevu izēdināšanas ilgums / Supplementation time; ^{a, b, c} – vērtības, kas kolonnās atzīmētas ar vienu un to pašu burtu, savā starpā būtiski neatšķiras ($p \geq 0,05$) / Values, marked with the same superscript letters in a column, are not significantly different ($p \geq 0,05$).

Pēc 5 nedēļu ilgas piedevu izēdināšanas II eksperimentā novērotā oksidatīvo izmaiņu tendence bija līdzīga, tomēr nedaudz atšķirīga – EG II-2 eļļas stabilitāte bija būtiski ($p < 0,05$), bet EG II-1 eļļas stabilitāte – nebūtiski augstāka nekā KG II eļļai. Tajā pašā laikā novērota tendence, ka abu eksperimentālo grupu eļļā PNTS saturs

bija augstāks ($p \geq 0,05$), kas norāda uz eļļas vieglāku oksidējamību. Taču tā kā šo grupu eļļas oksidatīvā stabilitāte bija augstāka nekā kontroles grupai, jāsecina, ka abu piedevu izēdināšanai bija pozitīva ietekme uz lipīdu oksidatīvo stabilitāti.

Sviesta eļļas oksidatīvās stabilitātes novērtējums ar Rancimata metodi veikts II eksperimentā pēc 3 ned. piedevu izēdināšanas perioda iegūtiem sviesta eļļas paraugiem. Rezultāti apskatāmi 24. attēlā. Vidējais indukcijas perioda ilgums tumsā uzglabātiem paraugiem bija $12,59 \pm 0,29$ h un tas bija būtiski ($p < 0,05$) lielāks nekā paraugiem, kas uzglabāti gaismā, t.i., $2,60 \pm 0,19$ h. Rezultāti apliecina, ka gaismas ietekme uz oksidācijas procesu norises ātrumu ir nozīmīga.

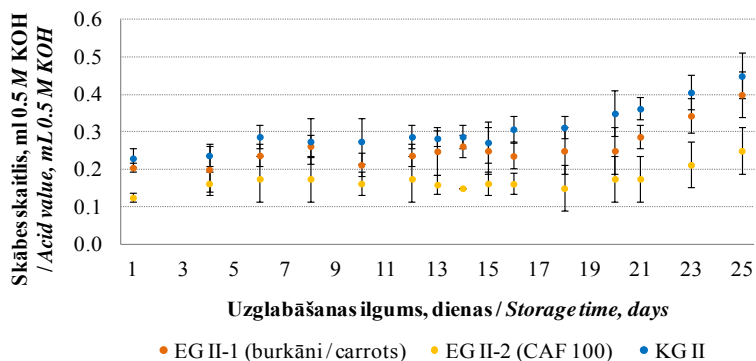


24. att. Ar Rancimata metodi noteiktais sviesta eļļas indukcijas perioda ilgums / Fig. 24. Induction period of butter oil measured by Rancimat method

Noteiktā oksidatīvā stabilitāte eksperimentālo grupu paraugos nebija būtiski augstāka, salīdzinot ar kontroles grupu, ne tumsā, ne gaismā turētiem paraugiem. Tas skaidrojams ar Rancimata metodē izmantotajiem spēcīgajiem oksidāciju veicinošajiem apstākļiem (augsta temperatūra $+110$ °C, kā arī saskarsme ar gaisa skābekli), kuros karotinoīdi varēja zaudēt savas aizsargspējas.

Sviesta eļļas oksidatīvās stabilitātes novērtējums ar skābes skaitļa metodi. Skābes skaitļa izmaiņas liecina par brīvo taukskābju u.c. skābju koncentrācijas izmaiņām eļļā. Tās sagaidāmas trešējo oksidācijas produktu veidošanās posmā, kad notiek sekundāro oksidācijas produktu sadalīšanās un veidojas skābes ar īsu oglekļa ķēdes garumu (Gunstone, 1996). **II eksperimentā** skābes skaitļa izmaiņu pētījumi tika veikti pēc 3 un 5 nedēļu ilgas karotinoīdu piedevu izēdināšanas no iegūtā piena atdalītai sviesta eļļai, kas uzglabāta 60 ± 1 °C temperatūrā. Iegūtie rezultāti abās paraugu ņemšanas reizēs bija līdzīgi. Kaut arī sākotnējās skābes skaitļa vērtības 3 grupu paraugos, kas uzglabāti tumsā bija atšķirīgas, 25 dienu uzglabāšanas laikā to izmaiņas nebija būtiskas visu grupu paraugos. Tātad oksidatīvie vai hidrolītiskie procesi sviesta eļļā, kura netika pakļauta gaismas iedarbībai, praktiski nenotika. Šajā laikā, analizējot primāro oksidācijas produktu koncentrāciju ar peroksīdu skaitļa metodi, arī novērots tikai indukcijas periods. Gaismā uzglabātai eļļai, kas iegūta pēc 5 ned. piedevu izēdināšanas perioda, skābes skaitļa izmaiņas apskatāmas 25. attēlā.

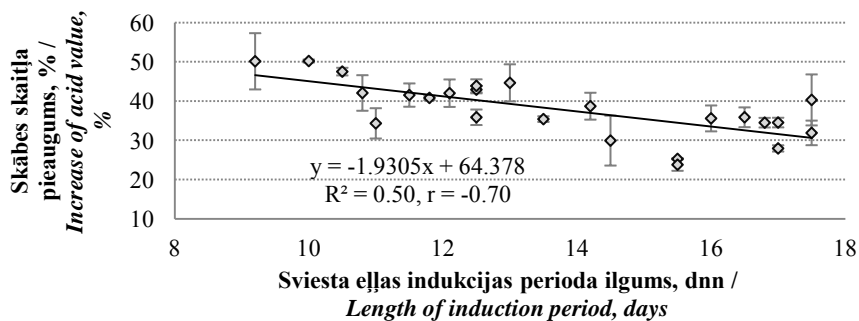
Izmaiņas 25 dienu uzglabāšanas laikā bija nelielas, bet būtiskas ($p < 0,05$). Visticamāk, skābju saturs sviesta eļļā galvenokārt palielinājās kā trešējie oksidācijas, nevis hidrolītiskās šķelšanās produkti – visizteiktāk KG II, bet mazāk EG II-1 un EG II-2 eļļā. Izmaiņu tendence līdzīga primāro oksidācijas produktu izmaiņām.



25. att. Gaismā (3h) un 60 °C temperatūrā uzglabātas sviesta eļļas skābes skaitļa izmaiņas / Fig. 25. Changes of acid value of butter oil stored in light (3 h) and at 60 °C temperature

Kopumā jāsecina, ka abu eksperimentālo grupu lipīdu stabilitāte bija augstāka nekā kontroles grupai. Gaismā un tumsā uzglabātas sviesta eļļas oksidatīvās stabilitātes atšķirības liecina par gaismas nozīmīgo ietekmi uz oksidācijas procesiem, kuru jācenšas novērst, lai saglabātu iespējami augstu piena produktu kvalitāti.

III eksperimentā tika pētīts oksidācijas primāro un trešējo produktu veidošanās intensitātes saistības ciešums (skat. 26. att.). Lielāks indukcijas perioda ilgums, kā arī mazāks skābes skaitļa pieaugums liecina par labāku eļļas oksidatīvo stabilitāti.



