

Laboratorní analýzy mastných kyselin FTIR technikou (Řešení projektu NAZV KUS QJ1510336 (FAMAS))

3.-4.11.2016 Hustopeče
Ing. Zdeňka Klímová, MVDr. Petr Urban
ČMSCH, a.s.



Možnosti stanovení mastných kyselin v mléčném tuku

- plynová chromatografie - přímá metoda
 - finanční náročnost
 - nemožnost rutinního využití v KU
- FTIR - nepřímá metoda
 - IR spektroskopie
 - vhodná pro rutinní analýzy v KU
 - 2 přístroje LRM Brno a 1 LRM Buštěhrad



Sledované MK

- SFA – nasycené mastné kyseliny
- UFA – nenasycené mastné kyseliny
- TFA – trans isomery nenasycených MK -BUŠ
- PUFA – polynenasycené MK
- MUFA – mononenasycené MK



Ostatní MK

- palmitová - C16:0
- stearová - C18:0
- olejová - C18:1
- LCFA – MK s dlouhým řetězcem - BUŠ
- MCFA – MK se středním řetězcem - BUŠ
- SCFA – MK s krátkým řetězcem - BUŠ



Porovnání stanovení vybraných MK chromatograficky a FTIR

- Zastoupení zdravotně významných mastných kyselin mléčného tuku v bazénových vzorcích mléka dojnic (Mlékařské listy č.151)
- celkově vyšší množství (55 - 75 %) SFA zajišťuje lepší stabilitu mléčného tuku a následně mléčných výrobků, z hlediska výživy je méně akceptovatelné
- příjem SFA z celkového energetického příjmu by měl být pod 10 % (20 g), PUFA 7 - 10 %, příjem TFA by měl být co nejnižší a neměl by překročit 1 % (cca 2,5 g/den)



Pokus

- 13 chovů H, 35-530 dojnic
- dojivost 7.650-11.190kg
- krmení TMR
- leden až březen 2015
- 33 bazénových vzorků



Tab. 3 Základní statistické charakteristiky zastoupení vybraných skupin mastných kyselin (MK) při stanovení plynovou chromatografií (GC) a infračervenou spektroskopií přepočtené na shodné jednotky s GC (MIR)

	GC g/100 g všech MK			MIR g/100 g všech MK			r_{xy} ($p < 0,001$)	R^2 (%)
	$\bar{x}$	s_x	$v\%$	$\bar{x}$	s_x	$v\%$		
SFA	67,65	2,76	4,08	72,77	3,77	5,18	0,7094	50,3
UFA	28,80	2,90	10,08	27,53	2,52	9,16	0,9389	88,2
TFA	2,10	0,53	25,29	2,12	0,74	34,90	0,5897	34,8
PUFA	3,22	0,63	19,67	4,76	2,95	62,03	0,5931	35,2

$\bar{x}$ = aritmetický průměr; s_x = směrodatná odchylka; $v\%$ = variační koeficient = $(s_x/\bar{x}) \cdot 100$;

r_{xy} = validační koeficient korelace; R^2 = koeficient determinace = $(r_{xy})^2$;

SFA = nasycené MK se sudým a lichým počtem uhlíků; UFA = nenasyčené MK; TFA = trans isomery nenasyčených MK;

PUFA = polynenasycené MK včetně konjugované kyseliny linolové



Závěr

Validované vztahy mezi výsledky ekonomicky efektivní nepřímé metody infračervené spektroskopie (MIR) a nákladnější referenční plynové chromatografie (GC) při určení profilu MK mléčného tuku, které vykazují různou, avšak zpravidla akceptovatelnou těsnost závislosti pro vybrané strukturální a funkční skupiny MK ukazují, že informace získané prostřednictvím MIR mohou být využity jako hlavní nebo doplňkové ukazatele při cílené selekci syrového mléka.

