



Kwasy Tłuszczowe w Łańcuchu Żywności

PRACA ZBIOROWA

pod redakcją Roberta Bodkowskiego, Damiana Knechta i Katarzyny Czyż

Wrocław, 2018



UNIwersytet
PRZYRODNICZY
WE WROCŁAWIU



**DOLNY
ŚLĄSK**

PATRONAT HONOROWY MARSZAŁKA WOJEWÓDZTWA
DOLNOŚLĄSKIEGO Cezarego PRZYBYLSKIEGO

Kwasy tłuszczowe w łańcuchu żywności

Praca zbiorowa pod redakcją

Roberta Bodkowskiego, Damiana Knechta i Katarzyny Czyż

Fundacja Lumina Cordis

Wrocław, 2018

Projekt współfinansowany ze środków Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego (KNOW)
na lata 2014 - 2018 dla Wrocławskiego Centrum Biotechnologii



Krajowy Naukowy
Ośrodek Wiodący

Przewodniczący komitetu redakcyjnego:

Dr hab. Robert Bodkowski

Recenzenci:

dr hab. Robert Bodkowski, dr n. med. Ewa Sokoła-Wysoczańska, dr inż. Anna Jankowska-Mąkosza, dr inż. Anna Zielak-Steciwko, dr inż. Katarzyna Czyż

Projekt okładki:

Daniel Czyż

Wydawca:

Fundacja Lumina Cordis



Fundacja Lumina Cordis

Objętość: 9,47 arkusza wydawniczego

ISBN 978-83-951124-0-9

Spis treści:

Teresa Banaszekiewicz, Karol Kaszperuk: Wykorzystanie olejów roślinnych do produkcji mięsa drobiowego o właściwościach funkcjonalnych	5
Paulina Cholewińska, Anna Wyrostek, Robert Bodkowski, Katarzyna Czyż, Bożena Patkowska – Sokoła, Damian Konkol, Piotr Nowakowski: Effect of birth type on fat content and fatty acid profile in Merino ewes milk	16
Karolina Dolatowska-Żebrowska, Ewa Ostrowska-Ligęza, Magdalena Wirkowska-Wojdyła, Joanna Bryś: The composition of fatty acids in different types of chocolate	27
Maria Drzewicka, Izabela Uchrońska, Halina Grajeta: Skład kwasów tłuszczowych w skiełkowanych nasionach wybranych gatunków roślin	38
Agnieszka Góra, Joanna Szlinder-Richert: Kwasy tłuszczowe wśród ryb	50
Robert Kupczyński, Antoni Szumny, Kinga Śpitalniak-Bajerska: Nieparzyste i rozgałęzione kwasy tłuszczowe (OBCFA) – występowanie i znaczenie dla człowieka i zwierząt	71
Władysław Migdał, Jarosław Nowak, Ewelina Węsierska, Marzena Zająć, Maria Walczycka, Joanna Tkaczewska, Piotr Kulawik, Łukasz Migdał, Henryk Pustkowiak: Modyfikowanie profilu kwasów tłuszczowych – za i przeciw	88
Władysław Migdał, Jarosław Nowak, Ewelina Węsierska, Marzena Zająć, Maria Walczycka, Joanna Tkaczewska, Piotr Kulawik, Łukasz Migdał, Henryk Pustkowiak: Profil kwasów tłuszczowych mięsa zwierząt ras rodzimych	105
Paulina Misiukiewicz, Agata Fabiszewska: Olej mikrobiologiczny – biochemiczne aspekty syntezy i kierunki jego wykorzystania w przemyśle oleochemicznym	114
Tomasz Półbrat: Naturalne antyoksydanty oraz ich wpływ na peroksydację lipidów - praca przeglądowa	126
Kamil Sierżant: Livestock's products as a potential source of n-3 fatty acids: the benefits and risks related to an enrichment of animal diet in polyunsaturated fatty acids and antioxidants	140
Anna Szuba-Trznadel, Tomasz Hikawczuk: Zastosowanie wybranych kwasów tłuszczowych w żywieniu prosiąt i warchlaków	160
Bogumiła Urbańska, Dorota Miarka, Jolanta Kowalska: Wpływ sposobu hodowli i rodzaju karmy na jakość i zawartość kwasów tłuszczowych w rybach hodowlanych i dziko poławianych na przykładzie łososa atlantyckiego (<i>Salmo Solar</i>)	174

Wykorzystanie olejów roślinnych do produkcji mięsa drobiowego o właściwościach funkcjonalnych

Teresa Banaszekiewicz, Karol Kaszperuk

*Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej, Instytut Bioinżynierii i Hodowli Zwierząt,
Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, Wydział Przyrodniczy*

Banaszekiewicz T: banaszt@uph.edu.pl

Streszczenie

Celem pracy była ocena dodania olejów roślinnych do mieszanek na wyniki produkcyjne, strawność składników pokarmowych oraz jakość mięsa drobiowego. W artykule zastosowano metodę opisową i przedstawiono wybrane dane pochodzące z literatury przedmiotu. Na podstawie analizy literatury autorzy wnioskuje, że natłuszczenie mieszanek dla kurcząt brojlerów olejami roślinnymi daje lepsze wyniki produkcyjne niż zwierzęcymi, co spowodowane jest między innymi lepszą strawnością tłuszczu. Poprzez wprowadzanie różnych olejów można zwiększyć zawartość długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, w tym zawierających wiązania sprzężone, w mięsie drobiowym i kształtować jego walory prozdrowotne, a wzbogacone mięso staje się źródłem tych kwasów w żywieniu człowieka. Wprowadzenie olejów do mieszanek pozwala uzyskiwać mięso zawierające dużą ilość kwasów wielonienasyconych, a to może mieć wpływ na utlenianie lipidów oraz jego jakość sensoryczną.

Słowa kluczowe: kurczęta brojlery, oleje roślinne, kwasy tłuszczowe, wyniki produkcyjne, strawność, jakość mięsa

Wstęp

W ostatnich latach, coraz częściej zwracana jest uwaga na właściwości funkcjonalne żywności, a więc pozytywnie oddziałujące na stan zdrowia. Takie właściwości mogą nadawać żywności substancje bioaktywne, do których zaliczane są między innymi niektóre kwasy tłuszczowe nienasycone. Kwasy te wykazują właściwości prozdrowotne i mogą być efektywne w prewencji wielu chorób przewlekłych.

Polska należy do wiodących producentów mięsa drobiowego w Europie. Wysoka produkcja mięsa drobiowego związana jest z wysokim potencjałem genetycznym kurcząt, ale żeby ją uzyskać muszą zostać pokryte bardzo wysokie potrzeby pokarmowe ptaków, dotyczące zarówno koncentracji energii, jak i składników pokarmowych. Wysoki poziom energii w mieszankach można uzyskać w wyniku wprowadzenia do nich tłuszczów. Do natłuszczenia można wykorzystywać zarówno tłuszcze pochodzenia roślinnego jak i zwierzęcego. Nie jest jednak obojętne jaki rodzaj tłuszczu jest wykorzystany do natłuszczenia mieszanek. Chociaż oleje roślinne i tłuszcze zwierzęce należą do tej samej grupy surowców to w różny sposób wpływają na wyniki odchowu kurcząt rzeźnych. Powodem różnicy jest odmienny skład kwasów tłuszczowych. Oleje roślinne w odróżnieniu od tłuszczów zwierzęcych składają się głównie z nienasyconych kwasów tłuszczowych, szczególnie z szeregu n-3 i n-6, które są lepiej wykorzystywane przez ptaki, szczególnie młode i dodatkowo charakteryzują się wielokierunkową aktywnością biologiczną.

Jednym ze sposobów wzbogacenia diety w niedoborowe kwasy tłuszczowe jest wzbogacenie w nie produktów pochodzenia zwierzęcego i otrzymywanie tzw. „żywności funkcjonalnej”. Takie postępowanie pozwala zapewnić ludziom komfort kulinarny bez zmiany ich przyzwyczajeń żywieniowych. Podejmowane są więc badania mające na celu zwiększanie zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, w tym zawierających wiązania sprzężone, w produktach pochodzenia zwierzęcego.

Wykorzystanie olejów roślinnych w produkcji mięsa drobiowego

Współczesne linie genetyczne brojlerów mają wysokie zapotrzebowanie na energię i składniki pokarmowe, dlatego pasza musi charakteryzować się ich wysoką koncentracją. Podstawowe surowce paszowe zawierają zbyt niską zawartość energii, stąd konieczność wprowadzania tłuszczów do mieszanek dla kurcząt brojlerów. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe są związkami fizjologicznie aktywnymi, więc oprócz dostarczania energii, pełnią również ważne funkcje biologiczne.

Do natłuszczenia pasz zazwyczaj używa się tłuszcze pochodzenia roślinnego, standaryzowane tłuszcze paszowe oraz tłuszcze zwierzęce. Do często stosowanych należy olej sojowy, słonecznikowy i lniany [Osek i in. 2005; Raju i in. 2005] oraz rzepakowy [Kowalska 2015]. Do olejów, na które zwraca się ostatnio coraz większą uwagę, należy olej z nasion winogron oraz z nasion granatu.

Wpływ olejów roślinnych na wyniki produkcyjne oraz strawność mieszanek

Zawarty w paszach tłuszcz wykorzystywany jest przez drób w różnym stopniu. Zależy to od zawartości w nim kwasów nasyconych i nienasyconych, rodzaju i zawartości pozostałych składników w mieszance oraz czynników takich jak wiek czy płeć ptaków [Jensen 1997]. Wyniki prowadzonych badań z wykorzystaniem różnych tłuszczów w żywieniu kurcząt brojlerów wykazały, że natłuszczenie pasz zazwyczaj zapewniało uzyskanie dobrych wyników produkcyjnych. Banaszek [2003] podaje, że natłuszczenie mieszanek dla kurcząt rzeźnych olejem rzepakowym, smalcem wieprzowym, standaryzowanymi preparatami tłuszczów paszowych (o różnej ilości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych) lub olejem sojowym poprawia przyrosty kurcząt oraz wykorzystanie paszy w porównaniu do żywionych mieszankami nienatłuszczonymi. Nie zawsze jednak natłuszczenie pasz wiąże się z poprawieniem wyników odchowu. Batkowska i Brodacki [2015] twierdzą, że jeżeli odchów indyków od dziewiątego tygodnia oparty jest o pasze gospodarskie to natłuszczenie mieszanek paszowych na pierwszy okres odchowu nie jest konieczne. Źródłem energii oraz korzystnych kwasów tłuszczowych w mieszankach dla drobiu mogą być różne tłuszcze roślinne i zwierzęce, jednak według Jelińskiej [2005] oraz Osek i in. [2005] lepsze efekty uzyskuje się przy natłuszczeniu pasz olejami roślinnymi. Potwierdzają to badania Azman i in. [2004], którzy uzyskali lepsze wyniki produkcyjne po dodaniu oleju sojowego, niż łoju wołowego do mieszanek. Uzyskiwanie lepszych wyników odchowu przy stosowaniu tłuszczów roślinnych, spowodowane jest między innymi strawnością tłuszczu. Banaszek [1996] stwierdziła, że dodanie oleju rzepakowego do mieszanki poprawiło wyniki produkcyjne kurcząt oraz strawność tłuszczu surowego, natomiast Nguyen i in. [2003] nie obserwowali istotnego wpływu zastąpienia części smalcu olejem rzepakowym lub lnianym na przyrosty masy ciała i wykorzystanie paszy przez kurczęta. W badaniach Chekani-Azar i in. [2010] oraz Hamilton [2002] obserwowano synergistyczne oddziaływanie kwasów nasyconych z tłuszczów zwierzęcych z kwasami nienasyconymi z olejów roślinnych, co pozwala na łączenie tłuszczów zwierzęcych z roślinnymi w mieszankach dla drobiu. Uzyskiwane wyniki produkcyjne kurcząt brojlerów zależą nie tylko od rodzaju dodanego oleju ale również od jego ilości. Spośród ocenianych olejów przez Osek i in. [2005] najkorzystniejszym okazał się olej rzepakowy i sojowy, Zelenka i in. [2006] stwierdzili, że dodanie 5 i 7% oleju lnianego skutkowało wyższymi przyrostami masy ciała i niższym spożyciem paszy na jednostkę przyrostu niż zastosowanie

1 i 3% tego oleju. Jak podaje Banaszekiewicz [2003] w odchowie kurcząt rzeźnych lepsze wyniki produkcyjne osiąga się w wyniku stosowania mieszaniny tłuszczów, niż wprowadzając je oddzielnie. Potwierdzają to badania przeprowadzone przez Świnarską [2013], która wykazała, że efekt natłuszczenia mieszanek mieszaniną oleju sojowego i lnianego (po 3%) był korzystniejszy, niż przy wprowadzaniu tych olejów pojedynczo i zależał jeszcze od rodzaju surowców zbożowych w mieszance. Również wyniki badań Osek i in. [2008] wskazują, że kurczęta rzeźne otrzymujące mieszanki pszenno-kukurydziano-sojowe zawierające mieszaninę oleju sojowego i lnianego w takim samym udziale (po 3%) i dodatek witaminy E charakteryzowały się najwyższą końcową masą ciała, natomiast Kartikasari i in. [2012] nie stwierdzili istotnej różnicy w masie ciała między ptakami grupy kontrolnej, gdzie stosowano wyłącznie olej z orzechów makadamii (2,5%), a pozostałymi, które otrzymywały mieszankę zawierającą mieszaninę oleju rzepakowego (2,25%) i lnianego (0,25%), lub mieszaninę oleju z orzechów makadamii (0,83%) i oleju lnianego

Mieszanki dla drobiu mogą być natłuszczone innymi olejami niż sojowy, rzepakowy, lniany czy słonecznikowy, jednak wyników badań, w których wykorzystywane były takie oleje w żywieniu kurcząt brojlerów, ich udziału w mieszankach czy wpływu na wyniki produkcyjne i jakość mięsa drobiowego jest niewiele. W ostatnim czasie zwraca się uwagę na wykorzystanie oleju z nasion granatu i winogron. Szymczyk i Szczurek [2016] oceniając wpływ zastosowania 0,5; 1,0 lub 1,5% oleju z nasion granatu w mieszankach, zamiast oleju rzepakowego na wyniki produkcyjne, wartość rzeźną oraz profil kwasów tłuszczowych mięśnia piersiowego kurcząt brojlerów nie stwierdzili istotnych różnic między grupami w masie ciała oraz przyrostach, natomiast kurczęta otrzymujące mieszanki z olejem z nasion granatu istotnie lepiej wykorzystywały paszę. Według Tekeli i in. [2014] dodanie 5, 10 i 15g oleju z nasion winogron do mieszanki zamiast oleju sojowego na wyniki produkcyjne nie wpłynęło na przyrost masy ciała kurcząt oraz spożycie paszy, natomiast wykorzystanie mieszanki w grupie otrzymującej 15g oleju z nasion winogron było korzystniejsze. Tłuszcze paszowe dodawane są do mieszanek również w celu wzbogacenia produktów drobiowych w związki biologicznie aktywne i uzyskania „żywności funkcjonalnej”. Produkty wzbogacone w takie związki stają się ich źródłem w żywieniu człowieka. Stosowanie olejów zawierających związki biologicznie czynne może stanowić jedną z dróg wprowadzania ich do produktów drobiowych.

Wpływ olejów roślinnych na jakość produktów drobiowych

Wiele badań prowadzonych w ostatnim czasie dotyczy stosowania tłuszczów w celu modyfikowania składu produktów pochodzenia zwierzęcego w kierunku ich prozdrowotnego oddziaływania. Natłuszczanie pasz ma na celu zwiększanie w produktach zwierzęcych długołańcuchowych, wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, w tym niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny n-3 i n-6. Jak podaje Fotina i in. [2013] poprzez dodatek odpowiedniego rodzaju tłuszczu można zwiększyć zawartość kwasów tłuszczowych wielonienasyconych w produktach i kształtować zdrowotne walory mięsa. Wzbogacone w takie składniki mięso staje się ich źródłem w żywieniu człowieka.

Skład kwasów tłuszczowych frakcji lipidowej produktów pochodzenia zwierzęcego (mięsa, jaj) zależy w znacznym stopniu od profilu kwasów tłuszczowych tłuszczu zawartego w paszy [Migdał i in. 2008]. Wprowadzanie olejów do mieszanek pozwala uzyskiwać produkty drobiowe zawierające dużą ilość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny n-3 i n-6 i w proporcjach zalecanych dla zdrowia konsumenta [Kralik i in. 2012]. Olej lniany jest bogaty w kwas α -linolenowy i poprzez jego zastosowanie w mieszankach można zwiększyć udział kwasów PUFA n-3 w mięsie kurcząt. Jego dodanie korzystnie wpływa także na stosunek kwasów n-6 do n-3. Według Kouba i Mourot [2011] uzupełnianie mieszanek dla drobiu mączką, siemieniem lnianym, bądź olejem lnianym jest dobrą metodą wzbogacenia mięsa w długołańcuchowe niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe z grupy n-3. Zastosowanie w mieszankach różnych tłuszczów może skutkować zmianą stosunku poszczególnych grup kwasów tłuszczowych w mięśniach kurcząt. Rodzaj zastosowanych olejów w mieszankach może jednak wpływać na jakość sensoryczną produktów. Zastosowane przez Osek i in. [2005] w mieszankach cztery różne oleje roślinne (sojowy, rzepakowy, słonecznikowy oraz lniany) różnicowały jakość sensoryczną mięśni piersiowych i udowych. Według Świnarskiej [2013] dodatek 3% oleju lnianego do mieszanki nie oddziaływał negatywnie na poszczególne wyróżniki smakowe mięsa kurcząt brojlerów, natomiast zwiększenie udziału tego oleju do 5% według Osek i in. [2005] w sposób istotny pogorszyło jakość sensoryczną mięsa. Na jakość mięsa może wpływać także ilość oraz okres stosowania olejów. Osek i in. [2013] stosując olej lniany i sojowy w ilości 3 lub 6% w mieszankach zawierających pszenicę, pszenżyto oraz poekstrakcyjną śrutę sojową stwierdzili, że dodanie tych olejów obniżyło istotnie ilość suchej masy oraz popiołu surowego w mięśniach udowych oraz istotnie różnicowało udział jedno-

i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, a także stosunek PUFA n-6 / n-3 w mięśniach piersiowych oraz udowych. Według Barbour i in. [2006] dodatek oleju sojowego korzystnie wpływa na umięśnienie i otłuszczenie kurcząt brojlerów oraz profil kwasów tłuszczowych w mięśniach, co jest pożądane przez konsumenta. Jankowski in. [2012] w wyniku skarmiania diety zawierającej olej sojowy, rzepakowy oraz lniany oraz różny stosunek kwasów PUFA n-6 / n-3 stwierdzili, że surowe mięśnie piersiowe indyków otrzymujących dodatek oleju rzepakowego w paszy odznaczały się znacznie wyższą zawartością trans-retinolu i α - tokoferolu, a otrzymujące paszę z dodatkiem oleju lnianego charakteryzowały się wyższą koncentracją kwasów PUFA, znacznie niższym stosunkiem PUFA n-6/n-3, ale wyższym wskaźnikiem TBARs. Autorzy twierdzą, że korzystnym zmianom w profilu kwasów tłuszczowych po wprowadzeniu oleju lnianego, towarzyszyć może wzrost podatności na utlenianie lipidów, a tym samym pogorszenie właściwości sensorycznych mięsa indyczego. Saleh i in. [2010] w celu zwiększenia udziału wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w mięsie drobiowym dodawali 1,5 ; 3,0 lub 6% oleju rybiego i stwierdzili, że wraz ze wzrostem udziału oleju rybiego w dawce, w mięśniach piersiowych i udowych wzrastała zawartość kwasu linolenowego, kwasu eikozapentaenowego (EPA) oraz dokozaheksaenowego (DHA). Kartikasari i in. [2012] analizowali efekty wprowadzenia do mieszanek dla kurcząt brojlerów olejów roślinnych (z orzechów makadamii, oleju lnianego i oleju rzepakowego) zawierających duży udział kwasu α -linolenowego na akumulację długołańcuchowych kwasów tłuszczowych w mięsie kurcząt brojlerów i stwierdzili, że u 28 dniowych kurcząt poziom takich niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych jak eikozapentaenowy, dokozapentaenowy i dokozaheksaenowy w mięsie wzrastał krzywoliniowo, podobnie jak zawartość kwasu α -linolenowego w mieszance, natomiast zawartość kwasu arachidonowego kształtowała się odwrotnie. Uzyskane wyniki wskazują na możliwość istotnego zwiększenia ilości tych kwasów w mięsie drobiowym bez potrzeby wprowadzania do mieszanki oleju rybiego.