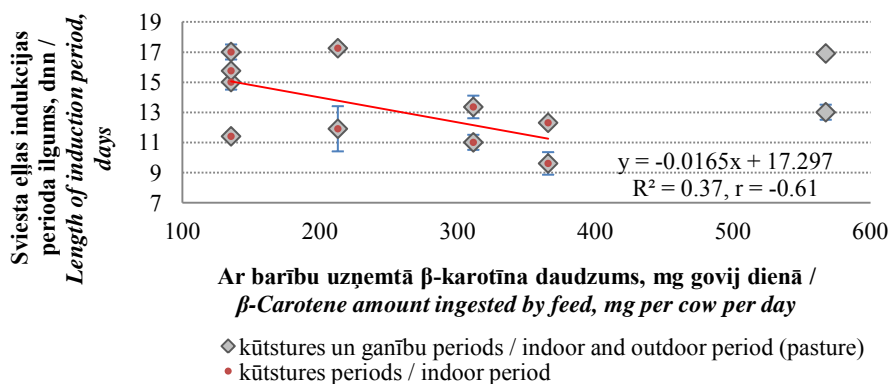
26. att. Sviesta eļļas oksidācijas primāro un trešējo produktu veidošanās korelācija / Fig. 26. Correlation between primary and tertiary oxidation products of butter oil

Korelācijas koeficienta vērtība $r = -0,70$ ($p < 0,05$) ļauj secināt, ka starp sviesta eļļas indukcijas perioda ilgumu un skābes skaitļa pieaugumu pastāv vidēji cieša negatīva lineāra sakarība ($p < 0,05$). Tā kā starp šiem rādītājiem pastāv pietiekami spēcīga korelācija, tad turpmāk runāts galvenokārt par vienu no tiem – sviesta eļļas indukcijas perioda ilgumu, kas attēlo ātrākas oksidatīvās izmaiņas produktā.

2.3. Ar barību uzņemtā antioksidantu daudzuma ietekme uz sviesta eļļas lipīdu stabilitāti

Lai izvērtētu, cik lielā mērā ar barību uzņemtais karotīnu daudzums ietekmē sviesta eļļas oksidatīvo stabilitāti, III eksperimentā veikta regresijas analīze starp sviesta eļļas oksidatīvās stabilitātes rādītājiem un ar barību uzņemto antioksidantu daudzumu. Analizējot kūstures un ganību periodā iegūtos datus, jāsecina, ka lineāra sakarība starp indukcijas perioda ilgumu un β -karotīna saturu sviesta eļļā nepastāv. Nelineārā sakarība ir ciešāka, tomēr nav statistiski nozīmīga. Atsevišķi apskatīta korelācija kūstures periodā (27. att.). Lineārā tendence ($p < 0,05$) ir negatīva un korelācija starp eļļas indukcijas perioda ilgumu un uzņemtā β -karotīna daudzumu ir vidēji cieša ($r = -0,61$; $p < 0,05$), bet ar uzņemto kopējo karotīnu daudzumu kūstures periodā lineārā sakarība nav būtiska. Starp skābes skaitļa pieaugumu un uzņemtā kopējā karotīnu vai β -karotīna daudzumu kūstures periodā lineārā sakarība ir būtiska ($p < 0,05$) un cieša ($r = 0,81$ un $r = 0,80$, attiecīgi; $p < 0,05$). Būtiska ir arī nelineārā (polinomiālā) sakarība starp šiem rādītājiem, analizējot kopējos datus, kas iegūti abos periodos ($p < 0,05$).

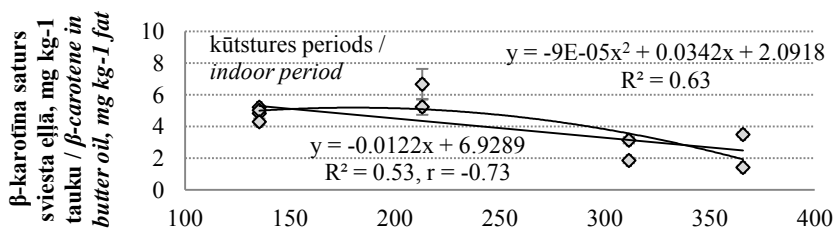
Tālāk tika mēģināts rast skaidrojumu, kādēļ III eksperimentā kūstures periodā sviesta eļļas indukcijas perioda ilgums samazinājās, palielinoties ar barību uzņemtajam β -karotīna daudzumam.



27. att. Sviesta eļļas indukcijas perioda un ar barību uzņemtā β -karotīna daudzuma korelācija / Fig. 27. Correlation between butter oil induction period and β -carotene amount ingested by feed

Analizējot sakarību starp β -karotīna saturu sviesta eļļā un uzņemtā β -karotīna daudzumu ($r = -0,73$; $p < 0,05$), vērojama līdzīga negatīva tendence – kūstures periodā palielinoties ar barību uzņemtajam β -karotīna daudzumam, β -karotīna saturs sviesta eļļā samazinās (skat. 28. att.).

Tātad viens no oksidatīvās stabilitātes mazināšanās iemesliem III eksperimentā kūstures periodā varētu būt β -karotīna satura samazināšanās sviesta eļļā, jo β -karotīnam piemīt antioksidanta īpašības un tā satura samazināšanās negatīvi ietekmē oksidatīvo stabilitāti. Šīs izmaiņas varētu būt skaidrojamas ar tauku satura izmaiņām pienā.



Ar barību uzņemtā β -karotīna daudzums, mg govij dienā /
 β -Carotene amount ingested by feed, mg per cow per day

28. att. Sviesta eļļas β -karotīna saturs un kūstures periodā ar barību uzņemtā β -karotīna daudzuma korelācija / Fig. 28. Correlation between butter oil β -carotene content and β -carotene amount ingested by feed during indoor period

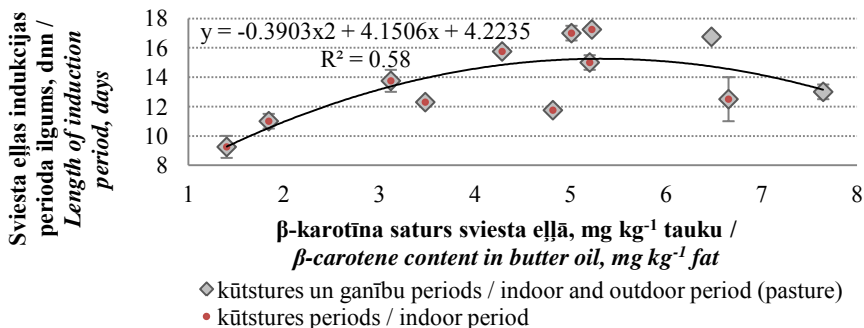
Palielinoties barības β -karotīna saturam vai arī pateicoties tam, ka ar karotinoīdus saturošām piedevām tiek uzņemtas citas vērtīgas barības sastāvdaļas, kas kalpo kā papildus enerģijas avots, govju sintezētais tauku daudzums palielinās. Govju saražojot vairāk tauku, β -karotīna koncentrācija tajos var nepieaugt proporcionāli (t.s. „atšķaidīšanās” efekts). Līdzīgi secinājumi aprakstīti arī citu pētnieku publikācijās, uzsverot to, ka mūsdienās ar ģenētikas un piena ražošanas intensifikācijas palīdzību, arvien vairāk palielinot piena izslaukumu un tauku saturu, tajos esošo antioksidantu saturs samazinās. Turklāt ne viss ar barību uzņemtā β -karotīna daudzums pāriet sviesta eļļā, tas var tikt izmantots arī A vitamīna (retinola) sintēzei u.c. govju organisma vajadzībām.

Otrs oksidatīvās stabilitātes pasliktināšanās iemesls varētu būt polinepiesātināto taukskābju (PNTS) saturs palielināšanās sviesta eļļā, palielinoties ar barību uzņemto karotinoīdu piedevu daudzumam.

Tātad, palielinoties ar barību uzņemtā β -karotīna daudzumam novērota sviesta eļļas oksidatīvās stabilitātes samazināšanās III eksperimentā, jo 1) sviesta eļļā samazinājās β -karotīna koncentrācija, kas skaidrojams ar tauku satura palielināšanos pienā; 2) sviesta eļļā palielinājās vieglāk oksidējamo polinepiesātināto taukskābju saturs. Salīdzinot II un III eksperimenta rezultātus, jāsecina, ka tie ir atšķirīgi, jo II eksperimentā izēdināto piedevu ietekme uz sviesta eļļas oksidatīvās stabilitātes uzlabošanu bija izteiktāk pozitīva. To varēja ietekmēt, piem., izmantoto piedevu veids, antioksidantu saturs, atšķirīgs sākotnējais (pirms eksperimenta) govju nodrošinājums ar antioksidantiem, oksidatīvās stabilitātes pētījumos izmantotās gaismas ietekme.