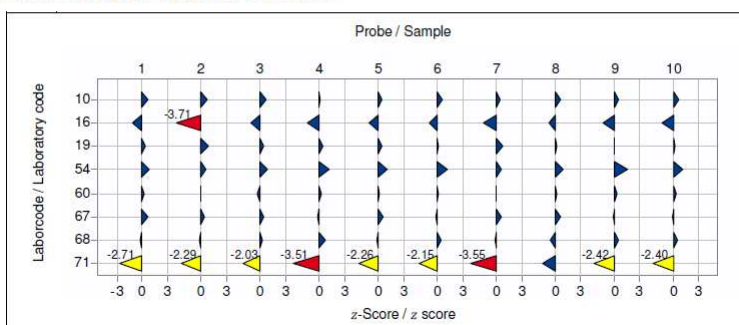


Kruhový test QSE – 4/2016

QSE Multi-PT April 2016 – Ergebnisbericht / QSE Multi-PT April 2016 – Report of results
Ergebnisse / Results

Ungesättigte Fettsäuren / Unsaturated Fatty Acids - z-Score-Übersicht / Overview of z scores

z-Score-Übersicht / Overview of z scores



Kruhový test QSE – 4/2016

Parameter: Unsaturated Fatty Acids

Sample	z score	z' score
1	-0.23	-0.21
2	-0.24	-0.22
3	0.26	0.23
4	0.70	0.62
5	-0.18	-0.16
6	0.54	0.49
7	-0.12	-0.11
8	-0.50	-0.45
9	0.57	0.52
10	0.50	0.47

$|z'| \leq 2$...satisfactory laboratory result; $2 < |z'| < 3$...questionable laboratory result; $|z'| \geq 3$...unsatisfactory laboratory result



Kruhový test QSE – 4/2016

Parameter: Unsaturated Fatty Acids

Method	Sample	z score	z' score	Method	Sample	z score	z' score
IR / Bentley FTS + FCM (3)	1	-2.71	-2.55	IR / Bentley FTS + FCM (9)	1	-2.29	-2.15
	2	-2.29	-2.09		2	-2.00	-1.83
	3	-2.03	-1.84		3	-1.54	-1.39
	4	-3.51	-3.15		4	-2.53	-2.26
	5	-2.26	-2.03		5	-1.74	-1.57
	6	-2.15	-1.96		6	-1.95	-1.78
	7	-3.55	-3.18		7	-2.51	-2.25
	8	-1.50	-1.36		8	-1.38	-1.24
	9	-2.42	-2.23		9	-2.31	-2.13
	10	-2.40	-2.25		10	-1.57	-1.47

$|z'| \leq 2$...satisfactory laboratory result; $2 < |z'| < 3$...questionable laboratory result; $|z'| \geq 3$...unsatisfactory laboratory result

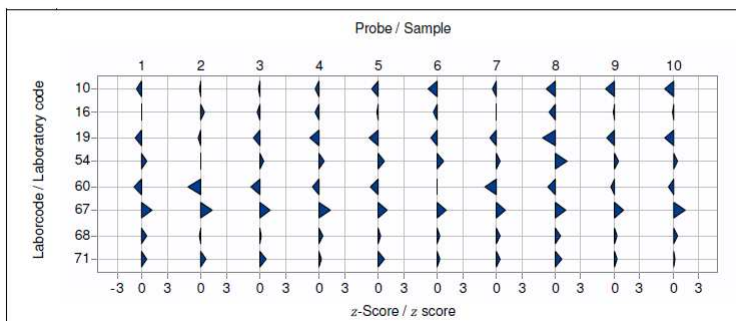
Kruhový test QSE – 4/2016

QSE Multi-PT April 2016 – Ergebnisbericht / QSE Multi-PT April 2016 – Report of results

Ergebnisse / Results

Gesättigte Fettsäuren / Saturated Fatty Acids - z-Score-Übersicht / Overview of z scores

z-Score-Übersicht / Overview of z scores



Kruhový test QSE – 4/2016

Parameter: Saturated Fatty Acids

Sample	z score	z' score
1	0.48	0.42
2	-0.18	-0.17
3	0.17	0.15
4	0.43	0.39
5	0.33	0.30
6	0.34	0.31
7	0.48	0.44
8	0.65	0.57
9	0.41	0.36
10	0.55	0.51