W ostatnim czasie coraz więcej badań dotyczy wzbogacania mięsa w kwasy sprzężone CLA i CLnA [Czauderna i in. 2004]. Dobrym źródłem tych kwasów jest olej z nasion granatu. Szymczyk i Szczurek [2016] podają, że kurczęta karmione paszą zawierającą olej z nasion granatu odkładały znaczną ilość izomerów sprzężonego kwasu linolowego (CLA) w mięśniach piersiowych przy zachowaniu korzystnego profilu kwasów tłuszczowych. Po zastosowaniu 1,5% oleju z nasion granatu w mieszance wraz z olejem

Inianym w/w autorzy uzyskali zwiększenie udziału kwasów PUFA, spadek ilości kwasów MUFA oraz obniżenie stosunku kwasów n-6/n-3 w mięśni piersiowym ptaków. W innych badaniach Szymczyk i Szczurek [2014] stwierdzili, że dodanie oleju z nasion granatu wpływa na wzbogacenie mięsa kurcząt brojlerów w izomery CLA, nie pogarszając jego jakości. Ahmed i in. [2015] oceniali wpływ zastosowania 0,5; 1,0 oraz 2,0% produktu ubocznego z granatu (80% skórki i 20% nasion) w mieszankach na profil kwasów tłuszczowych oraz stabilność oksydacyjną mięsa brojlerów kurzych. Autorzy stwierdzili, że wzrastająca ilość produktów ubocznych z owoców granatu wpływa na zawartość białka, wody i cholesterolu oraz profil kwasów tłuszczowych zarówno w mięśniach piersiowych, jak i udowych, a także ogranicza stopień utleniania lipidów podczas ich przechowywania. Jak dotąd bardzo niewiele badań dotyczyło wpływu natłuszczenia mieszanek paszowych olejem z nasion winogron na wyniki produkcyjne i rzeźne kurcząt brojlerów. Według Czech i in. [2009] oraz Dani i in. [2007] badania takie mogą być celowe ze względu na to, że produkty pochodzące z owoców winorośli charakteryzują się znaczną zawartością składników bioaktywnych. Tekeli i in. [2014] przeprowadzili badania w których określali wpływ zastosowania oleju z nasion winogron w ilości 5; 10 i 15g na skład kwasów tłuszczowych mięsa kurcząt brojlerów. Olej z nasion winogron według tych autorów spowodował wzrost udziału w mięsie kurcząt brojlerów kwasów tłuszczowych o właściwościach prozdrowotnych, szczególnie w chorobach serca. Świadczy to o możliwościach wykorzystania oleju z nasion winogron do produkcji mięsa o właściwościach funkcjonalnych.

Podsumowanie

W dietach ludzi, szczególnie z krajów wysokorozwiniętych, obserwowany jest niedobór kwasów nienasyconych, głównie wielonienasyconych, co przy wzroście kwasów nasyconych zwiększa podatność na występowanie chorób dietozależnych. Zwiększenie udziału nienasyconych kwasów tłuszczowych, zwłaszcza wielonienasyconych, w tym zawierających układy wiązań sprzężonych, w codziennej diecie może nastąpić poprzez zwiększenie zawartości tych kwasów w spożywanych produktach (np. mięsie i jajach). Poprawienie profilu kwasów, a przez to wartości odżywczej produktów drobiowych można uzyskać dodając do pasz dla zwierząt tłuszcze, które są źródłem biologicznie aktywnych kwasów tłuszczowych. Tłuszcze stanowią jednocześnie źródło energii, witamin a także

wielu naturalnych antyoksydantów. Coraz wyższa świadomość zdrowotna i żywieniowa ludzi sprawia, że większa uwaga zwracana jest na spożywanie produktów naturalnie wzbogaconych w biologicznie aktywne substancje (w tym wielonienasycone kwasy tłuszczowe) pozytywnie wpływające na zdrowie i samopoczucie ludzi. Wśród producentów żywności oraz konsumentów rośnie więc świadomość potrzeby modyfikowania składu kwasów tłuszczowych produktów żywnościowych w kierunku ich prozdrowotnego oddziaływania.

Literatura

- Ahmed ST., Islam MM., Bostami AR., Mun HS., Kim YJ., Yang CJ. (2015). Meat composition, fatty acid profile and oxidative stability of meat from broilers supplemented with pomegranate (*Punicagranatum L.*) by-products. *Food Chemistry* 188, 481-488.
- Azman MA., Konar V., Seven PT. (2004). Effects of different dietary fat sources on growth performances and carcass fatty acid composition of broiler chickens. *Revue de Médecine Vétérinaire* 155(5), 278-286.
- Banaszkiewicz T. (1996). Wpływ nasion rzepaku podwójnie ulepszonych i oleju na wyniki odchowu i skład tłuszczu sadełkowego kurcząt brojlerów. *Rośliny Oleiste* 17(2), 493-500.
- Banaszkiewicz T. (2003). Wpływ natłuszczania pasz na wartość dietetyczną produktów pochodzenia zwierzęcego. *Postępy Nauk Rolniczych* 50(2), 91-108.
- Barbour GW., Farran MT., Usayran NN., Darwish AH., Uwayjan MG., Ashkarian VM. (2006). Effect of soybean oil supplementation to low metabolizable energy diets on production parameters of broiler chickens. *The Journal of Applied Poultry Research* 15(2), 190-197.
- Batkowska J., Brodacki A. (2015). Influence of feeding with non-greased feed mixtures during the first weeks of young slaughter turkeys' lives on their performance under subsequent extensive rearing conditions. *Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica* 14(3), 25-36.
- Chekani-Azar S., Hosseini-Mansoub N., Bahrami Y., Ahadi F., Lotfi A. (2010). Dietary fish oil improves performance and carcass characterizes of broilers immunized with sheep erythrocytes. *International of Journal Academy Research* 2(5), 94-99.

- Czauderna M., Kowalczyk J., Niedźwiedzka KM., Wąsowska I., Pastuszewska B. (2004). Conjugated linoleic acid (CLA) content and fatty acids composition of muscle in rats fed isomers of CLA and selenium. *Journal of Animal and Feed Sciences* 13(1), 183-196.
- Czech A., Malik A., Pitucha I., Woźnica A. (2009). Porównanie zawartości związków bioaktywnych w winach czerwonych pochodzących z różnych krajów europejskich. *Żywność Nauka Technologia Jakość* 65(4), 142-148.
- Dani C., Oliboni LS., Vanderlinde R., Bonatto D., Salvador M., Henriques J.A.P. (2007). Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically-or conventionally-produced grapes. *Food and Chemical Toxicology* 45(12), 2574-2580.
- Fotina AA., Fisinin VI., Surai PF. (2013). Recent developments in usage of natural antioxidants to improve chicken meat production and quality. *Bulgarian Journal Agricultural Science* 19, 889-896.
- Hamilton CR. (2002). Value of animal fats and recycled greases in animal feeds. Darling International Inc. Irving, TX, EEUU
- Jankowski J., Zduńczyk Z., Mikulski D., Juśkiewicz J., Naczmański J., Pomianowski JF., Zduńczyk P. (2012). Fatty acid profile, oxidative stability and sensory properties of breast meat from Turkey fed diets with a different n-6/n-3 PUFA ratio. *European Journal of Lipid Science and Technology* 114, 1025-1035.
- Jelińska M. (2005). Kwasy tłuszczowe - czynniki modyfikujące procesy nowotworowe. *Biuletyn Wydziału Farmacji AMW* 1, 1-14.
- Jensen FJ. (1997). Quality of poultry meat as affected by nutritional factors. *Proceedings of the XIII European Symposium on the Quality of Poultry Meat*. Poznań: 21-26 September 1997
- Joo ST., Lee JI., Ha YL., Park GB. (2002). Effects of dietary conjugated linoleic acid on fatty acid composition, lipid oxidation, colour and water-holding capacity of pork loin. *Journal of Animal Science* 80, 108-112.
- Kartikasari LR., Hughes RJ., Geier MS., Makrides M., Gibson RA. (2012). Dietary alpha-linolenic acid enhances omega-3 long chain polyunsaturated fatty acid levels in chicken tissues. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 87(4), 103-109.

- Koreleski J., Świątkiewicz S. (2008). Wzbogacanie mięśni piersiowych w witaminę E poprzez dodatek octanu tokoferylu do paszy dla kurcząt brojlerów *Medycyna Weterynaryjna* 64(3), 348-350.
- Kouba M., Mouro J. (2011). A review of nutritional effects on fat composition of animal products with special emphasis on n-3 polyunsaturated fatty acids. *Biochimie* 93(1), 13-17.
- Kowalska D. (2015). Właściwości fizykochemiczne mięsa królików żywionych mieszankami paszowymi natłuszczanymi olejem rzepakowym przy różnym poziomie witaminy E, w zależności od metody ich pakowania i przechowywania. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego* 11(1), 61-73.
- Kralik G., Primorac L., Kralik Z., Hrehor B. (2012). Effect of dietary fat sources on the fatty acid composition and sensory characteristics of chicken meat. *Journal of Food Science and Engineering* 2, 667-673.
- Migdał W., Pieszka M., Borowicz T., Janik A., Wojtysiak D., Pustkowiak H., Nowak J., Kozioł A. (2008). Modyfikowanie profilu kwasów tłuszczowych mięsa zwierząt rzeźnych-za i przeciw. *Roczniki Instytutu Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego* 1(46), 111-123.
- Nguyen CV., Smulikowska S., Mieczkowska A. (2003). Effect of linseed and rapeseed or linseed and rapeseed oil on performance, slaughter yield and fatty acid deposition in edible parts of the carcass in broiler chickens. *Journal of Animal and Feed Sciences* 12, 271-288.
- Osek M., Janocha A., Milczarek A., Klocek B. (2005). Wyniki produkcyjne i poubojowe oraz walory smakowe mięsa kurcząt brojlerów żywionych mieszankami natłuszczanymi różnymi olejami roślinnymi. *Rośliny Oleiste* 26(2), 527-536.
- Osek M., Milczarek A., Świnarska R. (2013). Wpływu poziomu i okresu podawania oleju sojowego i lnianego w mieszankach na wyniki produkcyjne i poubojowe oraz cechy jakościowe mięsa kurcząt brojlerów. *Rośliny Oleiste* 34(2), 227-240.
- Ostrowska F., Muralitharan M., Cross RF., Bauman DE., Dunshea FR. (1999). Dietary conjugated linoleic acids increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. *Journal of Nutrition* 129, 2037-2042.
- Saleh H., Rahimi S., Torshizi MK., Golian A. (2010). Effect of dietary fish oil on oxidative stability and lipid composition of broiler chickens breast and thigh meat. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 9, 2877-2882.

- Szymczyk B., Szczurek W. (2014). Effect of dietary pomegranate seed oil on quality of broiler chicken meat. Materiały konferencyjne z XXVI Międzynarodowego Sympozjum Drobiarskiego PB WPSA "Nauka praktyce drobiarskiej - praktyka drobiarska nauce" 08-10.09.2014 r. Kazimierz Dolny nad Wisłą
- Szymczyk B., Szczurek W. (2016). Effect of dietary pomegranate seed oil and linseed oil on broiler chickens performance and meat fatty acid profile. *Journal of Animal and Feed Sciences* 25, 37-44.
- Świnarska R. (2013). Wpływ oleju lnianego i witaminy E w mieszankach na wskaźniki odchowu i wartość dietetyczną mięsa kurcząt brojlerów. Rozprawa doktorska. UPH w Siedlcach.
- Tekeli A., Rustu H., Celik L. (2014). Dietary inclusion of grape seed oil in functional broiler meat production. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 20(4), 924-932.
- Zelenka J., Schneiderová D., Mrkvicová E. (2006). Linseed oils with different fatty acid patterns in the diet of broiler chickens. *Czech Journal of Animal Science* 51(3), 117-121.

Effect of birth type on fat content and fatty acid profile in Merino ewes milk

**Paulina Cholewińska¹, Anna Wyrostek¹, Robert Bodkowski¹, Katarzyna Czyż¹,
Bożena Patkowska – Sokoła¹, Damian Konkol², Piotr Nowakowski¹**

¹Wroclaw University of Environmental and Life Sciences, Institute of Animal Breeding, Poland

*²Wroclaw University of Environmental and Life Sciences, Department of Environment, Hygiene
and Animal Welfare, Poland*

Cholewińska P.: paulina.cholewinska@upwr.edu.pl

Abstract

The aim of the work was a comparative analysis of milk of Polish Merino sheep in terms of fat content and fatty acids depending on the type of births (single and twin litters). The animal material consisted of a flock of Polish Merino sheep of the wool-meat type, from Mokrzeszów (Agrominor sp. Z. O. O.). The samples were taken from 86 mothers were selected based on breeding documentation and age (3 years). From each mother, 50-70 ml of milk were taken - 40 mothers, single litters, 36 mothers: twin litters. The research on the basic composition of milk was carried out in the Laboratory of Milk Evaluation and Analysis (WBiHZ, UPWr) on the MILKOSCAN apparatus. The chromatography was performed at the Institute of Industrial Chemistry in Warsaw. The body weight of lambs at 56 days of age was determined based on the documentation. A comparative analysis of ewes giving birth to single and twin litters showed variation in the level of lactose, because the milk of mothers with single litters was characterized by a higher content of lactose. In contrast, the milk of twins' mothers was characterized by a higher PUFA content and lower SFA compared to mothers of only twins. It was also characterized by a higher content of oleic acid (C 18: 1), linoleic (C 18: 2), linolenic (C 18: 3) and cis-9 and trans-11 isomers than milk of only mothers. In addition, the study showed that lambs from single litters were larger than those from twin litters at 56 days of age.

Key words: milk, sheep milk, fatty acids, lambing

Introduction

Colostrum and milk are the first food in the early life of mammals. The term milk is defined as a lactic secretion from a mammary gland with organoleptic characteristics, to which nothing has been added and nothing has been included. It consists of three basic phases: emulsion, colloidal and molecular. The composition, quality and efficiency of milk depends on factors such as genetics, breeding environment, animal's physiological state, numbers of litters in young animals, age and nutrition.

The basic components of milk are proteins, fat, minerals, vitamins (A, E, D, K, C and B) and enzymes. The largest share in milk is water from 60% (whale) to about 90% (mare, donkey) [Bonczar et al.2000]. In addition to proteins, fat is the most important ingredient. It belongs to the main components of food, it is a concentrated energy component and also a source of nutrients. The milk contains neutral fats, phospholipids and cholesterol. The milk fat consists of short-chain fatty acids (30%) and long-chain fatty acids (70%) [Radzik – Rant 2014, Radzik – Rant 2005, Szumacher – Strabel 2005].

The milk yield of livestock and its composition fluctuate significantly depending on the season of the year. The lowest milk production occurs in the spring and early spring. On the other hand, the increase in protein content occurs with a decrease in yield. The increase in the amount of fat in milk occurs in the autumn-winter season.

The main species of animals from which milk is obtained is dairy cattle, because it is characterized by high productivity and the ability to control the composition of milk. In contrast, sheep milk is obtained in areas not conducive to the maintenance of dairy cattle, or for cheese production. The chemical composition of sheep's milk, its physical properties and sheep yield depends on genetic, physiological and environmental factors. An example of a large variation in the composition of sheep's milk can be the dry matter content, which ranges from 15.4% to 21%, or fat, which level is from 5 to 12% [Bonczar 2001, Radzik – Rant 2014].

Sheep milk, in comparison to cow, contains about 1.5 times more dry matter and about 2% more fat. In addition, by comparing sheep's milk with a woman's milk it contains 2-3 times more saturated fatty acids. It also contains fatty acids from C 4:0 to C 8:0, which are not found in human milk [Jamroz et al. 2004, Patkowska- Sokoła et al. 2004, Pytasz & Stołyhwo 1998]. Sheep milk is also characterized by the highest level of orotic acids compared to cow's and goat's milk. Orotic acid has anti-cancer properties and preferably

regulates the functioning of the human body. Sheep milk also contains some more conjugated linoleic acid (CLA). It has dietary and health-promoting properties [Patkowska – Sokoła et al.2001, Patkowska - Sokoła et al. 2003, Jover et al.2002, Cholewińska we al. 2016]. In sheep's milk there are also cis-9 and trans -11 isomers that have many health-promoting activities for humans. These compounds counteract and even inhibit the development of neonatal cells, stimulate the immune system, act anti-atheromatosis.

Milk production of sheep and increased fecundity in a significant way connects with lamb rearing and milk composition. However, the increase in milk production is uneven compared to the number of lambs. In addition, there are changes in the composition of milk. Therefore, there is an urgent need to conduct research on the yield and composition of milk depending on the number of lambs in the litter [Niznikowski 2011, Cholewińska et al. 2016]

The aim of the work was a comparative analysis of milk of Polish Merino sheep in terms of fat content and fatty acids depending on the type of births (single and twin litters).

Materials and method

Animal Material

The research was carried out in a herd of 300 Merino Polish sheep in Mokrzeszów (Agrominor sp. Z. O. O.). Breeding work is carried out in the meat direction. Sheep are kept in the alcove-pasture system, where the pasture season lasts from March to October. The lambing take place twice a year, covering ewes "by hands". Prolificacy at the experiment was 144,4 %. Lambs was with mother untill 2 month of life.

The nutritional basis was: silage, maize silage (from whole plants), oat meal, straw with alternate hay and feed additives: salt licks, fodder chalk and yeast. The nutritional doses were adjusted to the physiological state, age and sex. Flushing was used during the training, and the nursing mothers, lambs and young people received the compound feed and the vitamin supplement. In winter, the herd received oat grain, maize silage and hay or straw from rape, while total mixed ratio received only young animals.

Sample collecting

Samples for testing milk were collected from 86 mothers selected on the basis of breeding documentation. The selection includes age (3 years) and the number of lambs in the litter:

- 40 ewes – single litters

- 36 ewes - twin litters

Milk samples of 50-70 ml were collected from mothers in the 4th week of lactation.

To facilitate milk collection, the lambs were separated from their mothers for 2 hours.

Basic milk composition

Protein, lactose, dry matter and non-fat dry matter tests were carried out on a FOSS MILCOSCAN 133B apparatus in the Laboratory of Evaluation and Analysis of Milk at the Department of Cattle Breeding and Milk Production, Wroclaw University of Environmental and Life Sciences.