2.4. Sviesta eļļas lipīdu stabilitāte atkarībā no tajā esošo antioksidantu satura

Tika analizēta korelācija starp sviesta eļļas oksidatīvo stabilitāti un tajā noteikto antioksidantu saturu. Noteiktā lineārā tendence nav statistiski nozīmīga ($p \geq 0,05$), turpretī nelineārā polinomiālā sakarība ir būtiska ($R^2 = 0.58$; $p < 0,05$) (skat. 29. att.).



29. att. Sviesta eļļas indukcijas perioda un β-karotīna satura korelācija /
Fig. 29. Correlation between butter oil induction period and β-carotene content

Tātad sviesta eļļas indukcijas perioda ilgumu ietekmē arī citi faktori. Pie mazākas β-karotīna koncentrācijas eļļā, tai palielinoties, indukcijas perioda ilgums (oksidatīvā stabilitāte) palielinās. Pie lielākas β-karotīna koncentrācijas eļļā, indukcijas perioda ilgums variē spēcīgāk, ko var skaidrot ar iespējamu β-karotīna antioksidatīvo īpašību maiņu vai pat prooksidatīvo īpašību pastiprināšanos noteiktos apstākļos.

Attiecībā uz saistības ciešumu starp **α-tokoferola** saturu sviesta eļļā un tās oksidatīvo stabilitāti, ko raksturo indukcijas perioda ilgums vai skābes skaitļa pieaugums, tad regresijas analīzes hipotēžu pārbaude liecina, ka starp šiem rādītājiem lineāra vai polinomiāla saistība nepastāv. Pētījuma rezultāti var būt skaidrojami ar šo dažādo antioksidantu atšķirīgo aktivitāti pētījumā izmantotajos oksidāciju veicinošajos apstākļos. Sviesta eļļu pakļaujot fluorescentās gaismas un paaugstinātas temperatūras (60±1 °C) iedarbībai, β-karotīna antioksidatīvā iedarbība visticamāk ir spēcīgāka, salīdzinot ar α-tokoferola iedarbību. Ir zināms, ka β-karotīna loma fotooksidatīvo reakciju kavēšanā ir nozīmīga – tie darbojas kā singletā skābekļa neutralizētāji – un var būt lielāka nekā α-tokoferolam; bez tam β-karotīna antioksidatīvā aktivitāte ir augstāka mazās skābekļa koncentrācijās.

SECINĀJUMI

1. Govīm izēdinot karotinoīdus saturošas barības piedevas, pienā palielinās tauku un olbaltumvielu saturs; korelācija ir vāja, tomēr tendence ir statistiski ticama ($p < 0,05$).
2. Burkānu izēdināšana veicināja karotīna satura palielināšanos govju asinīs – ietekme bija būtiska ($p < 0,05$) un izteiktāka, salīdzinot ar izmaiņām kontroles grupā.
3. Slaucamām govīm izēdinot karotinoīdus saturošas barības piedevas, pienā palielinās taukos šķīstošo antioksidatīvo savienojumu (retinola, tokoferolu un β-karotīna) saturs. Tas ir atkarīgs no izēdināto barības piedevu veida, uzņemto antioksidantu kopējā daudzuma, izēdināšanas ilguma, piena izslaukuma un citu faktoru izmaiņām.
4. Lielāks karotinoīdu un E vitamīna saturs barībā sekmē to koncentrācijas palielināšanos sviesta eļļā, tomēr to ietekmē arī piena tauku saturs un citi faktori. Izteikta antioksidantu satura palielināšanās sviesta eļļā novērota ganību sezonā ($p < 0,05$).

5. Palielinoties ar barību uzņemtajam antioksidantu daudzumam, būtiski ($p < 0,05$) palielinās polinepiesātināto taukskābju, īpaši linolēnskābes, saturs piena taukos un samazinās trombogēnais veselības ietekmes indekss. Abu rādītāju korelācija ar uzņemto β -karotīna un kopējo karotīnu daudzumu ir vidēji cieša. Izteiktas šo rādītāju izmaiņas novērotas ganību sezonā iegūtam pienam.
6. Sviesta eļļā palielinoties vieglāk oksidējamo polinepiesātināto taukskābju koncentrācijai, palielinās tās oksidējamība; ja antioksidantu saturs nav pietiekams, sviesta eļļas lipīdu stabilitāte var samazināties.
7. Būtiski augstāka ($p < 0,05$), salīdzinot ar kontroles paraugu, lipīdu stabilitāte noteikta gaismā (3h) un $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūrā uzglabātai sviesta eļļai, kas iegūta, slaucamām govīm izēdinot burkānus un sarkanās palmu eļļas Carotino CAF 100 piedevu.
8. Sakarība starp sviesta eļļā esošo antioksidantu koncentrāciju un tās dzeltenās krāsas intensitāti ir pozitīva ($p < 0,05$); lineārā sakarība ar α -tokoferola saturu ir cieša, bet ar β -karotīna saturu – vāja, kas liecina par blakus faktoru ietekmi. Cieša un pozitīva korelācija novērota starp piena dzeltenās krāsas intensitāti un tauku saturu ($p < 0,05$).
9. Darbā izvirzītā hipotēze: piena lipīdu sastāvu un stabilitāti ietekmē karotinoīdus saturošu piedevu pievienošana slaucamo govju barībai, ir apstiprinājies.

Ieteikumi piena ražotājiem

1. Lai nodrošinātu dzīvnieku veselību un iegūtā piena augstu kvalitāti, ieteicama slaucamo govju barības papildināšana ar karotinoīdus saturošām barības piedevām. Tā rekomendējama intensīvās piena lopkopības saimniecībās, kā arī izēdinot karotinoīdiem nabadzīgu barību (sienu, graudus saturošu koncentrēto spēkbarību, kukurūzas skābbarību), sevišķi kūstures un govju cietstāves perioda beigās, laktācijas perioda sākumā un govīm, kurām biežāk novērota saslimšana ar mastītu, reproduktīvajām un citām slimībām. Ieteicama ar barību uzņemtā karotinoīdu daudzuma un tā līmeņa govju asinīs regulāra novērošana.
2. No pētījumā vērtētām piedevām ražotājiem var būt īpaši ieteiktas divas: burkāni (5–20 kg govij dienā) un sarkanās palmu eļļas produkts Carotino CAF 100 (300–500 g govij dienā). Burkāni ir vietējas izcelsmes produkts; tajos esošo šķīstošo cukuru un citu sastāvdaļu klātbūtne labvēlīgi ietekmē govju gremošanas procesus, uzlabojot spurekļa darbību un palielinot piena sekrēciju. To trūkums – dažādā kvalitāte pavasara mēnešos un darbietilpīgais sagatavošanas process. Sarkanās palmu eļļas piedeva CAF 100 ir bagāta ar augstu karotinoīdu un E vitamīna saturu; dzīvnieku barībā tā kalpo arī kā enerģijas avots; tās uzglabāšana un izēdināšana ir salīdzinoši vienkārša. Abu piedevu izmaksas pētījumā izēdinātajām devām ir līdzīgas.
3. Lai samazinātu oksidācijas procesus piena ieguvē un pārstrādē, ieteicams pēc iespējas izvairīties no mehāniskās iedarbības un piesārņojuma ar metālu joniem, kā arī īpaši svarīgi piena produktu kvalitātes un uzturvērtības saglabāšanā ir izvairīties no gaismas ietekmes, izvēloties atbilstošas slaukšanas, uzglabāšanas un pārstrādes iekārtas un iepakojamos materiālus.