$|z(*)| \leq 2$...satisfactory laboratory result; $2 < |z(*)| < 3$...questionable laboratory result; $|z(*)| \geq 3$...unsatisfactory laboratory result

Kruhový test QSE – 4/2016

Parameter: Saturated Fatty Acids

Method	Sample	z score	z' score	Method	Sample	z score	z' score
IR / Bentley FTS + FCM (3)	1	0.53	0.47	IR / Bentley FTS + FCM (9)	1	0.37	0.33
	2	0.51	0.48		2	-0.24	-0.22
	3	0.72	0.66		3	0.31	0.28
	4	0.29	0.27		4	-0.31	-0.29
	5	0.81	0.74		5	0.20	0.19
	6	0.24	0.22		6	0.21	0.19
	7	0.48	0.44		7	-0.28	-0.25
	8	0.72	0.63		8	0.57	0.50
	9	0.32	0.29		9	-0.03	-0.03
	10	0.20	0.18		10	0.04	0.04

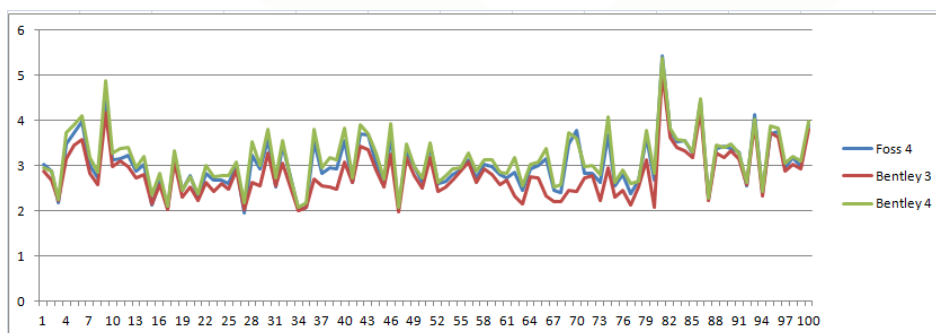
$|z(*)| \leq 2$...satisfactory laboratory result; $2 < |z(*)| < 3$...questionable laboratory result; $|z(*)| \geq 3$...unsatisfactory laboratory result

Interní porovnání přístrojů 03/2016

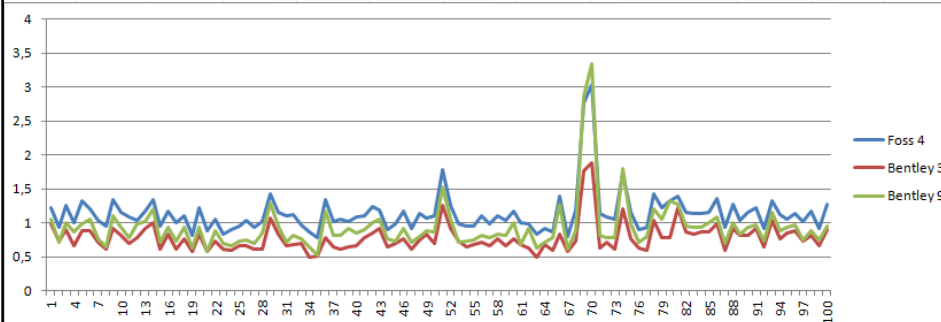
- 3 shodné sady 100 individuálních vzorků mléka
- 3/2016
- Měřeno na 1 přístroji v Buštěhradu
a na 2 přístrojích v Brně (ve stejnou dobu)