Fatty acids profile in milk

The chromatography was performed at the Institute of Industrial Chemistry named Ignacy Mościcki in Warsaw. Analysis was made on PU 4410 chromatograph, Philips. A flame ionization detector (FID) was used. The study quantified and quality saturated and unsaturated fatty acids. During the chromatography, 12 saturated fatty acids (C4-C18) and 13 unsaturated fatty acids (C14-C20) were isolated.

Evaluation of results

The obtained numerical material was checked for normal distribution using the Shapchiro- Wilk test, and then the results were developed using the student's t test.

Results and discussion

The results of the basic milk composition showed significant differences between the studied groups ($P < 0.05$). The milk of ewes, which gave birth to two lambs, was characterized by a higher content of protein, fat and dry mass relative to ewes milking babies. However, ewe's milk after single pregnancies contained more lactose compared to ewes after multiple pregnancies (Tab. 1).

Higher concentration of milk constituents of twins' mothers is justified in the fact that it is a highly important food for young animals. With a similar amount of milk obtained from mothers of only children and twins, it is justified to increase its concentration of nutrients in milk for mothers of twins. Obtained results of research on the basic composition of milk are similar to those obtained by Pakulski & Osikowski [1999] and Patkowska – Sokoła et al. [2001].

Table 1. The basic composition of milk depending on the type of births

Type of birth	Statistic symbol	Composition				
		Protein	Fat	Dry matter	Non-fat dry matter	Lactose
Single births	x	5.04 ^a	7.87 ^a	18.43	10.93	4.93 ^a
	sd	0.91	2.04	1.9	1.41	0.6
Twin births	x	5.67 ^b	8.14 ^b	18.57	10.34	4.16 ^b
	sd	1.17	2.49	2.59	1.32	1.13

The milk of mothers of only children was also characterized by a higher content of saturated fatty acids and lower unsaturated fatty acids compared to milk of twins' mothers. In addition, it was shown that the milk of twins' mothers had a higher monounsaturated and polyunsaturated content, respectively about 11 and 25% (Tab. 2).

Table 2. Percentage of fatty acid groups in the milk of Polish Merino ewes, depending on the type of births.

Type of birth	Statistic symbol	Ewes Milk			
		Saturated fatty acids	Unsaturated fatty acids	Monounsaturated fatty acids	Polyunsaturated fatty acids
Single births	x	71.1 ^a	28.9 ^a	25.17 ^a	3.16 ^a
	sd	2.98	3.86	3.59	0.35
Twin births	x	67.48 ^b	32.6 ^b	27.95 ^b	3.96 ^b
	sd	2.22	4.08	3.43	0.78

The content of unsaturated fatty acids: oleic (C 18: 1), linoleic (C 18: 2), linolenic (C 18: 3) and cis-9 and trans-11 isomers depended greatly on the number of born juveniles - milk of twins' mothers was characterized by a much higher level of these fatty acids (Tab.3).

Table 3. Percentage of unsaturated fatty acids in the milk of Polish Merino ewes, depending on the type of births.

Type of birth	Statistic symbol	Ewes Milk			
		Oleic acid (C8:1)	Linoleic acid (C 18: 2)	Linolenic acid (C 18: 3)	Cis-9 and trans-11 isomers
Single births	x	23.46 ^a	1.63 ^a	1.52 ^a	0.56 ^a
	sd	1.4	0.22	1.61	0.05
Twin births	x	26.17 ^b	1.8 ^b	2.16 ^b	0.68 ^b
	sd	2.31	0.25	0.91	0.08

The analysis of the documentation of the body weight of lambs at 56 days of life, depending on the sex and type of birth, showed that both females and males with single births were characterized by a higher body weight by 21 and 20% compared to the young

from twin litters. In addition, males of both types of births were characterized by a higher body weight than females (Tab.4).

Table 4. Average body weight of lambs at 56 days of age, depending on the type of birth and sex (kg).

Type of birth and sex	The number of weighted lambs	Average body weight at 56 days of age
Rams:	162	18.2
Single births	70	20
Twin births	92	16.55
Ewes:	155	16.7
Single births	61	18.4
Twin births	94	15.15

As the results showed, the amount of milk produced by ewes - its quantity, chemical composition, are characterized by considerable variability. The obtained results and their differentiation are influenced by factors such as race, individual characteristics, nutrition, age, size of the litter, lactation phase and lactation. Variation in the composition and yield of milk is not a factor in all directions of use of sheep. This factor has a significant impact on the growth of lambs, due to the efficiency of dry matter and protein [Radzik – Rant et al. 2014, Mroczkowski et al 1999, Jover et al 2002, Korman 1995]. The weight gain of lambs up to the 28th day of life depends mainly on the milkiness of the mothers. According to a study by Klewec et al. (2001), the correlation ratio between maternal milkiness and weight gain of their offspring is at a high level - 0.78. This means that the mothers' vitality is important for the results of lambing.

Milk of ewes that gave off twins was characterized by a more favorable composition of milk from mothers of only children in terms of basic composition and groups of fatty acids. Unfortunately, in the literature concerning the comparison of the composition of fatty acids of ewe's milk depending on the number of lambs born. However, the obtained results regarding the formation of individual fatty acids, including unsaturated and isomers, were close to the values, however, the results found in articles Litwińczuk [2001], Mroczkowski et al. [1999] did not include information on the distinction between types of births.

The cis and trans isomers present in milk fat and ruminant meat are at a much higher level compared to monogastric animals, where they occur in traces. They are the factors that inhibit the formation and development of malignant tumors, they have a positive

effect on the body's immunity. Their positive effects on the body make them an indispensable nutrient for a young animal. It is also proven to work as an antioxidant, i.e. to capture free radicals, thus preventing damage to cell membranes. Interestingly, the greatest biological activity among the numerous groups of dienes of linoleic acid is shown by the cis-9i trans-11 isomers [Patkowska – Sokoła et al. 2005, Cholewińska et al. 2016, Kahal & Olson 2004, Raes et al. 2004, Demeyer & Doreau 1999, Pytasz & Stołyhwo 1998].

In addition to the content of individual fatty acids, their relationship is more important. According to studies Patkowska – Sokoła et al. [1996], the most effective is found in goat's milk (1: 0.81: 0.1), then in sheep's milk (1: 0.51: 0.081) and finally in cow's milk (1: 0.44: 0.069). It is worth bearing in mind that in the own research the best ratio of fatty acids occurred in breast milk of twins.

In the rearing of lambs, the first month of life is based on milk, so its composition and quantity determines its development. It is important for lambs to ensure the right amount of protein is also ensuring an adequate level of fat. The perfect source of energy is the fat, which enables efficient use of the building components provided. Not only the quantity but also the fatty acid profile is important. The fat with a high proportion of linoleic and linolenic acids and their isomers increases the growth of muscle tissue. On the other hand, fat with a low content of unsaturated fatty acids from the EFA group, probably caused by limiting the synthesis of prostaglandins, results in the inhibition of growth. In addition, when there is a lack of them in the diet of young animals may occur skin changes, as well as anatomical in the organs and physiological-biochemical system. Unsaturated acids are also conducive to normal nervous system uptake [Cichosz & Czczot 2012, Bojarowicz & Woźniak 2008, Park et al. 2007, Patkowska – Sokoła et al. 2005, Patkowska – Sokoła et al. 2004, Patkowska – Sokoła et al 2003, Jover et al. 2002]. Considering the results of own research and literature, nutritional factors such as proteins and fats (mainly fatty acid profile) have the greatest impact on the proper development of lamb during sucking, and thus affect the subsequent productivity.

Significant differences in the body mass of lambs at 56 days of life from single and twin litters speak in favor of the compression theory. However, as the growth and development increases, the differences in body weight between the lambs will be evened out at 12 months of age [Dankowski & Bernacka 1997].

Summary

The analysis of the basic composition of ewes from the Polish Merino breed, which gave birth to one and two lambs, showed variation in the range of parameters examined, with the exception of lactose, in favor of the twins' mothers.

Milk fat ewes that gave birth to twin litters were characterized by a higher level of unsaturated fatty acids (PUFA, MUFA). On the other hand, in the milk fat of mothers of only ones, a higher proportion of saturated fatty acids was noted, which results in their mutual ratio in milk being less favorable than in breast milk of twins' mothers. In terms of unsaturated fatty acids, i.e. oleic (C18: 1), linoleic (C18: 2) and linolenic (C18: 3) and cis-9 and trans-11- isomers, breast milk of twins was better than that of mothers of only ones.

The assessment of the birth weight of lambs from single and multiple litters showed differences both in terms of sex and the number of lambs in the litter. Triodes from both litters reached a higher body weight in 56 days of life compared to yellows. In addition, lambs from twin litters achieved lower body weight than only ones in 56th day of life. However, body weights can even up to 12 months between lambs from twin and single litters.

References

- Bojarowicz H., Woźniak B. (2008). Wielonienasycone kwasy tłuszczowe oraz ich wpływ na skórę. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 89 (4): 471–475.
- Bonczar G. (2001). Znaczenie mleka owczego w żywieniu człowieka. *Przegląd Mleczarski*, 3: 125-128.
- Bonczar, G., Wszolek, M., Paciorek, A., & Ciuryk, S. (2000). Wpływ rodzaju zakwasu i dodatku ziół na właściwości serków z mleka owczego. *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej w Krakowie. Technologia Żywności*, 12, 17-27.
- Cholewińska P., Iwaszkiewicz M., Nowakowski P. (2016). Profil kwasów tłuszczowych w wełnie owiec olkuskich – jagniąt i ich matek. *Wiad. Zoot.*, LIV, 4: 20–24.
- Cichosz G., Czczot H. (2012). Kwasy tłuszczowe izomerii trans w diecie człowieka. *Bromat. Chem. Toksykol.*, XLV, 2: 181–190.
- Dankowski, A., Bernacka, H., Szczytniewska, A., Janicki, B., & Słubowska, B. (1997). Wykorzystanie produkcyjne i hodowlane potomstwa owiec rasy merynos polski z

- urodzen bliźniaczych i pojedynczych. *Zeszyty Naukowe Akademii Techniczno-Rolniczej w Bydgoszczy. Zootechnika*, 29, 5-10.
- Demeyer, D., & Doreau, M. (1999). Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *Proceedings of the nutrition society*, 58(3), 593-607.
- Jamroz, D., Bodkowski, R., Patkowska-Sokola, B., Ćwikła, A., & Wertelecki, T. (2004). Influence of species and nutrition on fatty acids profile and CLA content in meat fat of ruminants. *Krmiva: Časopis o hranidbi žvotinja, proizvodnji i tehnologiji krme*, 46(4), 175-187.
- Jover E., Moldovan Z., Bayona J.M. (2002). Complete characterisation of lanolin steryl esters by sub-ambient pressure gas chromatography-mass spectrometry in the electron impact and chemical ionisation modes. *J. Chromatogr., A*, 970: 249–258.
- Khanal, R. C., & Olson, K. C. (2004). Factors affecting conjugated linoleic acid (CLA) content in milk, meat, and egg: A review. *Pakistan J. Nutr*, 3(2), 82-98.
- Klewiec, J., Gabryszuk, M., & Baranowski, A. (2002). Zmiennosc wybranych cech uzytkowosci mlecznej owiec. *Prace i Materiały Zootechniczne. Zeszyt Specjalny*, 14, 75-83.
- Korman, K., Janicki, B., Tabisz, J., & Osikowski, M. (1995). Wplyw typu urodzenia maciorek merynosowych na przebieg odchowu i selekcji oraz ich uzytkowosc rozplodowa. *Zeszyty Naukowe. Przegląd Hodowlany*, (19), 119-122.
- Litwinczuk, A. (2001). Sezonowe zmiany jakosci mleka towarowego dostarczanego do mlecarni o zroznicowanej bazie surowcowej. *Przegląd Hodowlany*, 8(69), 4-7.
- Mroczkowski, S., Piwczynski, D., & Korman, K. (1999). Zmienność cech mleczości dojonych owiec merynosowych. *Zeszyty Naukowe. Przegląd Hodowlany*, 40.
- Niżnikowski R. (2011). Hodowla i uzytkowanie owiec. *Wyd. Wieś Jutra, Warszawa*, 23: 196–205.
- Pakulski, T., Osikowski, M., & Korman, K. (1999). The influence of diets containing ensilage on the quantity and quality of ewe's milk. *Publication-European Association For Animal Production*, 95, 349-350.
- Park, Y. W., Juárez, M., Ramos, M., & Haenlein, G. F. W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small ruminant research*, 68(1), 88-113.
- Patkowska-Sokola, B., Bodkowski, R., Kinal, S., Walisiewicz-Niedbalska, W., Popiolek, R., & Slupczynska, M. (2003). Wplyw podawania preparowanych termicznie nasion lnu na

- zawartosc tluszczu i kwasow tluszczowych w mleku polskiej owcy gorskiej. I. Rośliny Oleiste-Oilseed Crops, 24(1), 239-249.
- Patkowska-Sokoła, B., Jamroz, D., Wertelecki, T., Bodkowski, R., & Ćwikła, A. (2004). Sadržaj masnih kiselina i dvojnih diena linolne kiseline cis-9, trans-11, u mlijeku preživača. Krmiva: Časopis o hranidbi životinja, proizvodnji i tehnologiji krme, 46(4), 189-196.
- Patkowska-Sokoła, B., Popiołek, R., Ćwikła, A., & Nowakowski, P. (1996). Wpływ przynależności gatunkowej zwierząt [owce, kozy i krowy] na skład chemiczny tłuszczu mleka. Zeszyty Naukowe. Przegląd Hodowlany, (30), 93-94.
- Patkowska-Sokoła B., Walisiewicz-Niedbalska W., Bodkowski R., Różycki K. (2005). Tłuszcz mleczny jako źródło pozyskiwania bioaktywnych izomerów kwasu linolowego (CLA) i oleinowego (VA). Roczn. Nauk. PTZ, 1: 193–201.
- Patkowska-Sokoła, B., Bodkowski, R., Popiołek, R., & Aniołowski, K. (2001). Skład chemiczny i profil kwasów tłuszczowych mleka różnych ras owiec. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu (429).
- Patkowska-Sokoła, B., Bodkowski, R., Popiołek, R., & Aniołowski, K. (2001). Skład chemiczny i profil kwasów tłuszczowych mleka różnych ras owiec. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu, (429).
- Pytasz U., Stołyhwo A. (1998). Suplementacja diety olejem z nasion wiesiołka wzbogaca intensywnie mleko kobilece w wielonienasycone kwasy tłuszczowe rodziny n-6: LA, GLA i DGLA; Zbiór prac III Sympozjum n.t. Olej z nasion wiesiołka i inne oleje zawierające kwasy n-6 lub n-3 w profilaktyce i terapii. Sulejów, 53.
- Radzik-Rant, A. (2005). Modyfikowanie zawartosci kwasow tluszczowych w tkance miesniowej jagniat poprzez wzbogacenie diety olejami roznego pochodzenia. Wydawnictwo SGGW.
- Radzik-Rant, A., Rozbicka-Wieczorek, A., Puppel, K., & Czuderna, M. (2014). Wpływ wariantów beta-laktoglobuliny na skład chemiczny i profil kwasów tłuszczowych mleka maciorek rasy wrzosówka. Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego, 10(4).
- Raes, K., De Smet, S., & Demeyer, D. (2004). Effect of dietary fatty acids on incorporation of long chain polyunsaturated fatty acids and conjugated linoleic acid in lamb, beef and pork meat: a review. Animal feed science and technology, 113(1-4), 199-221.

Szumacher-Strabel, M. (2005). Wpływ dodatku tłuszczów do dawek pokarmowych dla owiec i kóz na zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych w płynie żwaczowym i mleku, ze szczególnym uwzględnieniem izomerów sprzężonego kwasu linolowego. Wydawnictwo Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego.

The composition of fatty acids in different types of chocolate

Karolina Dolatowska-Żebrowska, Ewa Ostrowska-Ligeża, Magdalena Wirkowska-Wojdyła, Joanna Bryś

*Warsaw University of Life Sciences, Faculty of Food Sciences, Department of Chemistry,
Warsaw, Poland*

Dolatowska-Żebrowska K: karolina_dolatowska_zebrowska@sggw.pl

Abstract

The effect of different components of dark, milk and white chocolate samples on their fatty acids (FA) profile was investigated. The determination of fatty acid composition was carried out by gas chromatography (GC) analysis of fatty acid methyl esters.

Fat derived from all types of chocolate showed comparable FA composition having, in general, higher amounts of saturated FA than unsaturated. Oleic acid (C18:1), although constituting only about 31% of the total fatty acids in pure cocoa butter and 21% of the total fatty acids in milk fat triacylglycerols accounted 32-36 % of the FA in all chocolates revealing the presence of small amounts of palm oil typically rich in monounsaturated fatty acids (MUFA).

Overall, it was concluded that the fatty acid composition only could be utilized for the detection of general fatty components of different chocolates. The analysis of fatty acids profile showed to be an alternative tool to identify an attempt to falsify food. Nevertheless, in most of the cases without detailed analysis of fatty acids distribution, any adulteration is difficult to be confirmed.

Key words: Cocoa butter, milk fat, GC

Introduction

Chocolate types' differences

Chocolate is a pleasurable product, which is largely consumed over the world and has been studied for many years [Grembecka and Szefer, 2012; Lenfant et al., 2013].

Chocolate is a complex suspension of around 70% of fine solid particles (from sugar and cocoa), in a continuous fat phase. At ambient temperature (around 25°C), it is solid and it melts at an oral temperature (37°C) generating a smooth suspension of solid particles in cocoa butter. There are different types of chocolate (dark, milk and white), according to their composition in terms of cocoa solids, milk fat, and cocoa butter, hence the final products have different compositions of carbohydrate, fat and protein [Beckett, 2008; Fernandes et al., 2013]. Milk chocolates, and especially white chocolates are often held in a molten form in storage tanks. The molten masses are kept at a temperature of about 50–55°C and periodically stirred at a slow speed. Ideally, all of the milk fat should become part of the continuous fat phase in chocolates [Ziegleder et al., 2004; Rousseau and Sonwai, 2008]. Dark chocolate, in contrary, contains one type of fat, cocoa butter, yet it must be admixed with a small portion of emulsifier, e.g., soy lecithin or polyglycerol polyricinolate (PGPR) to improve compatibility with the hydrophilic sugar crystals [Materazzi et al., 2014].

In most countries of the world, much more milk chocolate is bought and eaten than both dark and white put together. It tends to be softer than dark chocolate and has a creamier taste and texture [Beckett, 2008]. However, dark chocolate contains less sugar and more flavanols, catechin, and epicatechin, referred as beneficial for human health [Galleano, 2009].

Chocolate properties

Texture and appearance are key attributes in consumer choice and acceptability even though the flavour is frequently judged important in product identification [Beckett, 2003; Whitefield, 2005]. Visual information characterizing objects, including gloss, colour, shape, roughness, surface texture, shininess, and translucency, is summarized into the appearance attributes. However, not less important than appearance of chocolate is the quality of its ingredients, in particular, the quality of fats. Epidemiologic data have shown that fatty acids profile in food has a direct impact on human health [Torres-Moreno et al., 2015]. Saturated fats tend to raise total cholesterol and low-density lipoproteins (LDL) levels. The latest dietary reference intakes of fat for healthy population fluctuate from 20 - 35% of total diet energy content [Food and Nutrition Board, 2005]. Therefore, saturated fatty acid (SFA) content must be as low as possible in the daily balanced diet.