TOPICALITY OF THE RESEARCH

Milk and dairy products contain many lipid compounds with high nutritional value, which also include carotenoids, vitamins E and A. However, observations show that due to the increasing intensification of milk production their content in milk decreases. Fluctuations in their concentration that are related to season, animal health, lactation period and feed quality are often observed. The content of carotenoids and other antioxidants in milk decreases mostly at the end of the indoor period when concentration of antioxidants in the feed decreases due to prolonged storage. This phenomenon influences not only the nutritional value of milk as raw material, but also the maintenance of biologically active substances during the production and storage of dairy products. Phospholipids, unsaturated fatty acids, vitamins, their provitamins and other components are the most unstable. Because of the oxidative and lypolytical degradation of these compounds the unfavourable changes in the nutritional value, sensorial (aroma, flavour, colour) and other properties of dairy products are occurring; concentration of various unhealthy and hazardous compounds is increasing as well.

Lipid stability can be improved by decreasing oxidative and lipolytical processes that recently have been widely investigated by many scientists all over the world; however, there are no numerous studies of milk and dairy products. The oxidative stability of milk is influenced by many factors. It has been observed that oxidative stability of milk and dairy products decreases in spring. The production of milk with elevated content of polyunsaturated fatty acids is increasing. There are many researches on possibilities to increase the content of conjugated linoleic acid (CLA) - biologically active substance that is important for health - in milk fat. The changed fatty acid composition decreases the oxidative stability of milk lipids. Prevention of unsaturated fatty acid and other lipid oxidation significantly increases the storage time of products containing milk fat (milk, cream, butter, dry milk and other). The oxidation can be hindered by optimizing technological processes and conditions of milk collection, processing and storage, as well as by improving initial quality and chemical composition of the raw milk - factors closely related to animal welfare (feed, housing conditions and health). In the world there are several studies investigating whether antioxidant content in cow feed can be increased not only by supplementing it with synthetic but also with natural feed additives; however, the results vary rather greatly. Moreover there are few researches on the influence of carotenoids on cow milk lipid stability and on possibilities to enrich the cow feed with carotenoid additives; besides, the results obtained are contradictory.

Due to the fact that many of the problems related to the oxidation are aggravating during the winter and spring season, it is worth to give attention to the improvement of lipid stability during this period. The antioxidative potential and nutritional value of milk and dairy products can be developed by increasing the natural antioxidant and fat-soluble vitamin concentrations in milk and dairy products, because apart from the lipid compounds also many other compounds can be protected against oxidation. One of the possibilities to increase the natural antioxidant content in milk as raw material is the supplementation of animal feed. There are a lot of natural products (carrots, red palm oil etc.), which are potential

source for the supplementation of dairy cow feed and may be used to increase its antioxidative potential. Despite the crucial role of carotenoids in the strengthening of dairy cow immunity and improvement of milk quality, rather little attention is given to the studies on their transition to the milk. As the influence of carotenoids in cow fodder on the oxidative stability of milk has not been fully explored, it would be valuable to undertake more comprehensive and detailed study on the cow feed supplementation with carotenoid additives, their influence on milk composition, quality and antioxidative potential.

Hypothesis of the promotion work – the composition and stability of milk lipids is influenced by the supplementation of dairy cow feed with carotenoid additives.

The **research object** of the doctoral thesis is milk that was obtained in conventional farms from dairy cow groupings fed differently and the butteroil extracted from this milk.

The **aim** of the promotion work is – finding out possibilities for improving cow milk lipid stability by increasing the carotenoid content in fodder.

The following **tasks** have been set to achieve the aim:

1. to evaluate the changes in chemical composition and colour of milk by increasing the carotenoid content in cow fodder;
2. to compare the influence of cow fodder carotenoid additives on the oxidative stability of milk lipids;
3. to evaluate the influence of antioxidants on the oxidative stability of butter oil;
4. to give recommendations for the milk producers about advisable cow feed supplements with an aim to improve the milk nutritional value and lipid stability.

The **novelty** and **scientific significance** of the paper

1. The influence of the dairy cow feed carotenoid additives on changes of the milk yield, content of fat, protein, lactose, β -carotene, and vitamins A, E, C in milk was analyzed.
2. The colour intensity of milk and butter oil in relation to the antioxidant amount in cow feed was investigated.
3. Changes of milk fatty acid composition in relation to the carotene amount ingested by dairy cows with feed were researched.
4. The influence of feed supplementation with carotenoid additives on the oxidative stability of milk lipids was analyzed.
5. The influence of feed supplementation with carotenoid additives on the oxidative stability of butter oil under various light and temperature conditions was analyzed.
6. Methods for the determination of fatty acid and vitamin (A, E vitamin and carotenoid) content in milk and butter oil were approbated.

The importance of the research for the national **economy**.

The acquired results may serve as an incentive for the milk producers to draw attention to the composition of cow fodder, its carotenoid and vitamin E content; moreover, it is recommended to supplement fodder with natural antioxidants,

particularly at the end of the indoor period, thus improving animal health and the quantity and nutritional value of the milk.

APPROBATION OF THE SCIENTIFIC WORK

The results of the research work **have been presented** in 18 international scientific conferences and congresses in Latvia, Estonia, Lithuania, Poland, Germany, Sweden, Norway, Turkey, and France, and the International food exhibition “Riga Food 2012”.

Research results are summarized and published in six reviewed scientific publications (the list of attended conferences and publications see on pages 6 – 8).

MATERIALS AND METHODS

Time and place of the research

Doctoral thesis has been developed from September 2009 till January 2013 at the scientific laboratory of Biochemistry and Microbiology of the Agency of the Latvia University of Agriculture (LLU) „Research institute of Biotechnology and Veterinary Medicine “Sīgra””; at the Department of Food Technology of the LLU – in the Laboratory of Milk and Meat Product Technology, and in the Packaging Material’s Attributes Research laboratory; at the Department of the Faculty of Material Science and Applied Chemistry of the Riga Technical University – in the Research Laboratory for Fuel Quality Control; at the joint-stock company „Breeding and Artificial Insemination station of Sigulda” – in the Laboratory of Milk Quality Control. The experiments on feeding dairy cows with carotenoid supplements were performed at dairy farms “Strautiņi” (03.2010.–05.2010) and “Dzilnas” (03.2011.–06.2011; 03.2012.–06.2012) in Sigulda region.

Materials used in research

The research object is milk that was obtained in conventional farms from dairy cow groupings fed differently and the butteroil extracted from this milk.

Three separate experiments were conducted; they covered formation of one or more experimental cow groups, feed of which was supplemented by carotenoid additives, and arrangement of one control group, cow feed in which was not supplemented. The groupings consisted only of healthy cows yielding milk containing less than 400 000 in mL^{-1} somatic cells. Cow groups were formed as similar as possible, taking into account cow breed, lactation month and number, content of milk fat and proteins as well as yield. All cows within the framework of each experiment received the same basic feed. Feed additives used in the experiment were all available in Latvia and had different carotenoid content, type of preparation and storage – **carrots**, rapeseed oil, red palm oil feed additive **Carotino CAF 100** (Carotino SDN. BHD, J.C. Chang Group, Malaizia), red palm oil **Carotino NVRSO** and red palm oil carotenoid concentrate **Carotino CC-05** that was solubilised in rapeseed oil (5% solution). The quantity of basic and additional feed, characterization thereof, as well as amount of carotenoids and α -tocopherol ingested are presented in the Table 1. Milk samples in each experiment were taken

repeatedly. The research aimed at evaluating effect of feed supplementation on quality and composition of milk and butter oil as well as lipid stability.