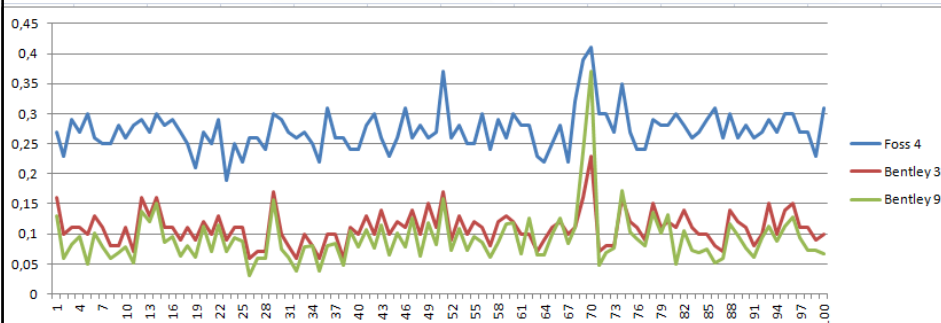
SFA



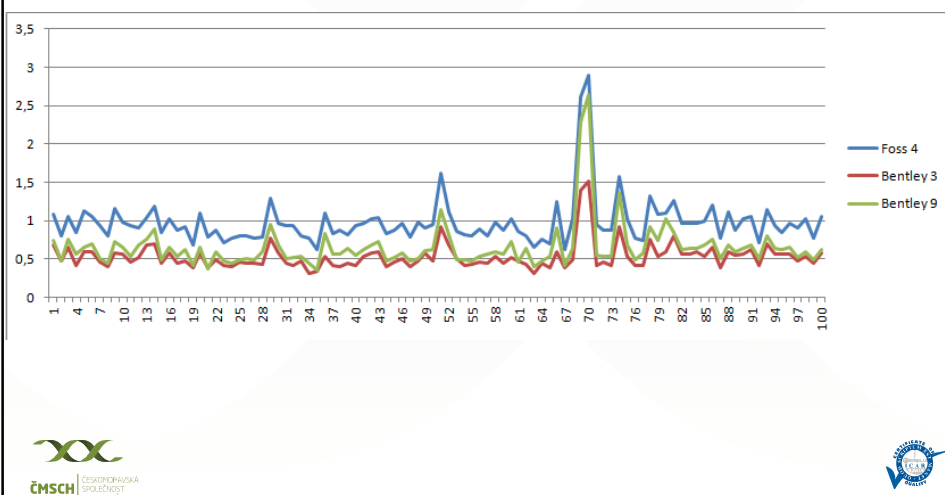
MUFA



PUFA



C18:1 kyselina olejová



Možnost ovlivnění zastoupení MK v mléčném tuku

Certifikovaná metodika QH 81210 CM 23 -
název:

Doporučené postupy pro rozvoj chovu dojníc
s cílem produkovat mléko jako potravinovou
surovinu s vyšším zastoupením zdravotně
prospěšných mastných kyselin mléčného tuku

Co ovlivňuje zastoupení MK?

- vliv zvířete, kam patří především vliv plemene, pořadí laktace a užitkovost
- vliv životního prostředí, reprezentovaný především vlivem sezóny, způsobem chovu dojníc, managementem stáda nebo frekvencí dojení
- vliv výživy, z nichž největší pozornost byla věnována především vzájemnému poměru objemných a jadrných krmiv, různým druhům ruminálně chráněných nebo nechráněných tukových doplňků popř. různě technologicky upraveným olejninám



Vliv plemene a užitkovosti

Tab. 2 Průměrné hodnoty (v %) a variabilita složení mléčného tuku podle plemene a mléčné užitkovosti.