Polyunsaturated fatty acids (PUFA) should not exceed 10% of total daily calories, whereas monounsaturated fatty acids (MUFA) are expected to be the main component of consumed fats.

Chocolate fats and oils

Triacylglycerols (TAGs) – esters of glycerol and fatty acids - are the main components of cocoa butter and other oils and fats. The carbon atoms of the glycerol part are numbered 1-3. The position of fatty acid in the TAGs is important for nutritional and functional aspects. TAGs profile differs significantly between cocoa butter from different geographical origins as well as between cocoa butter and other vegetable fats.

According to the latest Revision of Chocolate Directive, in sales, the name of chocolate can be given to products that contain not less than 43 % total dry cocoa solids, including not less than 26 % cocoa butter. In the case of milk chocolate, the name can be granted to the mixtures of not less than 30 % total dry cocoa solids and not less than 18 % dry milk solids, obtained by partly or wholly dehydrating whole milk, semi- or full-skimmed milk, cream, or from partly or fully dehydrated cream, butter or milk fat, including not less than 4.5 % milk fat.

However, the high cost of cocoa butter pursue the industry to replace cocoa butter with other vegetable fats. In the European Union, it has been established that for chocolate the amount of additional fats should not exceed 5%. Due to functional differences, the vegetable fats added to chocolate are qualified as equivalent (CBE), replacer (CBR) or substitutes (CBSs).

Cocoa butter equivalents such as palm oil, shea butter or kokum butter, are non-lauric plant fats, which are similar in their physical and chemical properties to cocoa butter and mixable with it in every amount without altering the properties of cocoa butter [Lipp, 1998]. The main fatty acids found in CBEs are palmitic (C16:0), stearic (C18:0), oleic (C18:1cis), and linoleic (C18:2).

Cocoa butter replacers such as soya oil, rapeseed oil or palm olein, are also non-lauric fats with a distribution of fatty acids similar to cocoa butter but a completely different structure of triglycerides. CBRs contain elaidic (C18:1trans), stearic (C18:0) and palmitic acids (C16:0). They are consistent with cocoa butter only in the small ratio.

Cocoa butter substitutes such as coconut oil and palm kernel oil, are lauric plant fats, chemically totally different from cocoa butter with some physical similarities. CBSs triacylglycerols consist of lauric (C12:0) and myristic acid (C14:0) and they are suitable only to substitute cocoa butter to 100%.

One of the typical properties of cocoa butter is the occurrence of substantial quantities of 2-oleyl glycerides of palmitic and stearic acid. These triacylglycerols are mainly responsible for providing the specific crystallization and melting at body temperature in chocolate confectionery. When cocoa butter is substituted in parts, it is crucial to maintaining the same 'mouth feeling' melting behavior of the mixture. Hence, added fat must be dispersed evenly and must not alter markedly the crystallization pattern.

The aim of the study was the analysis of fatty acids profile of cocoa butter, milk fat, and fats isolated from dark, milk and white chocolates.

Materials and methods

Samples

The research material consisted of two dark (D1, D2), two milk (M1, M2) and one white chocolate (W1), which were purchased at a local store. The natural cocoa butter was purchased at Choco Trade, "SweetGryf" Wioletta Janicka, Poland, and milk fat were purchased at Sobik Milk Factory Ltd., Poland.

Extraction of the lipid fraction

Lipid fraction was extracted from chocolates according to the procedure described by Boselli, Velazco, Caboni, and Lercker (2001). Approximately 30 g of the sample was homogenized with 100 mL of a chloroform/methanol solution (1/1 v/v) in a glass bottle with a screw-cap. The bottle was kept at 60 °C for 20 min before adding an additional 100 mL of chloroform. After 2 min of homogenization, the content was mixed thoroughly with 70 mL of 1 M KCl solution and left overnight at 4 °C in order to phase separation. The organic phase was collected and the solvent was removed by the rotary evaporator at 40 °C. The fat sample was stored at -18 °C until it was analyzed.

Determination of fatty acid composition

The determination of fatty acid composition was carried out by gas chromatographic (GC) analysis of fatty acid methyl esters. A Shimadzu GC 17A

chromatograph equipped with a flame ionization detector and a BPX-70 capillary column of 0.22 mm (internal diameter) 30 m length and 0.25 µm film thickness was used. The oven temperature was programmed as follows: 60°C for 1 min, then it was increased by 10°C/min to 170°C; from 170°C to 230°C, it was increased by 3°C/min; then kept at 230°C for another 15 min. The temperature of the split injector was 225 °C, with a split ratio of 1:100, and the detector temperature was 250 °C. Nitrogen flowing with the rate of 1 ml/min was used as the carrier gas. The identification of fatty acids was carried out using the lipid standard purchased from Sigma Aldrich, Supelco Analytical, Bellefonte, PA, USA [Wirkowska et al., 2012].

Results and discussion

Materials

The subjects of the research were natural cocoa butter, milk fat and five kinds of chocolate. Natural cocoa butter and milk fat were purchased and were not used in the production of researched chocolates. It was not possible to study fats used in the production of these chocolates, but the tested fats were of the best quality. Particle size distribution of chocolate fats is a very important parameter however it was not possible to determine this factor in trade chocolates.

Analysis of fatty acids composition

A characteristic feature of the cocoa butter is a high content of saturated fatty acids – palmitic (C16:0) and stearic (C18:0), and monounsaturated oleic (C18:1). Cocoa butter studied by Sa'eed (2005) contained 25%, 33% and 38% of mentioned fatty acids, respectively. The content of linoleic acid remained at the level of 3%. Kowalska et al. (2008) determined a much lower amount of linoleic acid - 2.1% but the similar content of predominant fatty acids: palmitic acid - 26.2%, stearic acid – 34.4% and oleic acid -37.3%. In our studies, natural cocoa butter contained the comparable amount of stearic acid - 33.2%, yet much lower amount oleic acid - 31.5%, and significantly higher amount of palmitic acid - 31.3%. Amount of linoleic acid in the sample- 2.6 % did not deviate from literature. In the present study, the amount of myristic acid C14:0, [palmitoleic acid](#) C16:1 - 0.29%, margaric acid C17:0 - 0.25%, arachidic acid C20:0 - 0.64% in natural cocoa butter were identified as less significant (Tab.1).

Table 1. Fatty acids content in cocoa fat, milk fat and fats isolated from chocolates (D1, D2, M1, M2, W1)

Fatty acid	Fatty acid content /%						
	Natural cocoa fat	Milk fat	D1 fat	D2 fat	M1 fat	M2 fat	W1 fat
C4:0	-	2.10±0.10	-	-	0.32±0.08	0.53±0.14	0.79±0.12
C6:0	-	1.40±0.00	-	-	0.30±0.01	0.38±0.07	0.59±0.10
C8:0	-	1.50±0.00	-	-	0.20±0.00	0.21±0.1	0.30±0.06
C10:0	-	2.70±0.10	-	-	0.40±0.00	0.39±0.1	0.55±0.11
C12:0	-	3.20±0.12	-	-	0.43±0.03	0.41±0.06	0.42±0.09
C14:0	0.10±0.01	11.40±0.31	-	0.20±0.10	1.14±0.08	1.46±0.45	1.09±0.10
C14:1	-	-	-	-	0.07±0.00	0.10±0.04	0.05±0.01
C15:0	-	1.20±0.00	-	-	0.11±0.06	0.12±0.06	0.06±0.01
C15:1	-	0.50±0.00	-	-	-	-	-
C16:0	31.30±0.15	32.30±1.17	26.40±0.40	27.00±0.31	24.22±1.27	24.31±0.92	24.34±0.15
C16:1	0.30±0.05	2.40±0.08	0.20±0.00	0.20±0.10	0.41±0.11	0.46±0.07	0.32±0.01
C17:0	-	0.90±0.00	-	-	0.23±0.05	0.22±0.02	0.17±0.011
C18:0	33.20±0.06	11.70±0.24	34.40±0.15	35.10±0.21	32.78±1.78	31.97±1.39	31.17±0.22
C18:1cis	31.50±0.15	21.50±0.76	35.80±0.32	32.30±0.12	34.37±1.56	35.18±1.58	35.45±0.31
C18:1trans	-	3.40±0.16	-	-	-	-	1.27±0.12
C18:2	2.60±0.06	1.90±0.22	2.90±0.11	3.40±0.06	3.66±0.54	3.23±0.18	2.89±0.16
C18:3	0.10±0.06	0.90±0.02	0.20±0.10	0.20±0.10	0.26±0.12	0.19±0.03	-
C20:0	0.60±0.06	0.40±0.00	0.60±0.06	1.00±0.10	1.11±0.21	0.85±0.05	0.14±0.02
C20:1	-	0.30±0.00	-	-	-	-	0.42±0.04
C20:4	-	0.10±0.00	-	-	-	-	-
C22:0	-	0.20±0.00	-	-	-	-	-

Values represent means ± standard deviations

Milk fat is a complex mixture of triacylglycerols, composed of a large number of different fatty acids which leads to a heterogeneous composition [Wirkowska et al., 2012]. The fatty acid composition of the milk fat is presented in Tab.1. The analyzed milk fat was characterized by a high amount of palmitic acid – 32.3% and oleic acid 21.51% which are both within ranges stated by Rutkowska and Stołyhwo (2012) as 28 - 33% and 19 - 23%, respectively. Additionally analyzed milk fat contained stearic acid (11.72%), lauric (3.23%), palmitoleic (2.44%), pentadecanoic (1.19%), cis form of linoleic acid (1.67%), margaric acid (0.86%), arachidic (0.41%), eicosenoic (0.28%). Characteristic for milk fat but not occurring in cocoa butter low-carbon saturated fatty acids such as C14:0 myristic acid (11.38%), C4:0 butyric acid (2.11%), C10:0 capric acid (2.69%), C8:0 caprylic acid (1.49%), C6:0 caproic (1.40%) were determined in milk fat at the level comparable to Drozdowski (2012).

In the case of chocolates with the content of cocoa liquor, at least 64% - D1 and D2 - higher amounts of stearic acid (34.4% and 35.2%) comparing to natural cocoa butter were reported. The main reason may be a different origin of genuine cocoa butter and cocoa butter used to produce both chocolates. Yet, no other fatty acids were registered in dark chocolates which confirms the manufacturer's declaration of using only cocoa butter. The palmitic acid content was lower as expected and reached the values 26.4% and 27.0% (Tab.1). The analyzed chocolates were characterized by a high content of unsaturated fatty acids. Fat extracted from dark chocolate D1 showed a higher content of oleic acid (35.8%) than D2, and the fat extracted from dark chocolate D2 contained the highest amount of linoleic acid -3.4%. This can be due to the presence of soy and soy lecithin in chocolate [Weyland and Hartel, 2008]. These ingredients have been declared on the label in the composition of all chocolates.

Generally, the biggest amount of saturated fatty acids (SFA) was found in dark chocolates, especially D2 (Fig.1). Decreased amount of SFA and increased amount of monounsaturated fatty acids (MUFA) in milk chocolates with reference to SFA and MUFA in cocoa fat and milk fat are caused by the presence of palm oil stated to be poor in SFA, yet rich in MUFA.

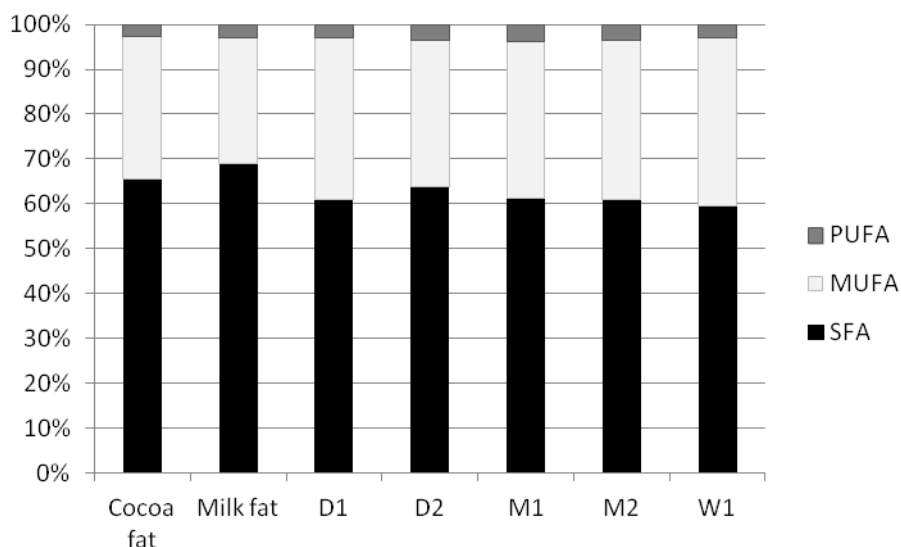


Figure 1. Graphical representation of a total amount of fatty acids in TAGs from cocoa fat, milk fat, and chocolates.

The fats extracted from all tested chocolates were characterized by the dominance of the three fatty acids: oleic, stearic and palmitic. In the studied fats, oleic acid was present in the highest amount (except for the fat extracted from chocolate D2). Fat isolated from chocolate D1 contained oleic acid at the highest level - 35.8%. The content of stearic acids ranged from 31.7% in fat extracted from chocolate M2 to 35.5% in fat extracted from chocolate D1 (Tab.1). In other fat palmitic acid content ranged from 24.22% (chocolate M1) to 26.4% (chocolate D1). Animal fat can be a source of lauric (C12:0) [Gunstone, 2009], capric (C10:0) and caprylic acid (C8:0) [Kowalska and Łata, 2009]. Fatty acids characteristic for milk fat (C4:0, 6:0, C8:0, C10:0, C12:0) were present in all analyzed fat extracted from chocolate M1, M2, and W1. The manufacturers of milk chocolate M1 declared on the label the addition of palm oil. The vegetable oils contain only fatty acids having an even number of carbon atoms [Rutkowska and Stołyhwo, 2012]. Palm oil is often used as the vegetable oil in the manufacture of milk chocolate. The composition of palm oil may vary depending on whether it was extracted from an inter (palm kernel) or an outer (reddish pulp) part of the palm fruit. Palm oil derived from the pulp contains 44.41% of palmitic acid (C16:0), 8.43% of stearic acid (C18:0) and 36.17% of oleic acid (C18:1) [Zaidul et al., 2007]. It is also characterized by a high content of linoleic acid C18:2 which can deviate in the range of 6.5 - 12% depending on the geographical origin or extraction method. Palm kernel oil, in contrary, contains 53% of lauric acid C12:0, 19% of myristic acid C14:0, yet traces of linoleic

acid C18:2, only 10% of palmitic acid C16:0 and 5.5% of oleic acid C18:1 [Chow, 2007]. The highest amount of linoleic acid was found in the fat extracted from milk chocolate M1 - 3.66% which suggest that small amount of palm oil, not palm kernel oil was used during the production process of chocolate M1. The fat extracted from milk chocolate M1 contained a small amount of short - chain fatty acids and medium - chain fatty acids which confirmed, with big probably, the addition of milk fat to this chocolate. The fat extracted from white chocolate W1 was characterized by the dominance of three fatty acids: stearic, palmitic and oleic acids (Tab.1) and small amounts of all fatty acids characteristic to milk fat except pentadecenoic acid, C15:1. However, this fatty acid is not usually found in nature so its absence can be neglected.

Conclusion

The fatty acid profile of fats extracted from chocolates was characteristic for cocoa butter, milk fat and palm oil composition. The amount of SFA was rather aligned between the chocolates of the same kind. The biggest amount of saturated fatty acids, mostly represented by stearic acid, was determined for dark chocolates due to the biggest contribution of cocoa butter in these chocolates. The increased amount of oleic acid was dependent on proportion either between cocoa butter and milk fat or cocoa butter, milk fat and palm oil used in the production process. Addition of soy lecithin as emulsifier influenced, but not significantly, the amount of linoleic acid in milk chocolates.

References

- Beckett S (2008). *The Science of Chocolate*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge
- Boselli E., Velazco V., Caboni MF, Lercker G. (2001). Pressurized liquid extraction of lipids for the determination of oxysterols in egg-containing food. *Journal of Chromatography A* 917 (1-2), 239-244.
- Chow C.K. (2007). *Fatty Acids in Foods and their Health Implications*, Third Edition. CRC Press LLC, pp. 241.
- Drozdowski B. (2012). Lipids. General characteristics of edible fats. In: Sikorski Z (ed), *Food Chemistry*, 5th edn. WNT, Warsaw, pp 145 – 155, 160 - 162 (in Polish)
- EEC, Commission of the European Union (2000). Revision of Chocolate Directive 2000/36/EC (EEC, 2000) OJ L197/19 3.8.2000.

- Fernandes V., Müller A., Sandoval A. (2013). Thermal, structural and rheological characteristics of dark chocolate with different compositions. *Journal of Food Engineering* 116, 97–108.
- Food and Nutrition Board (2005). *Dietary Reference Intake*. The National Academies Press, Washington.
- Galleano M., Oteiza PI., Fraga CF. (2009). Cocoa, chocolate, and cardiovascular disease. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 54(6), 483-490.
- Grembecka M., Szefer P. (2012). Differentiation of confectionery products based on mineral composition. *Food Analytical Methods* 5, 250–259.
- Gunstone F. (2009). *The chemistry of oils and fats: sources, composition, properties and uses*. Wiley-Blackwell Ltd, Oxford.
- Kardas M., Grochowska-Niedworok E. (2009). Differential scanning calorimetry as an analytical method for use in pharmacy and food analysis. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna XLII (2): 224-230*, in Polish with English summary.
- Kowalska J., Bzducha A., Derewiaka D., Kopańska K., Nitek A. (2008). Rating authenticity of selected chocolates. *Żywność-Nauka Technologia Jakość 4(59), 74–79*, in Polish with English summary.
- Kowalska J., Łata A. (2009). The characteristic of cocoa butter substitutes and products made of them. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna XLII 3, 257-262*, in Polish with English summary.
- Lenfant F., Hartmann C., Watzke B., Breton O., Loret C., Martin N. (2013). Impact of the shape on sensory properties of individual dark chocolate pieces. *LWT Food Science and Technology* 51, 545-552.
- Lipp M., Anklam E. (1998). Review of cocoa butter and alternative fats for use in chocolate – Part B. Analytical approaches for identification and determination. *Food Chemistry*, 62 (1): 99 – 108.
- Materazzi S., Curtis S.D., Cipriotti S.V., Risoluti R., Finamore J. (2014). Thermogravimetric characterization of dark chocolate. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 116, 93-98.
- Rousseau D., Sonwai S. (2008). Influence of the dispersed particulate in chocolate on cocoa butter microstructure and fat crystal growth during storage. *Food Biophysics* 3, 273–278.

- Rutkowska J., Stołyhwo A. (2012). Milk fat: structure, structure, composition and health benefits. In: Sikorski Z (ed), Food Chemistry, 5th edn. WNT, Warsaw, pp 50– 87 (in Polish).
- Sa'eed B. (2005). Health promoting properties of chocolate - food of the gods. *Bezpieczeństwo i Higiena Żywności* 10, 34-35 (in Polish).
- Torres-Moreno M., Torrescasana E., Salas-Salvado J., Blanch C. (2015). Nutritional composition and fatty acids profile in cocoa beans and chocolates with different geographical origin and processing conditions. *Food Chemistry*, 166, 125–132.
- Velišek J. (2014). *The Chemistry of Food*. Wiley-Blackwell, UK
- Weyland M., Hartel R. (2008). Emulsifiers in Confectionery. In: Hasenhuettl G., Hartel R. (ed). *Food emulsifiers and their applications*, Springer, New York, pp 285-304
- Whitefield R. (2005). *Making Chocolates in the Factory*. Kennedy's Publications Ltd, London, UK
- Wirkowska M., Ostrowska-Ligęza E., Górska A., Koczoń P. (2012). Thermal properties of fats extracted from powdered baby formulas. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 110, 137–143.
- Zaidul I., Nik Nouralini N., Mohd Omar A., Smith Jr R. (2007). Blending of supercritical karbon dioxide (SC – CO₂) extracted palm kernel oil fractions and palm oil to obtain cocoa butter replacer. *Journal of Food Engineering* 78, 1397-1409.
- Ziegleder G., Amanitis A., Hornik H. (2004). Thickening of molten white chocolates during storage. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 37, 771–778.