Sample collection and preparation for analyses

Experiment covered analyses of various samples: milk and butter oil extracted from it. The schemes for sample preparation and researches performed are given in Fig. 2 and 3. Sampling of milk was made in accordance with the standard LVS EN ISO 707:2011 (ISO 707:2008). Physical and chemical analyses were started immediately after the samples were delivered to the laboratory. The pooled samples of groups for content and lipid stability examination were obtained by pouring together equal quantities of milk from individual cows.

Preparation of milk samples for reasearch of lipid oxidative stability. Samples of unpasteurized milk were poured in sealable 500 mL glass vials, closed and stored in refrigerator at 4–6 °C temperature for 6 days.

Extraction of butter oil and preparation thereof for investigations of lipid oxidative stability. After milk was delivered to the laboratory, butter oil was extracted from it according to the scheme presented in the Fig. 4. The intensification of butter oil sample oxidation was performed as follows:

- within the **Experiment II**, butter oil samples were stored in dark (4–6 °C, 3 h) or in sunlight (20±1 °C, 3 h); samples for further studies were stored at temperature of 60 °C for 25 days;
- within the **Experiment III**, butter oil samples with an aim to intensify oxidation process were stored in fluorescent light (Angelantoni EkoChil climatic chamber with daylight illumination 1500P-IW 7560±20 Lux) at 40±1 °C temperature for 48 h; afterwards samples were stored in thermostat at 60 °C temperature for 25 days.

The measurements of peroxide and acid values for samples stored in dark were taken several times within 25-day period, while for samples stored in light – within 14-day (Exp. II) or 25-day (Exp. III) period. The length of induction period was calculated basing on the tangent method (Zlatkevich, 2002).

The analytical methods used in the research are summarised in Table 2. The content of different fatty acids (FA) was calculated according to formulas 1-6. Health indices of FA were calculated in compliance with the formulas 7-8, developed by Ulbricht and Southgate (1991). Within the framework of the Exp. III the total carotene content in cow blood plasma was determined with the help of the spectrophotometric method (Лабораторные исследования в ветеринарии, 1971). Samples were taken one day before and 6 weeks after the start of feed supplementation.

Statistical data processing of the acquired results was carried out by using programs MS Excel and SPSS 17. Data were presented as mean ± standard deviation (SD) or standard error of means. Differences in the data were studied by using one-factor analysis of variance (ANOVA). The hypotheses suggested were tested by using confidence interval and p-value methods; factors were recognized as significant if p-value was < $\alpha_{0,05}$. Results were interpreted assuming that $\alpha = 0,05$,

with 95% confidence, if not indicated otherwise. Mutual correlations among various characteristics were observed with the help of correlation and regression analyses (Arhipova, Bălița, 2003).

RESULTS AND DISCUSSION

1. Milk composition and quality

1.1. Assimilation of β -carotene, vitamins A, E and C in cow's body and milk

Judgement about the influence of different carotenoid additives on vitamin content in milk was based on the evaluation of changes thereof in the milk samples acquired within the Exp. I. ***β -carotene (BC) content in milk*** before feed supplementation, during it and one week after supplementation are shown in Fig. 5. The initial content of BC in bulk milk samples yielded from four cow groups differed significantly ($p < 0,05$). During the supplementation period (6 weeks long), BC content in milk of EG I-1 and KG I decreased notably, in milk of EG I-2 – it almost did not change, while in milk of EG I-3 it raised considerably ($p < 0,05$), as compared with BC content before experiment. The average content of BC during the experiment between groups did not differ radically. The initial difference in BC content and its changes in milk may be explained by several causes.

1. Lower initial BC content in milk yielded by groups EG I-2 and EG I-3 and the explicit decrease ($p < 0,05$) thereof in milk produced by groups KG I and EG I-1 may be related to the individual characteristics of animals and consumption of BC for different needs in body (synthesis of vitamin A, its accumulation, or immunity functions).
2. Decrease in the BC content in milk of groups KG I, EG I-1 and EG I-2 may be caused by the changes in cow lactation period.
3. BC content stagnation in milk of groups EG I-1 and EG I-2, when comparing values during feed supplementation and before it, may be explained by other scientist observations related to the fact that transition of carotenoids from feed to milk is relatively low.
4. The effect of feed supplementation is not immediate. It may be observed only in a longer period of time; moreover, experiment involved also black-and-white cows, carotenoid passage to milk of which is less distinct, as compared to the red breed cows.

After the experiment, significant rise in the BC content was recorded in milk of group EG I-3 ($p < 0,05$), it did not change notably in milk of group KG I, considerable decrease was observed in milk of EG I-1 ($p < 0,05$), while insignificant reduction was found in milk of EG I-2 group, that may be explained by the reasons above. BC is one of the most erratic compounds in milk. Content thereof may depend upon many and various factors – composition and quality of feed, feeding regimen, lactation period, milk fat content, cow breed and health status, as well as type of supplement and presence of fats in it.

Exp. III covered comparison of total carotene content in blood plasma of animals before and after 6-week feed supplementation with carrots (Fig. 6). Before use of additives, average carotenoid level in blood of both group animals was below

the recommended ($3,0 \mu\text{g mL}^{-1}$) (Friesecke, 1978). During the observation period, more dramatic increase in the average carotene content was recorded in blood of animals from the experimental group – 2,6 times, while in control group the rise comprised only 1,7 times. It is a serious factor influencing not only health of cows, but also quality of milk.

Changes in vitamin A (retinol) content in milk samples acquired within the **Exp. I** are presented in the Fig. 7. The initial concentration of vitamin A in milk yielded from 4 cow groups differed significantly ($p < 0,05$): during the supplementation period, its content in milk of group KG I decreased notably ($p < 0,05$), whereas in milk of groups EG I-1, EG I-2 and EG I-3 it almost did not change, as compared to the content thereof before the experiment. Reduction in A vitamin content in milk of KG I may be explained by the changes in cow lactation period, similarly as it was with the BC. As the lactation progresses, retinol content may increase or decrease depending on the cow provision with carotenoids. Drop in concentration thereof in milk of KG I may be related to the possible shortage of carotenoids. Analysis of milk yielded from other groups indicated stabile retinol content, and that likely is due to the supplementation of feed with carotenoid additives in experimental groups. Comparison of the retinol concentration among groups shows that it did not differ significantly; however a general trend was observed – the average level of vitamin A in milk of groups KG I and EG I-1 was lower than in other groups. After the end of the feed supplementation, concentration of retinol raised significantly only in milk of EG I-1 ($p < 0,05$). Considering that concentration of BC in milk yielded from this group decreased extensively ($p < 0,05$), if compared to the content thereof before the experiment, it may be concluded that it was used for the synthesis of retinol.

Changes in vitamin E content in milk samples acquired within the Experiment I are shown in the Fig. 8. Initial concentration of vitamin E in milk acquired from 4 cow groups varied considerably. Its content was lower in milk produced by cows in groups EG I-2 and EG I-3. Similar tendency was observed also in respect to the BC content in milk. The differences may be explained by the individual features of the animals and its utilization for the body necessities.

During the experiment, the concentration of vitamin E in milk of KG I diminished, but in milk yielded from groups EG I-1, EG I-2 and EG I-3 it grew notably ($p < 0,05$). The vitamin E decrease in milk of KG I may be caused by changes in lactation period and alteration in basic feed composition (its antioxidant content) taking place during the indoor period. Vitamin E content increase in milk of group EG I-2 may be explained by the feed supplementation with palm oil, as it contains not only carotenoids, but also vitamin E. This group indicated the highest amount of vitamin E ingested by feed. However, also milk produced by cows in groups EG I-1 and EG I-3 (that ingested less α -tocopherol) indicated a rise ($p < 0,05$) in the vitamin E content. Thus, transition of vitamin E to milk is influenced by the total amount of antioxidants ingested by feed. The higher this amount, the more vitamin E can be used for the synthesis of milk.

Changes in content of fat-soluble antioxidants – β -carotene and α -tocopherol in butter oil samples acquired within the Experiment III are presented in Fig. 9.