Profil MK	CF %	H %	CF-H sign.	CF Lo %	CF Hi %	Lo-Hi sign.	H Lo %	H Hi %	Lo-Hi sign.
	x±sd	x±sd		x±sd	x±sd		x±sd	x±sd	
SAFA	63,97±4,13	65,80±4,97	ns	62,57±5,43	65,37±1,25	ns	64,39±3,54	67,21±5,85	ns
MUFA	30,06±3,45	28,62±4,71	ns	31,10±4,39	29,02±1,73	ns	29,81±2,96	27,42±5,87	ns
PUFA	4,56±1,10	4,25±0,82	ns	4,99±1,30	4,12±0,63	*	4,50±0,64	4,00±0,92	ns
USFA	34,62±4,26	32,87±4,66	ns	36,10±5,38	33,14±1,96	ns	34,31±3,16	31,42±5,51	ns
CLA	0,80±0,56	0,55±0,24	*	1,14±0,62	0,46±0,14	***	0,72±0,22	0,39±0,13	***
laurová	3,44±0,92	3,19±0,83	ns	2,94±0,78	3,93±0,77	**	2,87±0,89	3,52±0,63	*
myristová	11,33±1,88	10,92±1,29	ns	10,48±1,86	12,18±1,53	*	10,66±1,10	11,18±1,45	ns
palmitová	29,98±2,62	33,06±4,10	***	30,08±3,16	29,88±2,04	ns	31,96±3,76	34,16±4,24	ns
stearová	6,76±3,58	6,84±3,71	ns	6,99±3,56	6,54±3,71	ns	7,29±3,63	6,40±3,86	ns
myristolejová	0,84±0,16	0,90±0,15	ns	0,81±0,17	0,88±0,16	ns	0,86±0,15	0,95±0,15	ns
olejová	26,15±3,46	24,50±4,97	ns	27,12±4,38	25,18±1,89	ns	25,87±3,11	23,13±6,12	ns
palmitolejová	1,76±0,23	1,91±0,34	*	1,83±0,25	1,70±0,21	ns	1,79±0,28	2,03±0,35	*
linolová	2,14±0,44	2,44±0,53	*	1,95±0,41	2,32±0,39	*	2,42±0,45	2,45±0,62	ns

(Statistická významnost = sign.: ns = $P > 0,05$; * = $P \leq 0,05$; ** = $P \leq 0,01$; *** = $P \leq 0,001$. CF = české strakaté; H = holštýn; Hi = vysoká mléčná užitkovost; Lo = nízká mléčná užitkovost; x = aritmetický průměr; sd = směrodatná odchylka)



Vliv období a oblasti

Tab. 5 Zastoupení CLA a vybraných skupin mastných kyselin (% ze všech zjištěných mastných kyselin) v mléčném tuku bazénových vzorků syrového kravského mléka během stájového (zimního) a pastevního (letního) období.

	jihozápadní Čechy (n=30)				severozápadní Morava (n=32)				P	
	Zimní		Letní		Zimní		Letní		oblast	sezóna
	$\bar{x}$	s_x	$\bar{x}$	s_x	$\bar{x}$	s_x	$\bar{x}$	s_x		
CLA	0,8 ^a	0,3	1,1 ^b	0,3	0,8 ^a	0,4	1,1 ^b	0,6	0,9719	0,0044
SAFA ²	64,8 ^a	4,3	59,8 ^b	3,0	64,7 ^a	4,4	59,9 ^b	4,2	0,9832	0,0000
UFA	31,9 ^a	4,3	36,5 ^b	3,1	32,2 ^a	3,6	37,1 ^b	3,9	0,7156	0,0000
MUFA	27,4 ^a	4,1	31,4 ^b	2,8	27,9 ^a	3,0	32,3 ^b	3,1	0,4867	0,0000
PUFA	4,5 ^a	0,5	5,1 ^b	0,4	4,3 ^a	0,7	4,8 ^b	1,2	0,1847	0,0084
<C16	24,5 ^{ab}	2,6	22,4 ^a	2,9	26,4 ^b	4,5	24,4 ^{ab}	3,0	0,0316	0,0206
C16	32,0 ^a	4,2	27,2 ^b	1,8	34,1 ^a	2,9	32,1 ^a	4,0	0,0005	0,0009
>C16	37,9 ^a	5,5	43,1 ^b	3,2	38,1 ^a	6,0	42,3 ^b	5,0	0,8311	0,0005

$\bar{x}$ = aritmetický průměr; s_x = směrodatná odchylka; p = hladina statistické významnosti;

^{a, b} = odlišné indexy v řádce značí statistickou významnost na příslušné hladině p;

CLA = konjugovaná linolová kyselina; SAFA = nasycené mastné kyseliny; UFA =

nenasycené mastné kyseliny; MUFA = mononenasycené mastné kyseliny; PUFA =

polynenasycené mastné kyseliny; <C16 = mastné kyseliny s počtem uhlíků do 15; C16 =

mastné kyseliny s počtem uhlíků nad 16; >C16 = mastné kyseliny s počtem uhlíků nad 16.