Skład kwasów tłuszczowych w skielkowanych nasionach wybranych gatunków roślin

Maria Drzewicka¹, Izabela Uchrońska², Halina Grajeta¹

¹ Katedra i Zakład Bromatologii i Dietetyki, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

² Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Bromatologii i Dietetyki Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

Drzewicka M: maria.drzewicka@umed.wroc.pl

Streszczenie

Celem pracy była ocena zmian zawartości tłuszczu i udziału kwasów tłuszczowych podczas procesu kiełkowania nasion 9 gatunków roślin: brokułu, rzodkiewki, rzeżuchy, soi, fasoli mung, lucerny, słonecznika, lnu i sezamu. Ekstrakcję lipidów z badanych produktów przeprowadzono metodą Folcha, a oznaczenie składu kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej. Najwięcej tłuszczu zawierały nasiona słonecznika (59,95 % suchej masy – s.m.) i sezamu (58,66 % s.m.) oraz kiełki lnu (49,74 % s.m.) i słonecznika (48,57 % s.m.). Lipidy nasion i kiełków badanych gatunków roślin charakteryzowały się wysokim udziałem jednonienasyconych (MUFA), w zakresie 11,71% - 67,94% i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA), w granicach 25,81% - 70,2%. W sumie kwasów tłuszczowych lipidów nasion i kiełków rzodkiewki i brokułu stwierdzono duży udział kwasu erukowego w przedziale 28,73% - 45,40%. Zmiany zawartości tłuszczu i udziału poszczególnych kwasów tłuszczowych w kiełkach w porównaniu do nasion były zróżnicowane i nie obserwowano jednokierunkowej tendencji tych zmian. Ze względu na korzystny profil kwasów tłuszczowych o dużym udziale PUFA i MUFA skielkowane nasiona badanych gatunków roślin mogą wzbogacać dietę w te kwasy.

Słowa kluczowe: kiełki, kwasy tłuszczowe, zmiany podczas kiełkowania

Wstęp

Coraz większe zainteresowanie społeczeństwa zdrowym sposobem żywienia powoduje, że dużą popularnością wśród konsumentów cieszą się produkty spożywcze takie jak skiełkowane nasiona, przez wielu badaczy zaliczane do żywności funkcjonalnej. W sklepach i supermarketach powszechnie dostępne są nasiona różnych gatunków roślin przeznaczone do kiełkowania oraz kiełki gotowe do spożycia. Kiełki różnych gatunków roślin spożywano już w starożytnym Egipcie i w Chinach, ale popularność zdobyły w 20. wieku wraz ze wzrostem popytu na żywność nisko przetworzoną, o wysokiej wartości odżywczej i o korzystnym wpływie na organizm. Zgodnie z definicją zawartą w Dzienniku Urzędowym Unii Europejskiej L68/16 z 12 marca 2013r. są produktem uzyskanym w wyniku kiełkowania nasion i ich rozwoju w wodzie lub innym nośniku, zbieranym przed wykształceniem się właściwych liści i przeznaczonym do spożycia w całości łącznie z nasionami [Dz. Urz. UE, 2013]. Uprawa kiełków w warunkach domowych jest tania, łatwa, nie wymaga specjalnego sprzętu ani nie zajmuje dużo miejsca. Kiełkującym nasionom należy zapewnić świeżą wodę, dostęp tlenu i umiarkowane nasłonecznienie. Najczęściej proces kiełkowania przeprowadza się w kiełkownicach składających się z ułożonych jedna na drugiej 2-3 tacach o karbowanym dnie, zawierających zawory odprowadzające nadmiar wody [Szulc i in., 2017].

Z uwagi na różnorodność smaków skiełkowane nasiona są atrakcyjnymi dodatkami do wielu potraw m. in. surówek i sałatek. Najbardziej popularne w uprawie kiełków są nasiona roślin strączkowych, takie jak: soja, fasola mung, soczewica; nasiona roślin oleistych m. in. lnu, słonecznika, sezamu, rzepaku; nasiona zbóż - pszenicy, żyta, jęczmienia i roślin pseudozbożowych- gryki, komosy ryżowej. Coraz częściej do hodowli kiełków wykorzystuje się także nasiona roślin z rodziny kapustowatych - brokułu, rzodkiewki, rzeżuchy, kapusty.

Kiełki w porównaniu do nasion odznaczają się większą zawartością składników odżywczych [Marton i in., 2010; Lewicki 2010]. Podczas procesu kiełkowania stwierdzono istotny wzrost ilości i biodostępności związków o działaniu antyoksydacyjnym, takich jak tokoferole, kwas askorbinowy oraz polifenole [Randhir i in. 2009; Samotyja i in., 2007; Świeca i in., 2012; Donkor i in., 2012; Pająk i in., 2014].

W lipidach kiełków dominują nienasycone kwasy tłuszczowe [Lewicki, 2010]. Wielonienasycone niezbędne kwasy tłuszczowe z rodziny n-3 (kwas α -linolenowy) oraz n-6

(kwas linolowy) nie mogą być syntetyzowane w organizmie człowieka ze względu na brak odpowiednich układów enzymatycznych, dlatego muszą być dostarczone z dietą. Długłańcuchowe wielonienasycone kwasy tłuszczowe: eikozapentaenowy (EPA, C20:5n-3), dokozaheksaenowy (DHA, C22:6n-3) oraz arachidonowy (AA, C20:4n-6), które z nich powstają w organizmie człowieka w wyniku procesów desaturacji i elongacji, są podstawowymi substratami w syntezie eikozanoidów [Tvrzicka i in., 2011; Lunn i Theobald, 2006].

Udowodniono korzystne działanie nienasyconych kwasów tłuszczowych w zapobieganiu wielu przewlekłym chorobom m.in. miażdżycy, cukrzycy typu 2, chorobom układu sercowo-naczyniowego i nowotworowym [de Souza i in., 2015; Deckelbaum i Torrejon, 2012]. Eikozanoidy, metabolity wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, zwłaszcza z rodziny n-3, wykazują działanie przeciwzapalne, antyagregacyjne oraz kardioprotekcyjne [Riediger i in., 2009].

Celem pracy było oznaczenie zawartości tłuszczu oraz składu kwasów tłuszczowych w nasionach i kiełkach wybranych gatunków roślin.

Materiał i Metody

Oznaczono zawartość tłuszczu i skład kwasów tłuszczowych w nasionach i kiełkach 9 gatunków roślin: z rodziny kapustowatych (*Brassicaceae*) - brokułu włoskiego (*Brassica oleracea var. Italica*), rzodkiewki (*Raphanus sativus var. Sativus*), pieprzycy siewnej (rzeżucha) (*Lepidum sativum L.*); z rodziny bobowatych (*Fabaceae*) - soi zwyczajnej (*Glycine max*), fasoli mung (*Vigna radiata*), lucerny siewnej (*Medicago sativa L.*) oraz z roślin oleistych- w nasionach lnu zwyczajnego (*Linum usitatissimum L.*) Inowate (*Linaceae*), słonecznika (*Helianthus annuus*), astrowate (*Asteraceae*) i sezamu indyjskiego (*Sesamum indicum L.*) pułapkowate *Pedaliaceae*). Nasiona pochodzące od 6 różnych producentów zakupiono w sklepach i supermarketach na terenie Wrocławia. Przed przystąpieniem do kiełkowania moczo je w destylowanej wodzie o temperaturze 20°C przez ilość godzin podaną przez producenta, a następnie wysiewano w kiełkownicy.

Kiełkowanie prowadzono w temperaturze 18-20°C, w miejscu o umiarkowanym nasłonecznieniu. Podczas kiełkowania nasiona płukano 2-4 razy dziennie wodą destylowaną. Czas kiełkowania był różny, zależał od gatunku rośliny oraz zaleceń

producentów i wynosił od 36 do 96 godzin. Czas moczenia i kiełkowania nasion przedstawiono w Tab. 1.

Tabela 1. Czas moczenia i kiełkowania nasion

Nasiona	Czas moczenia [h]	Czas kiełkowania [h]
Brokuł	4	48
Fasola mung	12	72
Lucerna	5	36
Pszenica	12	60
Rzeżucha	6	96
Rzodkiewka	4	48
Sezam	4	72
Siemię lniane	5	96
Słonecznik	12	84
Soja	12	60

Proces kiełkowania każdego rodzaju nasion przeprowadzano dwukrotnie. Kiełki płukano wodą destylowaną oraz osuszano na bibule. Przed przystąpieniem do badań nasiona i kiełki rozdrabniano i homogenizowano w celu uzyskania jednorodnej masy.

Ekstrakcję tłuszczu z 2g nasion lub 5g kiełków przeprowadzono metodą Folcha [Folch i in., 1959], a zawartość tłuszczu i suchej masy (s.m.) oznaczono wagowo [Norma PN-90/A-75101/03]. Analizę składu kwasów tłuszczowych wykonano metodą chromatografii gazowej, po uprzednim przeprowadzeniu ich w estry metylowe [Prescha i in., 2001]. Do próbki estryfikacyjnej pobierano taką ilość ekstraktu chloroformowego, aby zawierała 50 mg tłuszczu i odparowywano rozpuszczalnik w atmosferze azotu w temp. 40°C. Procesy zmydlania (za pomocą 0,5 mol/dm³ roztworu KOH w bezwodnym metanolu) i estryfikacji (1,25 mol/dm³ HCl w bezwodnym metanolu) wyekstrahowanego tłuszczu przeprowadzono w temp. 70°C. Po ochłodzeniu próbki estry metylowe kwasów tłuszczowych ekstrahowano n-heksanem

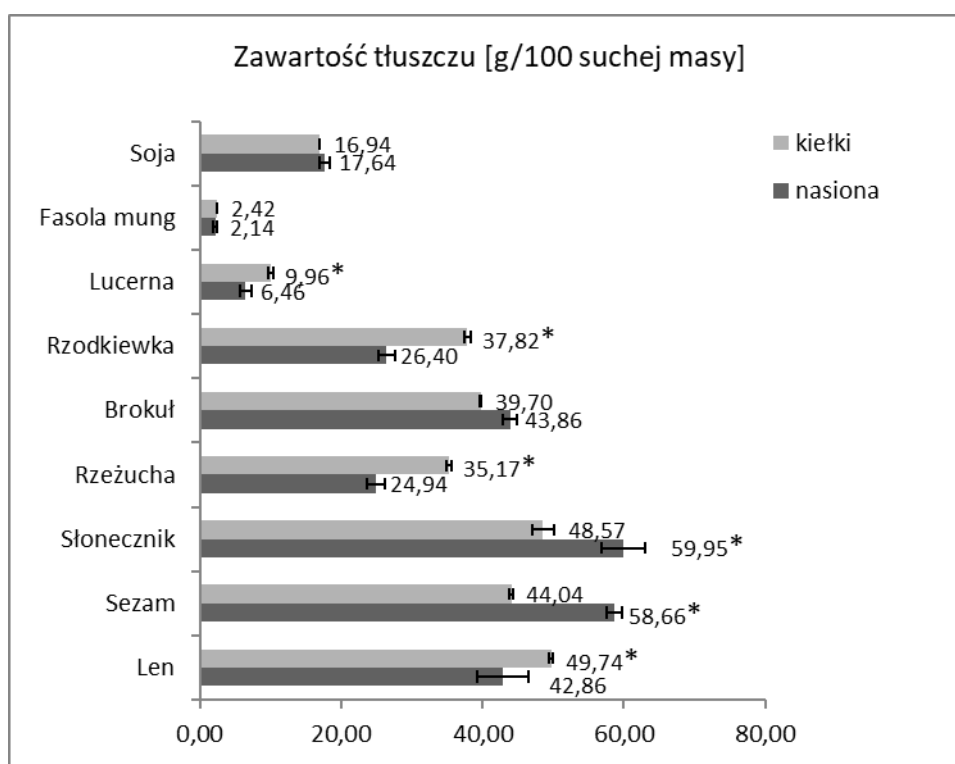
Oznaczenie składu kwasów tłuszczowych wykonano na chromatografie gazowym firmy Agilent Technology 6890 N, wyposażonym w detektor FID oraz dozownik typu split, w temp. programowanej od 165°C (10 min.) do 220°C, z narostem w tempie 2°C/min. Rozdział estrów metylowych kwasów tłuszczowych przeprowadzono na kolumnie kapilarnej o dł. 100 m, pokrytej fazą stacjonarną SP-2560 firmy Sigma – Aldrich o średnicy wewnętrznej 0,25 mm. Jako gaz nośny stosowano wodór o szybkości przepływu 1,5 cm³/min. Temperatura dozownika wynosiła 260°C, a temp. detektora 240°C. Do

identyfikacji kwasów tłuszczowych wykorzystano mieszaninę wzorców 37 estrów metylowych kwasów tłuszczowych firmy Sigma-Aldrich. Udział procentowy poszczególnych kwasów tłuszczowych w sumie wszystkich kwasów obliczono za pomocą programu komputerowego ChemStation v.B.04.02.SP2. Wyniki przedstawione w tabelach są średnią arytmetyczną z trzech równoległych powtórzeń laboratoryjnych, z dwóch procesów kiełkowania. Analizę statystyczną przeprowadzono w programie Statistica v.12. Istotność statystyczną różnic oceniono testem U Manna-Whitneya przy $p < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Zawartość tłuszczu w badanych produktach

Zawartość tłuszczu w nasionach i kiełkach przedstawiono na Rys.1 w g/100g suchej masy (s. m.).



* - różnice istotne statystycznie

Rysunek1. Zawartość tłuszczu w badanych produktach

Najwięcej tłuszczu zawierały nasiona słonecznika oraz sezamu – odpowiednio ok. 60 i 59 g/100g s.m., a najmniej nasiona fasoli mung – 2,14% s.m. Zawartość tłuszczu w większości badanych produktów była zbliżona do danych z piśmiennictwa [Marton i in.,

2010; Pysz i in., 2006; Pal i in., 2010; Liu, 2011]. Ilość tłuszczu w nasionach mogła być związana z warunkami klimatycznym i rodzajem gleby oraz z różnymi metodami uprawy roślin.

W kielkach zawartość tłuszczu mieściła się w zakresie od 2,42% s.m. (kielki fasoli mung) do 49,74% s.m. (kielki Inu). W kielkach 3 gatunków roślin (brokułu, słonecznika i sezamu) ilość tłuszczu była mniejsza o 10%-25% w porównaniu do nasion. Tłuszcz ten został prawdopodobnie wykorzystany przez kiełkujące rośliny jako źródło energii [Pysz i in., 2006]. W wyniku procesu kiełkowania nasion pozostałych gatunków roślin: fasoli mung, Inu, rzodkiewki, rzeżuchy oraz lucerny stwierdzono natomiast istotny wzrost zawartości lipidów (od 13% do 54%). Podobny kierunek zmian wykazali również inni autorzy [Pysz i in., 2006; Marton i in., 2010]. Kiełkowanie nasion jest procesem dynamicznym, najpierw w fazie katabolicznej następuje hydroliza składników stanowiących materiał zapasowy nasiona m.in. lipidów, które wykorzystywane są w procesach metabolicznych. Następnie w fazie anabolicznej uruchamiana jest synteza nowych składników komórkowych, stąd zawartość lipidów może zwiększać się w miarę wzrostu kiełkującej rośliny.

Skład kwasów tłuszczowych w badanych nasionach i kielkach

W Tab. 2 przedstawiono udział sumy nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA), jednonienasyconych (MUFA) i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) w sumie wszystkich kwasów tłuszczowych w nasionach i kielkach. Najwięcej SFA zawierały nasiona i kielki fasoli mung, odpowiednio 30,63% i 36,78%, a najmniej kielki i nasiona brokułu (5,82% i 6,18%). Ilość SFA wzrosła podczas kiełkowania nasion fasoli mung ok. 20%, lucerny ok. 13%, Inu ok. 11%, a w tłuszczu kielków pozostałych roślin nie zmieniła się.

Udział sumy MUFA w nasionach i kielkach brokułu, rzodkiewki oraz słonecznika mieścił się w zakresie 42,32% - 67,94%. Najmniej MUFA (od 11,71% do 16,85%) zawierały kielki fasoli mung, lucerny oraz soi. Udział MUFA obniżył się w kielkach lucerny (o ok. 16%), słonecznika (o 11%), natomiast zwiększył się 2-krotnie w kielkach fasoli mung.

Najwięcej PUFA, w granicach 60-70%, stwierdzono w nasionach i kielkach lucerny, soi i Inu. Najmniejszą ilość PUFA wykazano w kielkach brokułu oraz rzodkiewki. W porównaniu do nasion w kielkach słonecznika ilość PUFA wzrosła o ok. 12%, obniżyła się natomiast o 36% w kielkach fasoli mung. Udział PUFA w nasionach Inu w niniejszej pracy był 1,5-krotnie większy od wyników przedstawionych w piśmiennictwie [Ryan i in., 2007].

Tabela 2. Udział sumy SFA, MUFA i PUFA (% sumy wszystkich kwasów) w lipidach badanych nasion i kiełków [średnia ± SD]

Produkt		Σ SFA	Σ MUFA	Σ PUFA	Σ PUFA _{n-6}	Σ PUFA _{n-3}
Soja	Nasiona	16,44±0,27	16,85±0,59	65,89±0,87	54,62±0,72	11,27±0,15
	Kiełki	17,50±0,58	16,69±0,90	65,15±1,41	53,67±1,11	11,48±0,33
Fasola mung	Nasiona	30,63±1,10	11,71±3,17	55,86±2,30	38,24±1,76	17,62±0,59
	Kiełki	36,78±3,44*	23,37±5,81*	35,53±2,64*	21,32±2,00*	14,21±1,23*
Lucerna	Nasiona	14,37±0,03	13,97±0,27	69,57±0,32	39,31±0,13	30,26±0,21
	Kiełki	16,19±0,29*	11,78±0,40*	70,20±0,49	39,60±0,20	30,60±0,38
Rzodkiewka	Nasiona	9,09±0,05	61,32±0,14	28,90±0,10	13,50±0,08	15,41±0,06
	Kiełki	9,16±1,19	59,65±0,71*	30,52±0,80*	13,46±0,25	16,56±0,58
Brokuł	Nasiona	5,82±0,03	67,94±0,23	25,81±0,17	15,88±0,12	9,92±0,07
	Kiełki	6,18±0,59	66,55±1,60	26,65±1,08	16,28±1,06	10,37±0,16
Rzeżucha	Nasiona	15,44±0,36	32,68±0,49	50,28±0,40	9,91±0,42	40,37±0,49
	Kiełki	15,88±0,33	32,88±0,34	49,69±0,58	10,14±0,34	39,55±0,71
Słonecznik	Nasiona	9,89±0,11	47,63±0,38	41,45±0,19	41,09±0,16	0,35±0,05
	Kiełki	10,60±0,24	42,32±1,63*	46,24±1,44*	45,81±1,42*	0,43±0,08*
Sezam	Nasiona	15,93±0,73	38,39±0,54	43,86±2,26	43,49±2,09	0,37±0,18
	Kiełki	15,78±0,32	38,82±0,20	44,99±0,43	43,71±0,45	1,27±0,07*
Len	Nasiona	9,94±0,73	21,18±1,58	61,97±4,96	15,02±1,19	46,95±3,77
	Kiełki	11,05±0,26*	21,91±0,44	66,11±0,52*	15,40±0,38	50,71±0,6*

* różnice istotne statystycznie, SD- odchylenie standardowe, Σ SFA = C12 + C14 + C16 + C17 + C18 + C20 + C22 + C24; Σ MUFA = C16:1 + C17:1 + C18:1 n9 + C18:1 n7 + C20:1 + C22:1 + C24:1; Σ PUFA = C18:2 n6 + C18:3 n3.