During the indoor period, average content of BC in the butter oil samples of KG III and EG III did not differ significantly. Average content of α -tocopherol was significantly higher in samples of EG III ($p < 0,05$). In comparison with the indoor period, the content of antioxidants during the grazing season (7 weeks after its beginning or end of the food supplementation) grew considerably ($p < 0,05$).

Changes in vitamin C content in milk samples acquired within the **Exp. I** are shown in Fig. 10. Initial concentration of vitamin C in milk yielded from 4 cow groups differed notably ($p < 0,05$). During the feed supplementation, content thereof in control group milk did not change; increased significantly ($p < 0,05$) in milk produced by groups EG I-1 and EG I-2, but in EG I-3 – it rose insignificantly. Growth in the concentration of vitamin C may be related to the fact that ingestion of additional antioxidants reduces the amount of vitamin C utilized by body, and greater amount of it can be secreted into the milk.

It can be concluded that supplementation of feed with carrots and red palm oil additives develops the antioxidative potential of milk – the concentration of fat-soluble vitamins (A, E, BC) as well as water-soluble vitamin C increases. However, it may be influenced also by the efficiency of additive-contained antioxidant assimilation, fluctuations in milk yield and fat content as well as other factors.

1.2. Milk fat, protein, lactose content and yield

The summary of indicators characterising milk fat and protein content as well as milk yield is given in the Table 3. Comparison of the average parameters before feed supplementation and during it does not indicate significant changes in any of the groups. The influence of carotenoid addition to food varied among the experiments. Evaluation of the influence of antioxidant amount ingested by feed on milk fat and protein content was based on the regression analysis (see Fig. 11 and 12). There was a weak, still significant, correlation between the fat content in milk and total carotene and BC content ingested by feed ($r = 0,45$ in both cases; $p < 0,05$). Thus, fat content in milk tends to increase ($p < 0,05$) when the amount of antioxidants ingested by feed is also growing. The correlation between the total carotene and BC content ingested by feed and the milk protein content also is weak ($r = 0,41; 0,40$; $p < 0,05$); however the linear trend is positive ($p < 0,05$). Carotenoid supplements fed to the cows may have facilitated rise in the fat and protein content in milk also as an additional energy source, because fodder roots and oil may be used to increase the energetic value of feed.

1.3. Milk fatty acid composition

The FA composition influences nutritional value and physical characteristics of milk fat as well as its durability against oxidation. With an aim to forecast possible influence of fats or oils on health, the ratios of certain FA and health indices were calculated. The decrease of IA and IT indices, in ratio between $\omega 6$ and $\omega 3$ FA, as well as increase in ratio between stearic / palmitic acids (C18:0 / C16:0) and oleic / stearic acids (C18:1c / C18:0) are desirable (Simopoulos, 2008; Chillard et al., 2000). The doctoral thesis covered evaluation of the changes in FA composition and health indices, by comparing indicators before and during the feed supplementation. In

Exp. III also the influence of indoor and grazing season was compared. Feeding of cows with **carrots and rapeseed oil** within the **Exp. I** (Fig. 13) resulted in higher content of stearic, oleic and linolenic acids ($p < 0,05$), as compared to the control group; the content of short FA and MUFA increased insignificantly, while decrease in the palmitic acid content was more distinct ($p < 0,05$). This favoured the changes of indices IA and IT. Stearic / palmitic acid ratio rose notably ($p < 0,05$).

Feeding of cows with the **red palm oil (NVRSO)** indicated positive trends regarding the decrease in lauric and myristic acid content and increase in oleic, linolenic and MUFA contents, and as a result reduction of indices IA and IT was more explicit than when feeding animals with carrots. Also the ratio between oleic and stearic acids rose, while PUFA content diminished more greatly, as compared to the control group. The influence of the fodder supplementation with **red palm oil concentrate CC-05 solution in rapeseed oil** differed – the content of PUFA decreased considerably ($p < 0,05$), whereas the values of indices IA and IT grew insignificantly. The ratios between oleic and stearic acids and between stearic and palmitic acids dropped slightly, still the latest decrease was less explicit than in control group, and that may be assessed as a positive trend.

In comparison with the control group, positive changes in respect to the most FA were clearer also in the **Exp. II**, within which cows were fed with carrots and red palm oil feed supplement CAF 100 (see Fig. 14). Changes in FA content observed within the **Exp. III** are given in the Fig. 15.

All 3 experiments indicated that supplementation of feed by carrots favors the improvement of ratio between ω_6 / ω_3 acids. However, the influence on other changes in FA composition and health indices was not the same. Very positive effect on the changes of IA and IT indices or ratio between stearic / palmitic acids was observed when supplementing feed with carrots having higher content of carotenoids (Exp. I and II). Feeding of cows with carrots together with rapeseed oil (EG I-1) resulted in more notable decrease in the palmitic acid content, as compared to the fodder supplementation only with rapeseed oil (KG I) or carrots (EG II-1).

Assessment of the **red palm oil** supplement (NVRSO and CAF 100) influence on milk FA composition indicated that in general it is positive. MUFA content rose more notably, as compared to one observed when feeding animals with carrots ($p < 0,05$); whereas the value of IA index decreased. Supplementation of fodder with both palm oil additives caused increase in the content of *cis* and *trans* isomers of C18:1 acid in milk fat, and as a result a positive trend in respect to the changes in ratio between oleic and palmitic acid was observed. It did not leave major influence on the content of palmitic acid in milk fat – the changes in both experimental and control groups were similar. However, in comparison with carrots, the influence of feed supplementation with palm oil caused smaller effect on the changes in PUFA content and ratio between stearic / palmitic acids.

Experiment III revealed strong positive changes in milk FA composition during the grazing season – the content of heptadecanoic acid (C17:0), MUFA and PUFA, especially ω_3 FA, as well as ratio between stearic / palmitic acids increased significantly ($p < 0,05$), while the content of palmitic acid, indices IA and IT, as well as ω_6 / ω_3 FA ratio reduced notably. Thus, the nutritional value of milk fat during the grazing season is increasing.

Correlation analysis indicated that there is a linear, medium strong ($r = 0,64$, $r = 0,71$, $p < 0,05$) and positive correlation ($p < 0,05$) between the milk fat PUFA content and the amount of total carotenes and BC ingested by feed (see Fig. 16). Thus, as the amount of carotenes ingested by feed grows, the PUFA content in milk fat rises. However, due to increasing amount of polyunsaturated fatty acids such fat can be oxidized more easily, therefore it is important they contain sufficient quantity of natural antioxidants.

It was also observed that by ingesting higher amount of total carotenes, the **ratio between $\omega 6$ / $\omega 3$ FA** reduces; nevertheless, despite the significant linear tendency ($p < 0,05$), the correlation is weak ($r = -0,44$; $p < 0,05$). It can be influenced by the type of feed supplements – the greatest influence on reduction of this correlation was observed when supplementing feed with carrots.

The correlation trend between the carotene content ingested by feed and FA **thrombogenic index** (IT) is linear, significant ($p < 0,05$) and medium close ($r = -0,51$ with total carotene and $-0,54$ with the amount of BC; $p < 0,05$) (see Fig. 17). Thus by ingesting higher amount of carotene, the value of milk fat IT decreases, and that is favourable from the nutritional value point of view. However, it may also be influenced by other components present in feed additives.

1.4. Analysis of milk and butter oil colour intensity

Carotenoids as yellow, red and orange pigments are influencing colour of many food products. The research covered study of milk and butter oil yellow colour intensity (YCI) depending on the supplementation of cow fodder with carotenoids. Its changes **in milk during the Exp. II** are presented in the Fig. 18. Before the feed supplementation, the YCI of milk differed significantly among the groups ($p < 0,05$). It may be explained with the individual characteristics of cows (ability to absorb carotene and its secretion into milk) and differences in milk fat content. During the experiment, the most distinct reduction of YCI was observed in milk produced by the control group. The initial decrease in experimental groups may be explained by the fact that the effect of feed supplementation is not immediate; it is related to the formation of carotenoid reserves and their utilization in cow's body. Although the amount of supplements containing carotenoids was not increased, they hindered the decrease of YCI in milk yielded by the experimental groups. YCI in milk samples acquired during the grazing season increased significantly in the milk produced by all groups.