ČMSCH
ČESKOPOLSKÁ
SPOLČNOST
MLÉČNÍKŮ



Složení krmné dávky

Tab. 7 Obsahy některých mastných kyselin, jejich skupin (% všech mastných kyselin) a poměrů v mléčném tuku dojníc v závislosti na složení krmné dávky.

	16:0	18:0	9c-18:1	18:2n-6	18:3n-3	CLA	cis-MUFA	n-6/n-3	S/U
Siláž vs. pastva									
Siláž – jeteloviny	27,6	9,9	17,6	1,69	0,95	0,51	19,7	1,95	2,49
Siláž – kukuřičná	33,2	7,0	16,7	1,92	0,39	0,45	18,9	6,21	3,03
Pastva	25,0	9,6	19,7	1,04	0,75	1,30	21,1	1,69	2,36
Přídavek doplňkových tuků (DT) u konzervovaných krmiv									
Siláž bez DT	31,6	9,2	16,9	1,50	0,55	0,49	18,9	3,30	2,79
Siláž s příd. DT	28,1	11,3	21,1	2,34	0,50	0,96	22,4	4,19	2,12
Přídavek doplňkových tuků (DT) při využití pastvy									
Pastva bez DT	25,0	9,6	19,7	1,04	0,75	1,30	21,1	1,69	2,36
Pastva s příd. DT	23,9	12,1	23,5	1,54	0,70	1,42	25,8	2,26	1,18

* upraveno: Samková (2011)

16:0 = kyselina palmitová; 18:0 = kyselina stearová; 9c-18:1 = kyselina olejová; 18:2n-6 = kyselina linolová; 18:3n-3 = kyselina alfa-linolenová; CLA (9c,11t-18:2) = konjugovaná kyselina linolová; cis-MUFA = cis-isomery mononenasycených mastných kyselin (Σ9c-14:1, 9c-16:1 a 9c-18:1); n-6/n-3 = poměr polynenasycených mastných kyselin řady n-6 a n-3; S/U = poměr mezi nasycenými a nenasycenými mastnými kyselinami.



ČMSCH
ČESKOPOLSKÁ
SPOLČNOST
MLÉČNÍKŮ



Vliv ročního období a systému chovu

Tab. 8 Obsahy některých mastných kyselin, jejich skupin (% všech mastných kyselin) a poměrů v mléčném tuku dojníc v závislosti na ročním období/systému chovu.

	CLA	SFA	MUFA	PUFA	S/U
Celoroční zkrmování konzervovaných krmiv					
Zimní období	0,4	69,5	25,1	2,9	2,48
Letní období	0,3	69,0	25,7	2,7	2,42
Pastva v letním období – vliv ročního období					
Zimní období	0,8	64,8	27,7	4,4	2,02
Letní období	1,1	59,8	31,9	4,9	1,62
Systém chovu (konvenční vs. ekologický)					
Konvenční	0,6	68,2	64,7	4,4	2,19
Ekologický	0,9	68,3	59,9	4,9	2,17

† upraveno: Samková et al. (2010), Samková et al. (2011 a), Samková (2011)

CLA (9c,11t-18:2) = konjugovaná kyselina linolová; SFA = nasycené mastné kyseliny;

MUFA = mononenasycené mastné kyseliny; ; PUFA = polynenasycené mastné

kyseliny; S/U=poměr mezi nasycenými a nenasycenými mastnými kyselinami.

Děkuji za pozornost