W większości badanych próbek udział PUFA z rodziny n-6 przewyższał ilości PUFA z rodziny n-3, z wyjątkiem nasion i kiełków lnu, rzeżuchy i rzodkiewki. Największą ilość PUFA z rodziny n-6 stwierdzono w nasionach i kiełkach soi, sezamu oraz słonecznika, a najwięcej PUFA z rodziny n-3 w nasionach i kiełkach lnu, rzeżuchy oraz lucerny, a więc mogą one stanowić cenne uzupełnienie diety w te kwasy.

Skład kwasów tłuszczowych w lipidach nasion i kiełków

Udział kwasu palmitynowego (C16:0), głównego przedstawiciela SFA w badanych produktach był bardzo zróżnicowany. W największej ilości występował on w nasionach i kiełkach fasoli mung (>20%) oraz soi (ok. 11%). Zawartość tego kwasu wrosła znacząco podczas procesu kiełkowania nasion fasoli mung i lnu. W niniejszej pracy udział kwasu palmitynowego w nasionach i kiełkach lucerny, rzodkiewki i słonecznika był od 25 % do 50 % niższy w porównaniu z danymi z piśmiennictwa [Marton i in., 2010].

Tabela 3. Udział wybranych kwasów tłuszczowych w lipidach nasion i kielków roślin z rodziny bobowatych (% sumy wszystkich kwasów) [średnia ± SD]

Kwasy tłuszczowe	Produkt					
	Soja		Fasola mung		Lucerna	
	Nasiona	Kielki	Nasiona	Kielki	Nasiona	Kielki
C14:0	0,13±0,01	0,14±0,03	0,30±0,05	0,73±0,18*	0,18±0,00	0,22±0,01
C16:0	11,21±0,17	11,83±0,36	21,15±0,74	25,84±2,56*	10,36±0,01	11,53±0,20*
C18:0	4,13±0,09	4,33±0,21	5,76±0,22	5,88±0,58	2,29±0,02	2,55±0,04
C18:1n9	15,25±0,53	14,74±0,84	7,20±1,52	13,96±4,72*	9,84±0,06	10,02±0,28
C18:2n6	54,60±0,72	53,67±1,11	37,97±1,75	20,62±2,01*	39,15±0,12	39,42±0,20
C20:1n9	0,16±0,03	0,19±0,04	0,92±0,36	1,82±0,52*	0,39±0,01	0,24±0,01*
C18:3n3	11,27±0,15	11,48±0,33	17,52±0,63	13,63±1,08*	29,69±0,20	30,10±0,38
C22:0	0,43±0,02	0,51±0,02	1,35±0,05	1,32±0,17	0,64±0,00	0,82±0,02
C22:1n9	<0,10	0,18±0,10	2,59±1,32	5,60±1,77*	2,86±0,20	0,32±0,24*

* różnice istotne statystycznie, SD- odchylenie standardowe

Tabela 4. Udział wybranych kwasów tłuszczowych w lipidach nasion i kielków roślin z rodziny kapustowatych (% sumy wszystkich kwasów) [średnia ± SD]

Kwasy tłuszczowe	Produkt					
	Rzodkiewka		Brokuł		Rzeżucha	
	Nasiona	Kielki	Nasiona	Kielki	Nasiona	Kielki
C14:0	<0,10	-	<0,10	<0,10	0,15±0,05	0,16±0,04
C16:0	5,90±0,04	6,28±0,78	2,49±0,03	2,87±0,46	8,69±0,40	9,05±0,33
C18:0	1,31±0,02	1,48±0,38	1,13±0,01	1,20±0,14	2,80±0,07	2,86±0,16
C18:1n9	20,93±0,11	19,74±0,18	12,40±0,06	12,39±0,42	25,96±0,86	26,22±0,22
C18:2n6	12,75±0,08	12,75±0,23	14,46±0,13	14,87±1,12	9,57±0,34	9,74±0,35
C20:1n9	8,39±0,01	8,10±0,22	7,58±0,02	7,12±0,02	0,50±0,06	0,49±0,02
C18:3n3	15,08±0,07	16,31±0,45	9,08±0,06	9,45±0,11	40,35±0,49	39,49±0,71
C22:0	0,63±0,04	0,67±0,02	0,95±0,01	0,89±0,04	0,68±0,07	0,83±0,15
C22:1n9	29,10±0,07	28,73±0,84	45,40±0,26	44,45±1,61	3,74±0,39	3,64±0,25

* różnice istotne statystycznie, SD- odchylenie standardowe

Tabela 5. Udział wybranych kwasów tłuszczowych w lipidach nasion i kielków roślin oleistych (% sumy wszystkich kwasów) [średnia ± SD]

Kwasy tłuszczowe	Produkt					
	Słonecznik		Sezam		Len	
	Nasiona	Kielki	Nasiona	Kielki	Nasiona	Kielki
C14:0	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10	<0,10
C16:0	5,45±0,06	6,10±0,22	9,87±0,37	9,82±0,13	4,89±0,37	6,21±0,22*
C18:0	3,36±0,06	3,32±0,08	5,24±0,21	4,98±0,09	4,64±0,34	4,31±0,05
C18:1n9	46,42±0,32	40,87±1,67*	37,53±0,55	37,08±0,28	20,07±1,57	20,80±0,43
C18:2n6	41,08±0,18	45,65±1,41*	43,45±2,08	43,69±0,48	15,02±1,19	15,36±0,37
C20:1n9	-	0,21±0,01	0,20±0,01	0,23±0,03	-	-
C18:3n3	0,32±0,04	0,18±0,09*	0,44±0,03	1,24±0,07*	46,81±3,76	50,55±0,64*
C22:0	0,72±0,01	0,67±0,02	0,13±0,02	0,18±0,05	-	-
C22:1n9	<0,10	-	<0,10	0,29±0,13	0,19±0,01	0,16±0,04

* różnice istotne statystycznie, SD- odchylenie standardowe

Badane produkty zawierały bardzo małe ilości kwasu mirystynowego (C14:0) i behenowego (C22:0), poniżej 1%, a udział kwasu stearynowego (C18:0) był najwyższy w kielkach i nasionach fasoli mung i sezamu (Tab. 4 i 5).

Spośród MUFA w większości badanych produktów dominował kwas oleinowy (18:1 n-9). Najwięcej tego kwasu (w przedziale od 25,96% do 46,42%) zawierały nasiona i kielki słonecznika, sezamu oraz rzeżuchy. Największe zmiany w jego udziale, ok. 2-krotny wzrost w porównaniu do nasion odnotowano po procesie kiełkowania fasoli mung. W nasionach i kielkach rzodkiewki i brokułu odnotowano ok. 8 % i 7,5 % kwasu eikozenowego (C20:1n-9).

Rośliny z rodziny *Brassicaceae* charakteryzują się szczególnie wysokim udziałem kwasu erukowego (C22:1 n-9) [Rahman, 2001]. W niniejszej pracy znaczące ilości tego kwasu występowały w nasionach i kielkach brokułu (ok. 45%) i rzodkiewki (ok. 29%). Wysoki udział kwasu erukowego w kielkach niektórych roślin z rodziny kapustowatych budzi kontrowersje z uwagi na jego niekorzystny wpływ na organizm człowieka i zwierząt doświadczalnych. Z drugiej strony w kielkach tych roślin stwierdzono wysoką zawartość glukorafaminy, która jest prekursorem sulforafanu wykazującego działanie przeciwnowotworowe i wielu innych związków o korzystnych właściwościach cytoprotekcyjnych [Gill i in., 2004; Ayaz i in., 2006; Taraseviiien i in., 2009].

Wśród PUFA n-6 dominował kwas linolowy (C18:2 n-6), którego wysoki udział, od 41% do 55%, stwierdzono w nasionach i kielkach soi, sezamu oraz słonecznika.

Najwięcej kwasu α -linolenowego (C18:3 n-3) zawierały nasiona i kielki lnu (od 47 % do 50 %) oraz rzeżuchy (ok. 40%) (Tab. 4 i 5), a 3-krotny wzrost ilości tego kwasu stwierdzono podczas kiełkowania nasion sezamu.

Aktywność lipaz biorących udział w hydrolizie triacylogliceroli, jak i desaturaz i elongaz odpowiedzialnych za syntezę kwasów tłuszczowych w komórkach roślinnych zależy od czynników, takich jak: czas moczenia nasion, temperatura otoczenia, dostęp światła, intensywność i czas nasłonecznienia prowadzonej hodowli kiełków, szybkość wzrostu siewki, różny czas uprawy kiełków. Stąd mogą wynikać różnice w tendencji zmian zawartości kwasów tłuszczowych w lipidach kiełkujących roślin stwierdzone przez różnych badaczy jak i w niniejszych badaniach. Wykazano, że zmiany składu kwasów tłuszczowych podczas procesu kiełkowania nie są charakterystyczne dla gatunku rośliny, a różnice występują również w obrębie kilku odmian przynależących do jednego gatunku [Kokten i in., 2011, Dhakal i in., 2009].

Podsumowanie

W lipidach kiełków i nasion roślin z rodziny bobowatych: soi, fasoli mung i lucerny oraz lnu spośród roślin oleistych dominowały PUFA. Tłuszcz kiełków i nasion z rodziny kapustowatych (z wyjątkiem rzeżuchy) zawierał najwięcej MUFA. W nasionach i kiełkach sezamu i słonecznika udział MUFA i PUFA był zbliżony. W procesie kiełkowania nasion nie obserwowano jednakowej tendencji zmian w zawartości tłuszczu, jak i udziału poszczególnych kwasów tłuszczowych w kiełkach w porównaniu do nasion. Zmiany profilu kwasów tłuszczowych w kiełkach były zróżnicowane i nie zależały od przynależności rośliny do określonej rodziny. Ze względu na korzystny profil kwasów tłuszczowych o dużym udziale PUFA i MUFA skiełkowane nasiona badanych gatunków roślin mogą wzbogacać dietę w te kwasy.

Literatura

- Ayaz F.A., Glew R.H., Millson M., Huang H.S., Chuang L.T., Sanz C., Hayirlioglu-Ayaz S. (2006). Nutrient contents of kale (*Brassica oleraceae* L. var. *acephala* DC.). *Food Chem* 96, 572–579.
- de Souza R.J., Mente A., Maroleanu A., Cozma A.I., Ha V., Kishibe T., Uleryk E., Budyłowski P., Schönemann H., Beyene J., Anand S S. (2015). Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ* 351:h3978.
- Deckelbaum R.J., Torrejon C. (2012). The omega-3 fatty acid nutritional landscape: health benefits and sources. *J. Nutr.* doi: 10.3945/jn.111.148080.
- Dhakal K.H., Jeong Y.-S. i in. (2009). Fatty acid composition in each structural part of Soybean seed and sprout. *JCSB* (2), 97 - 101.
- Donkor ON, Stojanovska L, Ginn P, Ashton J., Vasiljevic T. (2012). Germinated grains – Sources of bioactive compounds. *Food Chem* 135: 950-959.
- Folch J., Less M., Sloane G.H. (1959.) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J Biol Chem* 226, 497-509.
- Gill C. R., Haldar S., Porter S., Matthews S., Sullivan S., Coulter J., McGlynn H., Rowland I. (2004). The effect of cruciferous and leguminous sprouts on genotoxicity, in vitro and in vivo. *Cancer Epidem Biomar* 13, 1199-1205.

- Kokten K., Bakoglu A. i in. (2011). Chemical composition of the seeds of some *Medicago* species. *Chem Nat Compd* 4,47, 619 - 621.
- Lewicki P.P. (2010). Kiełki nasion jako źródło cennych składników odżywczych. *Żywn Nauk Technol Jakość* 73, 18-33.
- Liu K. (2011). Comparison of lipid content and fatty acid composition and their distribution within seeds of 5 small grain species. *J Food Sci* 76, C334-C342.
- Lunn J., Theobald H. E. (2006). The health effects of dietary unsaturated fatty acids. *British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin* 31, 178-224.
- Marton M., Mandoki Z., Csapo J. (2010). Evaluation of biological value of sprouts I. Fat content, fatty acid composition. *Acta Univ Sapientiae Alimentaria*. 3, 53-65.
- Norma PN-90/A-75101/03. Oznaczenie zawartości suchej masy.
- Pająk P, Socha R, Gałkowska D, et al. (2014). Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. *Food Chem* 143: 300-306.
- Pal M., Brahmachary R.L., Ghosh M. (2010). Comparative studies on physicochemical and biochemical characteristics of scented and non- scented strains of mung beans (*Vigna radiata*) of indian origin. *Legume Res* 33, 1-9.
- Prescha A., Świedrych A., Biernat J., Szopa J. (2001). Increase in lipid content in potato tubers modified by 14-3-3 gene over expression. *J Agric Food Chem* 49:3638–3643.
- Pysz M., Pisulewski P.M., Leszczyńska T. (2006). Wpływ oddziaływania impulsowego i ciągłego pola mikrofalowego na wartość żywieniową i właściwości przeciwutleniające kiełkowanych nasion soi. *Żyw. Nauk Technol Ja* 46, 102-116.
- Rahman M.H. (2001). Fatty acid composition of resynthesized *Brassica napus* and trigenic *Brassica* void of genes for erucic acid in their A genomes. *Plant Breeding* 121, 357-359.
- Randhir R, Kwon YI, Shetty K. (2008). Effect of thermal processing on phenolics, antioxidant activity and health-relevant functionality of select grain sprouts and seedlings. *Innov Food Sci Emerg* 9: 355-364.
- Riediger N.D., Othman R.A., Suh M., Moghadasian M.H. (2009). A systemic review of the roles of n-3 fatty acids in health and disease. *J Am Diet Assoc* 109:668-679.
- Rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) nr 208/2013 z dnia 11 marca 2013 r. w sprawie wymogów dotyczących możliwości śledzenia kiełków i nasion przeznaczonych do produkcji kiełków. *Dz. Urz. UE L* 68/16 z 12 marca 2013 r.

- Ryan E., Galvin K., O'Connor T.P., Maguire A.R., O'Brien N.M. (2007). Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes. *Plant Foods Hum Nutr* 62, 85–91.
- Samotyja U, Zdziebłowski T, Szlachta M., Małecka M (2007). Przeciwutleniające właściwości ekstraktów z kiełków roślin. *Żywn Nauk Technol Jakość* 5(54): 122-128.
- Szulc J., Czaczyk K., Gozdecka G. (2017). Metody otrzymywania kiełków – od upraw domowych do produkcji przemysłowej. *Żywn Nauk Technol Jakość* 24, 3 (112), 27 – 40.
- Świeca M, Gawlik-Dziki U, Dziki D., Baraniak B. (2012). Kiełki brokołu jako źródło potencjalnie bioprzyswajalnych antyoksydantów. *Bromat Chem Toksykol* 45(3): 488-493.
- Taraseviiien Z., Danilenko E., Jarien E. i wsp.(2009). Changes in some chemical components during germination of broccoli seeds. *Not Bot Hort Agrobot Cluj* 37, 173-176.
- Tvrzicka E., Kremmyda L.S., Stankova B., Zak A. (2011). Fatty acids as biocompounds: their role in human metabolism, health and disease – a review. Part 1: Classification, dietary sources and biological functions. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 155, 117–130.

Kwasy tłuszczowe wśród ryb

Agnieszka Góra, Joanna Szlinder-Richert

Zakład Chemii Żywności i Środowiska

Morski Instytut Rybacki-Państwowy Instytut Badawczy

Góra A: agnieszka.gora@mir.gdynia.pl

Streszczenie

Zachodzące w ciągu ostatniego wieku zmiany w diecie człowieka spowodowały wyraźny wzrost spożycia nasyconych kwasów tłuszczowych i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny n-6 oraz mniejsze spożycie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny n-3. Najlepszym sposobem poprawy tej sytuacji jest konsumpcja ryb i produktów rybnych, będących jedynym znaczącym źródłem kwasu eikozapentaenowego (20:5n-3, EPA) i dokozaheksaenowego (22:6n-3, DHA). Zgodnie z wynikami badań odgrywają one istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu całego organizmu jak również zmniejszają ryzyko występowania szeregu chorób cywilizacyjnych. Jednakże skład kwasów tłuszczowych w rybach jest bardzo zróżnicowany i zależy od wielu czynników. Są to wrodzone czynniki związane z biologią gatunku, w szczególności w odniesieniu do nawyków żywieniowych i tarła oraz czynniki zewnętrzne związane z warunkami środowiskowymi.

Celem niniejszej pracy było oznaczenie zawartości tłuszczu i kwasów tłuszczowych w sześciu gatunkach ryb złowionych w Zalewie Wiślanym, jednym z największych wewnętrznych akwenów morskich w Europie. Badania pozwoliły ocenić kompozycję kwasów tłuszczowych wśród badanych gatunków oraz ich walory prozdrowotne w porównaniu do innych gatunków ryb, między innymi morskich i hodowlanych.

Słowa kluczowe: n-3 PUFA, n-6 PUFA, EPA, DHA, Zalew Wiślany

Wstęp

Wzrost świadomości konsumentów dotyczący roli jaką odgrywa pożywienie i dostarczane z nim składniki odżywcze na stan zdrowia powoduje wzrost zainteresowania

spożywaną żywnością, jej składem i pochodzeniem. Ryby są powszechnie uważane za cenny produkt żywieniowy ze względu na wartość odżywczą. Na przestrzeni ostatnich lat ryby i produkty rybne zyskały w oczach konsumentów także ze względu na wysokie walory prozdrowotne [Thong i Solgaard, 2017]. Zawierają one białko bogate w niezbędne aminokwasy, mikro- i makroelementy, witaminy rozpuszczalne w tłuszczach, a przede wszystkim nienasycone kwasy tłuszczowe [Usydus i Szlinder-Richert, 2012a]. Nienasycone kwasy tłuszczowe w zależności od ilości wiązań podwójnych mogą być jednonienasycone (MUFA) lub wielonienasycone (PUFA). W skład PUFA mogą wchodzić wartościowe kwasy z rodziny n-3 i kwasy n-6. Liczba atomów węgla w łańcuchu, a także liczba i położenie wiązań podwójnych decyduje o właściwościach i roli w organizmie określonych kwasów tłuszczowych [Mozaffarian i Wu, 2011]. Niektóre PUFA określa się jako niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT), gdyż są potrzebne do prawidłowego funkcjonowania całego organizmu, zarówno człowieka jak i innych zwierząt [Sargent i in., 1999; Simopoulos, 2000]. Są wymagane na etapie rozwoju, wzrostu i funkcjonowania wszystkich narządów, ze względu na udział w wielu procesach regulacyjnych na poziomie komórkowym. Liczne badania wykazały ich pozytywny wpływ między innymi na rozwój podczas życia płodowego i we wczesnym dzieciństwie, prawidłowe funkcjonowanie mózgu i narządu wzroku, zmniejszenie śmiertelności i zapadalności na choroby sercowo-naczyniowe oraz zmniejszenie ryzyka występowania chorób nowotworowych [Tapiero i in., 2002; Hibbeln i in., 2007; Marciniak-Lukasiak, 2011]. Jednocześnie nie są one syntetyzowane przez organizmy zwierzęce w odpowiednich ilościach, dlatego muszą być dostarczane z pożywieniem [Nettleton, 1991; Gerster, 1998]. Dobrym źródłem kwasów n-3 są tłuszcze roślinne oraz rybne. Przy czym ryby są praktycznie jedynym istotnym źródłem długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, takich jak kwas dokozaheksaenowy (C22:6n-3, DHA) i kwas eikozapentaenowy (C20:5n-3, EPA) [Calder i Yaqoob, 2009].