The changes of the milk YCI during Exp. III are presented in Fig. 19. The YCI increased in samples of both groups (till week 5). The changes in samples of control group can be explained with the increase of carotenoid content in basic feed. During grazing season YCI increased in the milk of both groups. Analysing the closeness of the relationship between the amount of antioxidants (total carotenes and BC) ingested by feed and the milk YCI, it can be seen (Fig. 20) that there is a close linear and positive correlation ($r = 0,84, 0,81$; $p < 0,05$).

Previous studies show that milk fat content rises along with the higher carotene content ingested by feed; therefore research covered investigation of the assumption that more intense colour of milk is influenced by the fat content in it. It was

observed that between these parameters there is close ($r = 0,83$, $p < 0,05$) and positive ($p < 0,05$) linear correlation.

Changes in the butter oil YCI during the Exp. III are presented in the Fig. 21. During the feed supplementation, yellow colour of milk samples acquired from the EG III was more intense than one of milk yielded by the control group. During the pasture, the YCI of butter oil produced from both group milk increased significantly, similarly to the milk samples. Analysis of the correlation between the YCI of butter oil and amount of antioxidants (total carotenes and BC) ingested by feed showed linear, positive and medium close correlation ($r = 0,74$ and $0,73$; $p < 0,05$). Assessment of the relationship between BC concentration in butter oil and intensity of its yellow colour resulted in a positive ($p < 0,05$) and linear correlation, still it was weak ($r = 0,49$; $p < 0,05$), that indicates an influence of confounding factors. At the same time, determination coefficient of nonlinear polynomial function is high ($R^2 = 0,79$). Correlation between α -tocopherol content in butter oil and YCI is close ($r = 0,83$; $p < 0,05$), linear and positive.

2. Investigations of milk lipid stability

2.1. Oxidative stability of lipids in milk

Changes in total content of milk carbonyl compounds in the **Exp. I** (duration of feed supplementation – 3 weeks) are shown in the Fig. 22. Comparison of the results obtained at the beginning and end of milk storage period (1st and 6th day) indicates that they were insignificant in all group samples. Thus, it is possible that during this period oxidation process in milk does not take place (content of antioxidants is sufficient) or the method is not sensitive enough. Research of the **polyunsaturated fatty acid (PUFA) stability** led to the conclusion that there were no major changes in the total PUFA content, when storing milk for 5 days, at 4-6 °C temperature and in dark. For further research it was decided to intensify oxidation processes and to investigate lipid stability of butter oil extracted from the milk.

2.2. The assessment of butter oil stability in relation to the type of carotenoid supplements fed to cows

Changes of peroxide value. The oxidative stability of butter oil samples acquired within the **Exp. II** (after 3-week feed supplementation) and stored in dark for 3h and at 60 ± 1 °C temperature was relatively high – during 25 days only induction period was observed (i.e., oxygen consumption is low and amount of antioxidants is sufficient and free radicals are only starting to develop). Oxidative changes in light-affected (3h) samples were faster (see Fig. 23).

Results regarding the duration of sample induction periods and PUFA content are summarised in the Table 4. Oxidative stability of butter oil samples produced by both experimental groups (**3 weeks**) was significantly higher ($p < 0,05$), as compared to the stability of control group's oil. The reason behind this may be supplementation of fodder with carotenoid additives in experimental groups. The highest stability was established for the butter oil samples yielded from EG II-2. This may be explained by the high carotenoid, α -tocopherol and lycopene content in

the feed additive and possibly better absorption of fat soluble antioxidants in cow body, as compared to carrots.

Changes in oxidative stability were similar to the trend observed after **5-week** feed supplementation, however slightly different – the stability of EG II-2 oil was notably higher ($p < 0,05$), while stability of EG II-1 oil was insignificantly higher than one of the oil produced by KG II. At the same time, PUFA content in the oil produced by both experimental groups was insignificantly higher. Higher PUFA content indicates greater susceptibility to oxidation, still oxidative stability of these groups was higher as compared to control group; thus it can be concluded that feed supplementation with both additives had positive influence on the oxidative stability of lipids.

Evaluation of butter oil sample oxidative stability with the help of Rancimat method was performed within the Exp. II for butter oil samples acquired after 3-week feed supplementation. Results are presented in the Fig. 24. The average induction period for samples stored in dark was $12,59 \pm 0,29$ h, and it was significantly higher ($p < 0,05$) as one of the samples stored in light, i.e., $2,60 \pm 0,19$ h. Results show that light notably affects the speed of oxidation processes. Oxidative stability of samples stored in both light and dark and yielded by experimental groups was not considerably higher, if compared to the control group. It may be explained by the fact that oxidation-promoting environment used in this method was much stronger, and under such conditions carotenoids could lose their resistance due to high temperatures ($110\text{ }^{\circ}\text{C}$) and presence of oxygen.

Evaluation of butter oil oxidative stability with the help of acid value method. Changes of the acid value indicate alterations in the concentration of free FA and other acids in oil. This may be expected during the formation of tertiary oxidation products, when secondary oxidation products are decomposing and short chain acids are forming (Gunstone, 1996). Within the framework of the Exp. II, changes of acid value were studied after 3- and 5-week feed supplementation period in the butter oil stored at $60 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. The acquired results were similar in both sampling times. Although the initial acid values in dark-stored samples acquired from 3 groups differed, none of the groups indicated major changes during the 25-day storage. Thus we may conclude that oxidative or hydrolytic processes in dark-stored samples almost did not take place. When changes in the primary oxidation products during this time period are analyzed with the help of the acid value method, only induction period was observed. Changes of the acid value of light-affected samples acquired after 5-week food supplementation are presented in the Fig. 25.

Only minor changes were observed during 25-day period ($p < 0,05$). The most likely acid value in butter oil rose as tertiary oxidation products, instead as products of hydrolytic decomposition – the most explicit increase was recorded in KG II oil, as compared to the oil of EG II-1 and EG II-2. The trend was similar to the changes in primary oxidation products. Generally it may be concluded that lipids of both experimental groups were more stable than ones of control group. Differences in oxidative stability of light- and dark-stored samples indicates the immense role of

light on the oxidative processes, that has to be averted in order to retain the quality of milk products as high as possible.

The **Exp. III** aimed at studying correlation between the primary and tertiary oxidation products (see Fig. 26). Longer induction period and smaller increase of the acid value are indicators of better oxidative stability of the oil. Value of the correlation coefficient $r = -0,70$ ($p < 0,05$) allows concluding that there is a medium close and negative linear coherence ($p < 0,05$) between the length of the induction period of the butter oil and the increase of the acid value. As the correlation between these parameters is strong enough, hereafter emphasis will be put mainly on one of them – length of butter oil induction period, representing faster oxidative changes in product.

2.3. Influence of the antioxidant amount ingested by feed on butter oil lipid stability

In order to assess the extent to which the amount of carotene ingested by feed affects the oxidative stability of butter oil, the **Exp. III** covered regression analysis of parameters indicating oxidative stability of butter oil and the amount of antioxidants ingested by feed. Analysis of the data obtained during indoor and outdoor periods shows that there is no linear relationship between the length of the induction period and β -carotene content of butter oil. Non-linear coherence is closer; however it is not statistically significant. Correlation during the indoor period was also researched (see Fig. 27). The linear trend ($p < 0,05$) is negative, and correlation between the length of oil induction period and amount of β -carotene ingested by feed is medium close ($r = -0,61$, $p < 0,05$), nevertheless the coherence with the total amount of carotenes ingested by fodder is not significant. The linear relationship between the increase of the acid value and the amount of total carotenes or β -carotene ingested by feed during the indoor period is significant ($p < 0,05$) and close ($r = 0,81$ and $r = 0,80$, respectively; $p < 0,05$). The non-linear (polynomial) coherence between these parameters is also close, if analyzing data obtained during both periods ($p < 0,05$).