Ze względu na pozytywne wielokierunkowe działanie kwasów tłuszczowych na ludzki organizm wiele organizacji uwzględniło je w zaleceniach dietetycznych [Kris-Etherton i in., 2009]. Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) w zaleceniach z 2010 roku rekomenduje u zdrowych osób dorosłych codzienne spożycie sumy EPA i DHA na poziomie 250-500 mg, przy czym kobiety w ciąży i w czasie laktacji oraz osoby z chorobami sercowo-naczyniowymi powinny spożywać tych kwasów więcej [Wang i in., 2006; Koletzko

i in., 2008]. Profilaktyczne działanie kwasów tłuszczowych jest związane również ze wzajemną proporcją kwasów z rodzin n-6 do n-3, która ze względów prozdrowotnych powinna wynosić 2,5-5:1. Z kolei we współczesnej diecie mieszkańców krajów rozwiniętych proporcja ta jest znacznie wyższa (10-25:1) [Simopoulos, 1991; 2008]. Zmiany w zakresie spożycia kwasów z rodzin n-6 i n-3 obserwowane na przestrzeni ostatnich dziesięcioleci obejmują zauważalny wzrost ilości kwasu linolowego (LA, 18:2n-6) w stosunku do kwasu α -linolenowego (ALA, 18:3n-3) [Ailhaud i in., 2006]. LA i ALA mogą ulegać przemianom enzymatycznym, które polegają na wprowadzeniu kolejnych wiązań podwójnych pod wpływem określonej desaturazy oraz wydłużeniu łańcucha węglowodorowego przy udziale enzymu elongazy. Powstają w ten sposób długołańcuchowe wielonienasycone kwasy tłuszczowe posiadające zasadniczą aktywność biologiczną. Przy czym w przemianach tych LA i ALA konkurują o te same enzymy, dlatego przewaga LA prowadzi do większej koncentracji kwasu arachidonowego (ARA, 20:4n-6) i hamowanie syntezy EPA i DHA, co może doprowadzić do zaburzenia równowagi fizjologicznej [Goyens i in., 2006; Brenna i in., 2009].

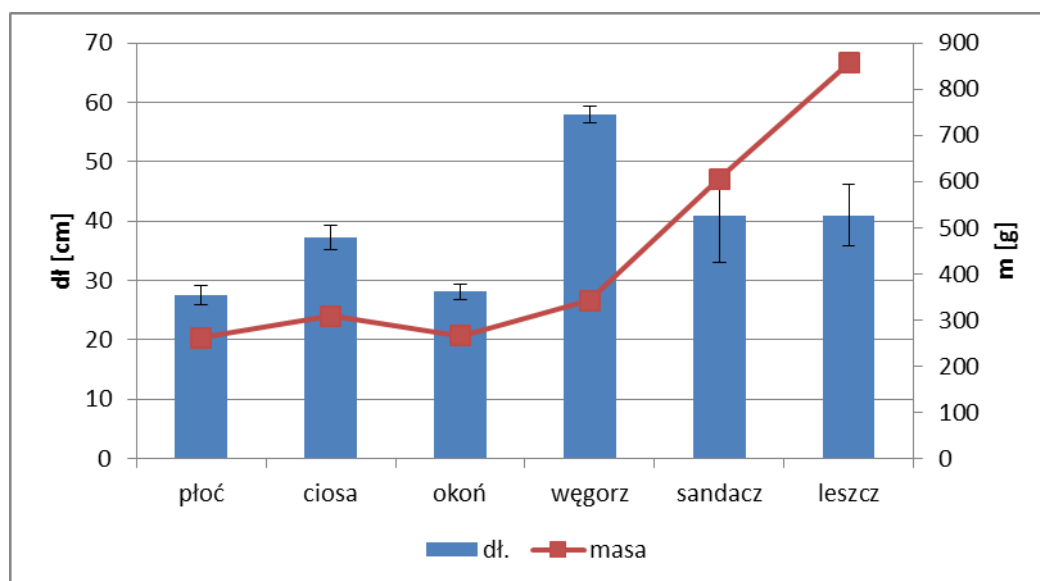
Spożycie nienasyconych kwasów tłuszczowych różni się pomiędzy różnymi grupami populacyjnymi i często nie pokrywa dziennego zapotrzebowania na nie [Sioen i in., 2006; 2017; Sheppard i Cheatham, 2018]. Spożycie ryb w Polsce jest oceniane jako zbyt niskie, a rezultaty badań wskazują na potrzebę ich zwiększenia [Verbeke i in., 2005; Pieniak i in., 2011; Bros-Konopielko i in., 2017]. Jednakże ryby również posiadają ograniczone zdolności syntetyzowania NNKT. W przypadku ryb zawartość kwasów tłuszczowych warunkuje wiele czynników. Są to wrodzone czynniki związane z biologią gatunku, w szczególności w odniesieniu do nawyków żywieniowych i tarła [Rojbek i in., 2012; Sushchik i in., 2017] oraz czynniki zewnętrzne związane z warunkami środowiskowymi [Celik i in., 2005; Gladyshev i in., 2015; Strandberg i in., 2016]. W związku z tym różne gatunki ryb, charakteryzują się dużym zróżnicowaniem w składzie kwasów tłuszczowych, a zwłaszcza w zawartości cennych dla zdrowia EPA i DHA. Dodatkowo stężenie EPA i DHA zależy oczywiście także od zawartości tłuszczu w rybie, która z kolei dla danego gatunku ryby zależy m.in. od sezonu połowu [Jensen i in., 2007; Szlinder-Richert i in., 2010; Usydus i in., 2012b]. W chwili obecnej szczególną uwagę należy zwrócić też na ryby pochodzące z akwakultury, gdyż od 2015 roku już połowę konsumowanych na świecie ryb stanowią te hodowlane [FAO, 2016]. Głównymi producentami są Chiny (ponad 60% globalnej

produkcji) oraz Indie, Wietnam, Bangladesz i Egipt. Skład kwasów tłuszczowych w przypadku ryb hodowanych zależy od warunków hodowli oraz jakości paszy [Sargent i in., 1999; Seierstad i in., 2005]. Z kolei na przestrzeni ostatnich kilkunastu lat zaobserwowano istotne zmiany w składzie komponentów stosowanych do produkcji pasz [Sissener, 2018]. Coraz częściej olej rybny zastępowany jest coraz większą ilością różnych olejów roślinnych co skutkuje wzrostem zawartości kwasów tłuszczowych z rodziny n-6 (głównie LA) i zmniejszeniem zawartości EPA i DHA w mięsie ryb, co jest zjawiskiem niekorzystnym dla konsumenta [Turchini i in., 2009].

Celem niniejszej pracy było oznaczenie zawartości tłuszczu i kwasów tłuszczowych u sześciu najczęściej poławianych gatunków ryb słodkowodnych z Zalewu Wiślanego, jednego z największych wewnętrznych akwenów morskich w Europie (drugi po Zalewie Kurońskim). Badania miały na celu ocenę kompozycji kwasów tłuszczowych w badanych gatunkach oraz ich walorów zdrowotnych w porównaniu do innych gatunków ryb.

Materiał i metody

Zalew Wiślany zlokalizowany jest w południowo-wschodniej części wybrzeża Morza Bałtyckiego u wybrzeży Polski i obwodu kaliningradzkiego Federacji Rosyjskiej. Z 838 km² powierzchni Zalewu Wiślanego, 328 km² leży w granicach Polski. Szczególny charakter Zalewu Wiślanego stwarza możliwość bytowania w nim wielu gatunków ryb [Chubarenko i Margonski, 2008]. Do badań wytypowano występujące w wodach Zalewu Wiślanego gatunki: sandacz (*Sander lucioperca*), okoń (*Perca fluviatilis*), ciosa (*Pelecus cultratus*), leszcz (*Abramis brama*), płoć (*Rutilus rutilus*) i węgorz (*Anguilla anguilla*). Ryby były odławiane wiosną ze strefy przybrzeżnej polskiej części Zalewu Wiślanego. Materiał do analiz stanowiła tkanka mięśniowa ryb. Charakterystykę badanych gatunków ryb przedstawiono na Rys. 1.



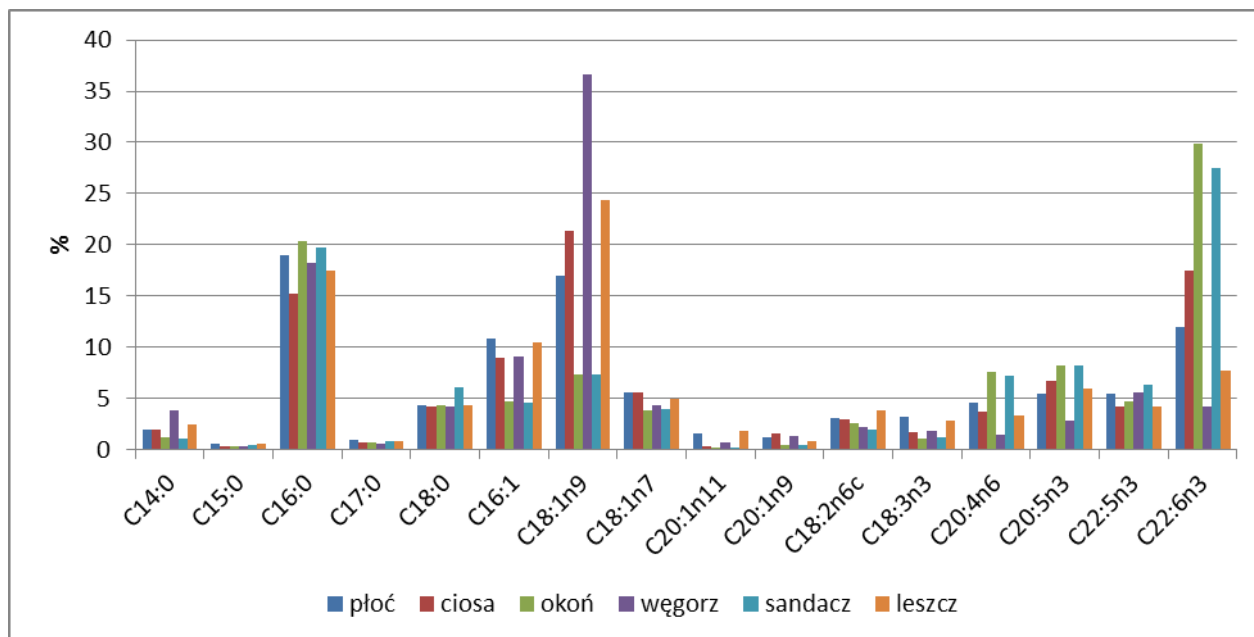
Rysunek 1. Długość i masa badanych gatunków ryb

Sandacz, okoń i ciosa uważane są za gatunki drapieżne, przy czym moment przejścia na drapieżnictwo jest różny dla każdego gatunku i specyficzny dla danego środowiska, natomiast leszcz, płoć i węgorz za gatunki bentosożerne. Wszystkie osobniki były mierzone i ważone, następnie tkankę mięśniową homogenizowano i liofilizowano. Próbkę ekstrahowano metodą Folcha [Folch i in., 1957]. W uzyskanym ekstrakcie zawartość tłuszczu obliczono metodą grawimetryczną. Analizę chromatograficzną kwasów tłuszczowych wykonano po uprzednim przeprowadzeniu ich w odpowiednie estry metylowe zgodnie z metodyką opisaną w pracy Usydus i in. [2011], z użyciem chromatografu gazowego z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (GC-FID).

Analizy statystyczne przeprowadzono przy pomocy programu Statistica. Do scharakteryzowania i rozróżnienia zebranych próbek zastosowano analizę skupień i analizę czynnikową.

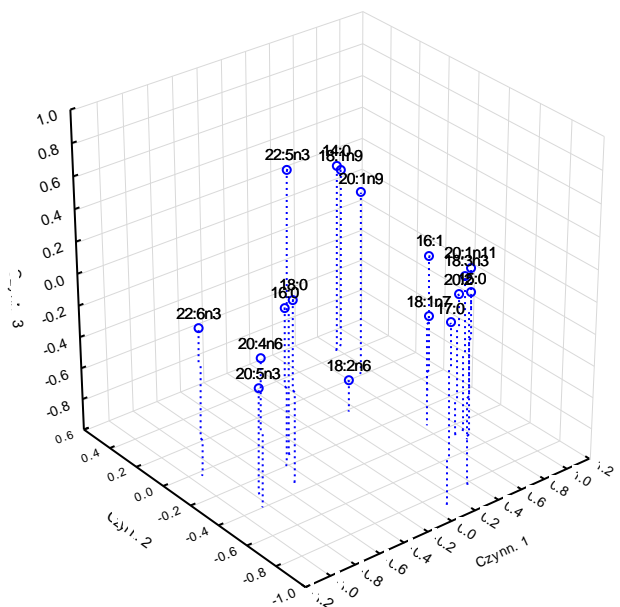
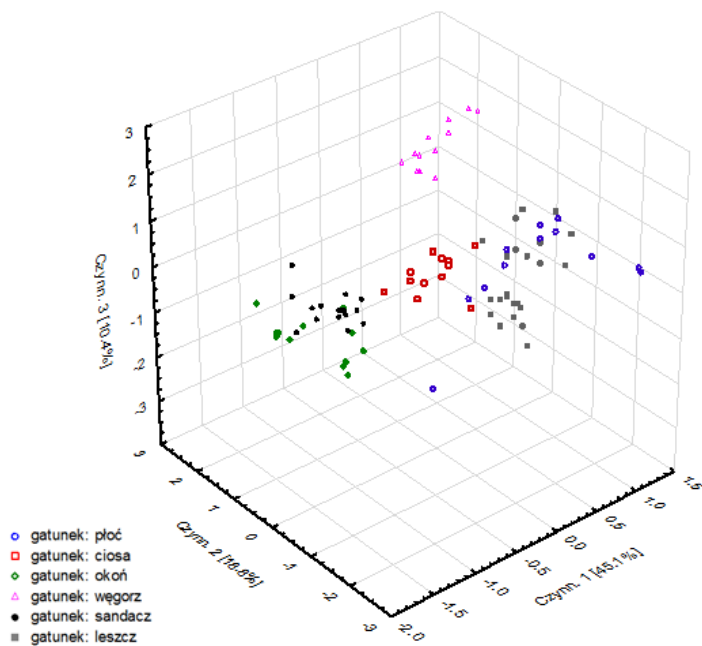
Wyniki i dyskusja

Spośród 38 oznaczanych kwasów tłuszczowych 16 stanowiło od 95,6% do 97,3% sumy wszystkich kwasów i te kwasy uwzględniono w dalszych analizach (Rys. 2).



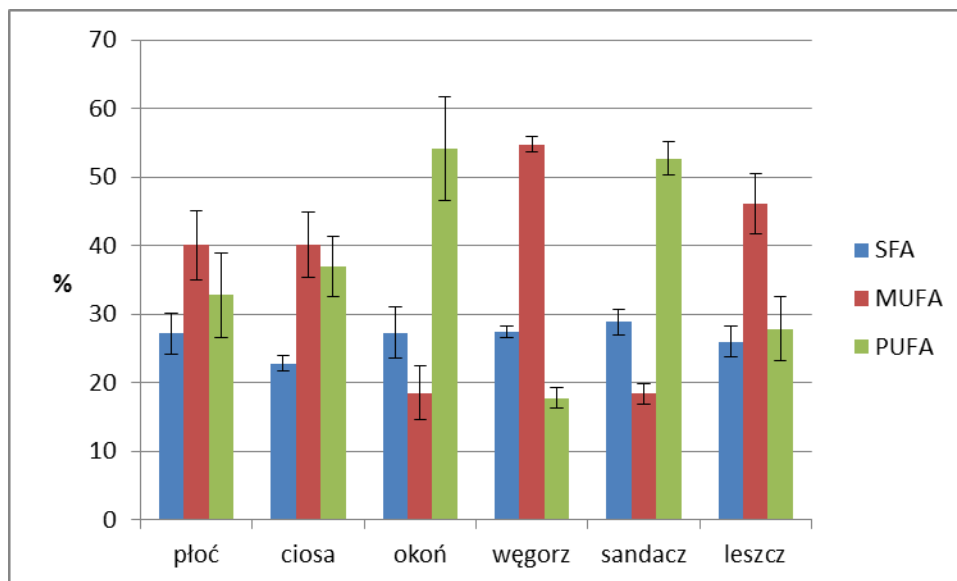
Rysunek 2. Udziały procentowe poszczególnych kwasów tłuszczowych w tkance mięśniowej badanych gatunków

Metody chemometryczne oparte na zawartości kwasów tłuszczowych jako deskryptorów pozwoliły zidentyfikować kwasy tłuszczowe odpowiadające za występujące różnice międzygatunkowe oraz zilustrować zależności pomiędzy gatunkiem a charakterystyczną dla niego kompozycją kwasów tłuszczowych. Pierwsze trzy czynniki wyjaśniły sumarycznie 74,2% obserwowanej zmienności (Rys. 3). Pierwszy czynnik wyróżnił spośród badanych gatunków okonie i sandacze, które miały wysokie udziały ARA, EPA i DHA oraz niskie udziały kwasu palmitoleinowego (16:1n-7) i oleinowego (18:1n-9). Drugi czynnik oddzielał płoć i leszcze od cios i węgorzy. Był dodatnio skorelowany z kwasem mirystynowym (14:0) i oleinowym oraz ujemnie z pozostałymi kwasami nasyconymi, 20:1n-11 i ALA. Trzeci czynnik, objaśniający 10,4% zmienności, miał wysoki ujemny ładunek czynnika dla LA i dodatni dla kwasu dokozapentaenowego (DPA, 22:5n3) i wydzielił węgorze.



Rysunek 3. Wyniki analizy czynnikowej

Wysoka wartość odżywcza ryb wynika między innymi z tego, że zawarty w nich tłuszcz charakteryzuje się korzystnym dla zdrowia składem kwasów tłuszczowych. W tłuszczu ryb z Zalewu Wiślanego PUFA dominowały w przypadku ryb drapieżnych-sandacza i okonia, natomiast w pozostałych gatunkach w mniejszym lub większym stopniu dominowały MUFA (Rys.4).