An attempt was made to find an explanation – why butter oil induction period decreases as the amount of β -carotene ingested by feed is growing. Analysis of the relationship between β -carotene content of butter oil and amount of β -carotene ingested by feed ($r = -0,73$, $p < 0,05$) indicates a similar negative trend during the indoor period – as the amount of β -carotene ingested by feed increases, the β -carotene content of butter oil is declining (see Fig. 28). Thus, one of the reasons for reduction in oxidative stability during the indoor period in the **Exp. III** could be the drop in the β -carotene content in butter oil. This is understandable, since β -carotene has antioxidant properties and its diminish gives adverse effect on the oxidative stability. These changes could be explained by the changes in milk fat content. It has been mentioned that there is weak ($r = 0,45$) while significant trend related to the fact that, as higher amount of carotene is ingested, the fat content in milk is growing. Thus, due to the increase in β -carotene content in fodder or because of the fact that additives containing carotenoids are supplying other valuable feed ingredients serving as an additional source of energy, the cow-synthesized fat are growing. If cow is producing more fat, β -carotene levels may not to rise

proportionally (so-called "dilution" effect). Similar conclusions were made also by other researchers highlighting that nowadays along with the intensification of genetics and dairy sector milk yield and fat content thereof is increasing, and the antioxidant content of milk is reducing. In addition, not all amount of β -carotene ingested by feed is transmitted to the butter oil; it can also be used for synthesis of vitamin A (retinol) and other needs of a cow. Another reason behind the deterioration of oxidative stability could be higher content of polyunsaturated fatty acids (PUFA) in butter oil, as the quantity of carotenoid supplements ingested by fodder is rising.

Thus, during the Exp. III, the decrease in the butter oil oxidative stability was observed due to the increase in the amount of β -carotene ingested by feed, because 1) concentration of β -carotene in butter oil decreased, that may be explained by the increase in milk fat, and 2) the content of polyunsaturated fatty acids that most sensitive to oxidation rose. Comparison of the results acquired within the Exp. II and Exp. III showed that they differ, because the effect of feed supplementation in Exp. II on the oxidative stability of butter oil was more positive. It could have been affected, e.g., by the type and antioxidant content of feed additives, different initial provision of cows with antioxidants, or by effects of light used in studies of oxidative stability.

2.4. Dependence of butter oil lipid stability upon to its antioxidant content

The correlation between the oxidative stability of butter oil and its antioxidant content was analyzed. The linear trend established was not statistically significant ($p \geq 0,05$), whereas the non-linear polynomial trend is significant ($p < 0,05$) (see Fig. 29). Thus length of the butter oil induction is also influenced by other factors. When lower concentration of β -carotene in oil is increasing, the duration of induction period (oxidative stability) is growing. Along with the higher concentration of β -carotene in oil, the induction period varies more considerably, that may be explained by possible alterations in antioxidant properties of β -carotene, or even prooxidative performance enhancement under certain circumstances.

In respect to the correlation between content of **α -tocopherol** in butter oil and its oxidative stability, characterized by the length of the induction period or increase of the acid value, the verification of hypotheses in regression analysis shows that there is no linear or polynomial relationship between the indicators. Results of the research may be explained by the varying activity of different antioxidants under oxidation-promoting conditions used within the study. Exposition of butter oil to fluorescent light and elevated temperature (60 ± 1 °C) will lead to stronger antioxidant effect of β -carotene, as compared to α -tocopherol. It is known that β -carotene fulfils crucial role in the prevention of photooxidative reactions, moreover this role may be more major than that of α -tocopherol, and antioxidant activity of β -carotene is higher with low oxygen concentrations.

CONCLUSIONS

1. By feeding carotenoid supplements to dairy cows, a particular tendency was observed – milk fat and protein content increases; correlation is weak, still statistically significant ($p < 0,05$).
2. Carrot supplementation promoted the increase of carotene content in cow blood – the influence was significant ($p < 0,05$) and more pronounced, as compared to changes in control group.
3. When feeding cows with the additives containing carotenoids, the concentration of fat-soluble antioxidants in milk (retinol, tocopherols and β -carotene) is increasing. This phenomenon depends on the type of supplements fed, total amount of antioxidants ingested by feed, duration of supplementation, milk yield and changes in other factors.
4. Higher content of carotenoids and vitamin E in feed facilitates higher concentration thereof in butter oil; nevertheless it also is affected by the milk fat content etc. factors. Marked increase in the antioxidant content in butter oil was observed during the outdoor season (pasture) ($p < 0,05$).
5. Along with higher amount of antioxidants ingested by feed, following significant changes ($p < 0,05$) were observed: rise in the content of polyunsaturated fatty acid, especially linolenic acid, in milk fat, and reduction of health thrombogenic index. Correlation between the two above indices and intake of β -carotene and total carotenoids amount is medium close. Very explicit changes of these indices were observed in milk yielded during the grazing season.
6. As concentration of butter oil polyunsaturated fatty acids more vulnerable to oxidation is growing, also oxidizability thereof rises; moreover, if the antioxidant content is not sufficient, the stability of butter oil lipids may reduce.
7. Significantly higher ($p < 0,05$) lipid stability, as compared to the control group samples, was found in butter oil stored in light (3h) and at 60 °C temperature, obtained from dairy cows fed with carrots and red palm oil additive Carotino CAF 100.
8. Correlation between antioxidant concentration in butter oil and intensity of its yellow colour is positive ($p < 0,05$); linear correlation with the α -tocopherol content is close, but with the β -carotene content – weak, and that indicates the influence of confounding factors. Strong and positive correlation was observed between milk yellow colour intensity and the fat content ($p < 0,05$).
9. Hypothesis of the promotion work – the composition and stability of milk lipids both are influenced by the supplementation of dairy cow feed with carotenoid additives – has been confirmed.

Suggestions for milk producers

1. In order to maintain good health of animals and ensure high quality of milk, farms engaged in intensive milk production are recommended to add carotenoid supplements to the dairy cow feed, moreover it is advisable also in situations when carotenoid content in feed is low, e.g., if main fodder is based on hay, concentrates containing grain products or corn silage. The feed supplementation is advisable also during the most critical periods of milk production – at the end of the indoor and cow dry period, at the beginning of the cow lactation period, as well for cows often being ill with mastitis, reproductive system illnesses, etc. diseases prophylaxis of which require carotenoids and vitamin A. Amount of carotenoids ingested by feed and level thereof in cow blood should be observed on regular basis.
2. Out of the supplements evaluated within the framework of the research two may be suggested to the producers: carrots (5–20 kg per cow per day) and red palm oil product CAF 100 (300–500 g per cow per day). Advantages of carrot supplements – product is locally-grown; soluble sugars and other components contained by carrots positively influence cow digestion processes, by improving the rumen function and increasing milk secretion. The benefits gained when using red palm oil are the high contents of carotenoids and vitamin E. Oil additives in fodder also are a source of energy. Nevertheless a disadvantage in the use of carrots lies in their varying quality during the spring months and labour-consuming preparation process, whereas storage and feeding of the additive CAF 100 is relatively simple. Costs of both supplements in respect to their dosages researched within the study are similar.
3. Oxidation process in milk production and processing may be hindered by avoiding from mechanical influence and presence of metal ions; moreover, in order to preserve dairy product quality and nutritional value, it is highly important to avoid from the influence of light, by choosing appropriate milking, storage and processing equipment as well as packaging materials.