Rysunek 4. Udziały procentowe SFA, MUFA i PUFA dla badanych gatunków

Najmniejsze zróżnicowanie pomiędzy badanymi gatunkami obserwowano dla kwasów nasyconych (SFA), których średni udział procentowy w sumie wszystkich kwasów wynosił od 22,8% dla ciosy do 28,9% w przypadku sandacza. Wśród badanych gatunków w grupie SFA dominował kwas palmitynowy (16:0), którego udziały wynosiły od 66,2% do 74,3%. W przypadku płoci był to też kwas o największym udziale procentowym w sumie wszystkich kwasów. Podobny poziom SFA (22-29%) zawierały ryby bałtyckie (dorsz *Gadus morhua callarias*, śledź *Clupea harengus*, łosoś *Salmo salar*) i hodowane w Polsce (karp *Cyprinus carpio*, pstrąg *Oncorhynchus mykiss*) [Usydus i in., 2011]. Z kolei panga *Pangasianodon hypophthalmus*, ryba hodowana w Wietnamie zawierała aż od 41% do 48 % SFA [Orban i in., 2008; Usydus i in., 2011; Manthey-Karl i in., 2016]. EFSA [2010] zaleca możliwie jak najniższe spożycie SFA oraz izomerów *trans* kwasów tłuszczowych, gdyż powodują one podwyższenie poziomu cholesterolu we krwi i zwiększenie ryzyka chorób sercowo-naczyniowych [Hu i in., 1999; Briggs i in., 2017]. Tłuszcze nasycone występują głównie w tłuszczu pochodzenia zwierzęcego oraz w żywności przetworzonej.

Największe różnice gatunkowe zaobserwowano dla kwasów nienasyconych. Zawartość MUFA wynosiła 54,8% sumy wszystkich kwasów w przypadku węgorza, 46,2% leszcza oraz 40,1% i 40,2% odpowiednio płoci i ciosy. Natomiast w przypadku sandacza i okonia, wynosiła odpowiednio 18,4% i 18,5%. W grupie MUFA dominował kwas oleinowy, który dodatkowo dla węgorza, leszcza i ciosy miał największy udział procentowy spośród wszystkich kwasów. Dla węgorza stanowił on aż 67% MUFA i 36,7% sumy wszystkich

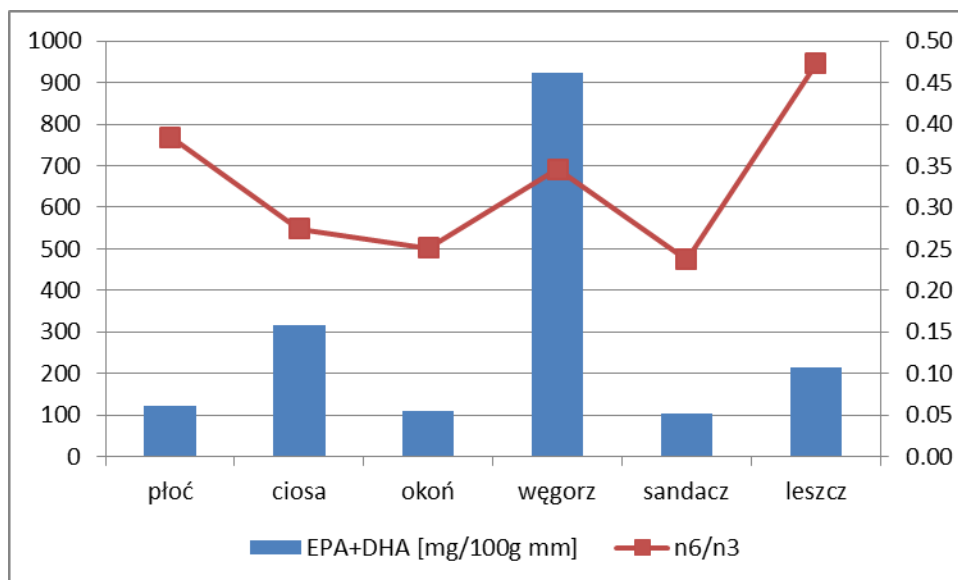
kwasów, natomiast w przypadku okonia i sandacza analogicznie 40% i 7%. Wysokimi udziałami wyróżniały się także kolejno kwas palmitoleinowy oraz kwas wakcenyowy (18:1n-7). Badane gatunki charakteryzowały się istotnymi różnicami w zawartości kwasów 20:1n-11 i 20:1n-9. Ciosa odznaczała się wysoką zawartością 20:1n-9, natomiast leszcz i płoć 20:1n-11. Wysokie udziały procentowe MUFA są charakterystyczne dla węgorzy. W badaniach Prigge i in. [2012] niezależnie od rodzaju podawanego pokarmu zawartość MUFA w tkance mięśniowej węgorza *Anguilla anguilla* wynosiła od 53% do 59%. Z kolei niskie udziały MUFA charakteryzowały większe osobniki okonia i szczupaka z jeziora Lunzkiego w Austrii (odpowiednio 18,6% i 14,5%), natomiast płoć z tego zbiornika miała 25% MUFA [Kainz i in., 2017]. Kwas oleinowy jest głównym kwasem jednonienasyconym wielu gatunków ryb słodkowodnych i morskich [Usydus i in., 2011; Keinanen i in., 2017; Sushchik i in., 2017]. Jednakże w niektórych przypadkach wśród MUFA dominować może kwas palmitoleinowy tak jak w przypadku np. ryb płastugokształtnych takich jak *Pleuronectes platessa*, *Lepidopsetta polyxystra* i *Limanda aspera* [Iverson i in., 2002; Karl i in., 2013] lub różne izomery kwasów tłuszczowych zbudowanych z 20 albo 22 atomów węgla tak jak w przypadku np. śledzia *Clupea harengus* z Morza Północnego [Jensen i in., 2007] czy rejonu Nowej Szkocji [Budge i in., 2002].

W badanych rybach z Zalewu Wiślanego zawartość PUFA wynosiła od 18% do 54%, a gradacja przedstawiała się następująco: okoń> sandacz> ciosa> płoć> leszcz> węgorz. Wśród PUFA dominowały kwasy tłuszczowe zbudowane z 22 atomów węgla (C22PUFA), następnie zbudowane z 20 atomów węgla (C20PUFA) i 18 atomów węgla (C18PUFA). Spośród PUFA dla wszystkich gatunków za wyjątkiem węgorza największe udziały procentowe miał DHA. W przypadku okonia i sandacza był to też kwas o największej zawartości procentowej w sumie wszystkich kwasów (odpowiednio 30% i 28%). Z kolei u węgorzy udział DHA w sumie wszystkich kwasów wynosił od 2,2% do 5,7%. Dla węgorzy największe udziały w grupie PUFA miał DPA- od 4,6% do 7,5%. Jego średnia zawartość wśród innych gatunków wynosiła od 4,2% dla ciosy i leszcza do 6,3% dla sandacza. Zawartość procentowa EPA wynosiła od 2,8% do 8,3%, a gradacja przedstawiała się następująco: okoń> sandacz> ciosa> leszcz> płoć> węgorz. Okoń i sandacz miały również najwyższe udziały ARA, odpowiednio 7,6% i 7,2%. W przypadku pozostałych gatunków jego zawartość wynosiła od 1,4% dla węgorzy do 4,5% dla płoci. Wysokie udziały PUFA są charakterystyczne dla ryb mięsożernych, takich jak okoń i sandacz, z kolei ryby

planktonożerne zawierają więcej MUFA i mniej PUFA [Williams i in., 2014; Vasconi i in., 2015]. Złowiony w Zbiorniku Krasnojarskim okon miał podobne udziały procentowe, natomiast płoć i leszcz zawierały więcej ARA, EPA i DHA, a mniej MUFA niż badane ryby [Sushchik i in., 2017]. W przypadku węgorza zbliżone udziały procentowe kwasów tłuszczowych miał *Anguilla japonica*, przy czym miał on więcej LA i ALA, a DPA mniej niż węgorz z Zalewu Wiślanego. Jednocześnie w badaniach Oku i in. [2009] dziki węgorz miał więcej C18PUFA niż hodowlany, który z kolei miał więcej EPA i DHA. Istotny jest również udział LA i ALA wśród badanych gatunków, gdyż są to kwasy uważane za prekursory długołańcuchowych kwasów wielonienasyconych. Zgodnie z wynikami badań założono, iż ryby słodkowodne posiadają zdolności enzymatyczne przekształcania LA i ALA w długołańcuchowe kwasy tłuszczowe, natomiast ryby morskie takich zdolności nie wykazują [Henderson i Tocher 1987; Ghioni i in., 1999; Tocher 2003]. Powyższą tezę w przypadku okonia potwierdzają badania Henrotte i in. [2011]. Wśród badanych gatunków zawartość procentowa LA wynosiła od 2,0% u sandacza do 3,8% u leszcza, a zawartość ALA od 1,0% u okonia do 3,1% u płoci. Wysokie zawartości C18PUFA z reguły są stwierdzane w rybach hodowlanych, ze względu na obecność w paszy olejów roślinnych [Cahu i in., 2004]. Jednocześnie ryby słodkowodne mają więcej C18PUFA niż ryby morskie, ze względu na dostępną w danym środowisku bazę pokarmową [Ozogul i in., 2007]. Zawartość LA i ALA u łososia, dorsza i śledzia z Morza Bałtyckiego wynosiła odpowiednio: 3,6%, 1,4% i 4,4% oraz 6,0%, 2,0% i 5,3%. Z kolei zawartość LA i ALA w hodowlanym karpniu, pstrągu, pandze i tilapii *Oreochromis niloticus* osiągała odpowiednio 7,3% i 5,9%; 6,5% i 7,2%; 9,5% i 1,4% oraz 14,9% i 3,9% [Usydus i in., 2011]. Stosunek LA do ALA dla badanych w pracy Usydus i in. [2011] gatunków mieścił się w zakresach: 0,6-0,8 u ryb bałtyckich; 0,9-1,2 u ryb hodowanych w Polsce i 3,8-6,8 u ryb hodowanych w Azji. Badane ryby charakteryzują się niskim współczynnikiem LA/ALA (od 0,96 u płoci do 2,4 u okonia) przez co korzystnie wpływają na kształtowanie tej proporcji w całkowitej diecie [Ailhaud i in., 2006]. Ryby wzbogacają dietę w kwasy tłuszczowe z rodziny n-3, których w innych tłuszczach jest niewielka ilość. W badanych rybach średnio suma kwasów n-3 wynosiła: 43% dla okonia i sandacza, 29% dla ciosy, 23% dla płoci, 19% dla leszcza oraz 13% dla węgorza. Udział kwasów n-6 był niski i mieścił się w zakresie od 4,6% dla węgorzy do 11% dla okonia. Ryby słodkowodne zawierają generalnie wyższy poziom kwasów n-6 i niższy n-3 niż ryby morskie. Dlatego stosunek całkowity kwasów n-3 do n-6 jest niższy dla ryb

słodkowodnych niż dla morskich. W rybach z Zalewu Wiślanego wartość n-3/n-6 wynosiła od 2,2 dla leszcza do 4,4 dla sandacza. Dane literaturowe podają wartość n-3/n-6 dla ryb słodkowodnych w zakresie 0,5-3,8 i dla ryb morskich w zakresie 4,7-14,4 [Henderson i Tocher, 1987; Napolitano, 1998]. Istotne prozdrowotne znaczenie ma właściwa proporcja kwasów tłuszczowych n-3 i n-6. Na przestrzeni ostatnich lat liczne badania wskazały znaczny wzrost w diecie człowieka n-6 PUFA, dotyczy to zwłaszcza LA. W Stanach Zjednoczonych zawartość LA w mleku kobiet karmiących wzrosła od 6-7% w roku 1944 do 15% w roku 1990, przy czym udział ALA pozostawał bez zmian. Poskutkowało to wzrostem wartości LA/ALA od 6-8 przed 1970 do 14-16 po 1980 [Ailhaud i in., 2006]. Generalnie w produktach żywnościowych wartość n-6/n-3 jest wysoka, a ryby znakomicie ją obniżają. W rybach z Zalewu Wiślanego wielkość n-6/n-3 jest niska i wynosi od 0,2 u sandacza do 0,5 u leszcza.

Wysokie walory prozdrowotne zależą od ilości nienasyconych kwasów tłuszczowych oraz wzajemnych stosunków pomiędzy poszczególnymi kwasami tłuszczowymi. Jednakże wysoki procentowy udział EPA i DHA nie musi się przekładać na ich wysokie stężenie wyrażone w mg/100g tkanki mięśniowej (Rys.5). Istotne znaczenie ma zawartość tłuszczu w tkance mięśniowej, która jest dość zmienna i zależna od np. wielkości ryby, dojrzałości i sezonu [Rojbek i in., 2014; Sushchik i in., 2017].



Rysunek 5. Średnia zawartość EPA+DHA i stosunek kwasów z rodzin n-6/n-3 w badanych gatunkach

Wśród badanych gatunków najniższą średnią zawartość tłuszczu w mokrej masie zmierzono dla okonia i sandacza (0,6%), natomiast najwyższą dla węgorza i wynosiła ona od 15% do 23%. Dane literaturowe podają zbliżone ilości tłuszczu w rybach słodkowodnych. Sandacz z jeziora Tały-Ryńskie zawierał tłuszczu 0,95% [Jankowska i in., 2003], a z tureckiego jeziora Beysehir 0,62% [Guler i in., 2007]. Okoń z Zalewu Szczecińskiego 0,45% [Falandysz i in., 2004], a z jezior amerykańskich 0,26% [Gonzalez i in., 2006]. Leszcz z jeziora Maróz zawierał 3,6% tłuszczu [Zmijewski i in., 2006]. Węgorze z Zalewu Wiślanego o długości od 41cm do 94cm zawierały od 9,5% do 31% tłuszczu [Szlinder-Richert i in., 2014]. Z reguły wyższą zawartość tłuszczu posiadają ryby morskie niż słodkowodne. Szprot *Sprattus sprattus* z Morza Bałtyckiego zawierał od 5,1% tłuszczu w maju i czerwcu do 15,5% w okresie od lipca do października [Usydus i in., 2012b], natomiast zawartość tłuszczu w bałtyckim śledziu wynosiła od 2,1% do 13,6% i najwyższą wartość osiągała latem [Jensen i in., 2007; Rojbek i in., 2014]. Z kolei wśród badanych ryb dostępnych na polskim rynku przez Usydus i in. [2011] wynika, że najwyższą zawartość tłuszczu w tkance mięśniowej miał łosoś (13,1%), a najniższą dorsz (0,08%). Wysoką zawartość tłuszczu miały również hodowane w Polsce karpie i pstrągi, odpowiednio 5,1% i 7,4%. Natomiast ryby oceaniczne pochodzące z importu takie jak mintaj *Theragra chalcogramma* i limanda żółtopłetwa *Limanda aspera* jak i importowane hodowlane takie jak panga i tilapia zawierały od 0,09% do 2,0% tłuszczu. Przy czym ryby hodowane zawierają z reguły więcej tłuszczu niż ich dziko żyjące odpowiedniki [Jankowska i in., 2003; Cahu i in., 2004]. Ze względu na niską zawartość tłuszczu w tkance mięśniowej okonia i sandacza suma EPA i DHA wynosiła odpowiednio 109 i 102 mg/100g, mimo ich wysokich udziałów procentowych. Natomiast w przypadku węgorza, gatunku o najniższych udziałach procentowych EPA i DHA, ale wysokiej zawartości tłuszczu, stężenie sumy tych kwasów wynosiło 922 mg/100g. Wysokimi stężeniami EPA i DHA charakteryzują się głównie ryby morskie. Jednak w tych samych gatunkach, ale pochodzących z różnych łowisk ich zawartość może być różna [Sidhu 2003, Gladyshev i in., 2017]. Mahaffey [2004] dokonał przeglądu danych z wielu badań i wskazał gatunki z wysokimi stężeniami EPA i DHA (m.in. makrela, sardela, tuńczyk i łosoś). Wartościowymi gatunkami bałtyckimi są szprot i śledź, dla których zawartość sumy EPA i DHA wynosiła 1640 i 1028 mg/100g [Keinanen i in., 2017]. W bałtyckim łososiu wartość ta wynosiła 3807 mg/100g, natomiast w dorszu tylko 44,7 mg/100g. Z kolei w rybach oceanicznych takich jak mintaj i limanda

odpowiednio 56,0 mg/100g i 207 mg/100g [Usydus i in., 2011]. W przypadku ryb hodowanych sytuacja jest bardzo zróżnicowana. Łosoś hodowlany jest dobrym źródłem EPA i DHA, pomimo spadku ich zawartości na przestrzeni ostatnich lat. W chwili obecnej udział EPA i DHA w hodowanym łososiu jest mniejszy niż w dziko żyjącym, jednakże ze względu na wyższą zawartość tłuszczu w hodowanym łososiu niż dzikim (14% i 8%) to łosoś wciąż pozostaje dobrym źródłem EPA i DHA w ludzkiej diecie (1200 mg/100g) [Sissener, 2018]. Wśród najczęściej hodowanych gatunków w Polsce znajdują się karp i pstrąg, dla których suma EPA i DHA wynosiła 215 i 1804 mg/100g, z kolei w przypadku importowanych ryb takich jak panga i tilapia odpowiednio 24,8 i 70,8 mg/100g. Dodatkowo panga i tilapia mają niekorzystny na tle innych ryb stosunek kwasów n-6 do n-3 (3,5 i 2,2) [Usydus i in., 2011].

Podsumowanie

Ryby charakteryzują się korzystnym dla zdrowia składem kwasów tłuszczowych, niespotykanym w innych produktach żywnościowych. Organizacja Narodów Zjednoczonych do spraw Wyżywienia i Rolnictwa (FAO) oraz Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) [2011] zaleca promowanie regularnego spożywania ryb, ponieważ są doskonałym źródłem EPA i DHA. Są to niezbędne dla zdrowia kwasy tłuszczowe, które muszą być dostarczane z pokarmem, gdyż nie są syntetyzowane w organizmach zwierzęcych w potrzebnych ilościach. Zawartość tych kwasów w rybach jest jednak bardzo zróżnicowana. Nawet ryby tego samego gatunku, ale pochodzące z innych łowisk czy karmione inną paszą mają różne zawartości tych kwasów. Ryby słodkowodne należą do chudych i średnio tłustych, dlatego też zawartość kwasów tłuszczowych z rodziny n-3 w 100 g ryby jest mniejsza niż w przypadku tłustych ryb morskich. Jednakże niski stosunek n-6/n-3 sprawia, że konsumpcja badanych ryb korzystnie wpływa na kształtowanie jego wartości w całkowitej diecie. Aby dostarczyć zalecaną profilaktyczną dzienną dawkę EPA+DHA, należy spożyć około 240g tkanki mięśniowej okonia i sandacza, ok. 100g w przypadku ciosy i leszcza lub 27g w przypadku węgorza. Spośród ryb hodowlanych warto wybierać łososa i pstrąga, natomiast unikać pangii, gdyż zalecaną dawkę EPA+DHA zapewniłoby dopiero zjedzenie kilograma tej ryby.

Literatura

- Ailhaud G., Massiera F., Weill P., Legrand P., Alessandri JM., Guesnet P. (2006). Temporal changes in dietary fats: Role of n-6 polyunsaturated fatty acids in excessive adipose tissue development and relationship to obesity. *Progress in Lipid Research* 45:203-236
- Brenna JT., Salem N., Sinclair AJ., Cunnane SC.(2009). alpha-Linolenic acid supplementation and conversion to n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in humans. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 80:85-91
- Briggs MA., Petersen KS., Kris-Etherton PM. (2017). Saturated Fatty Acids and Cardiovascular Disease: Replacements for Saturated Fat to Reduce Cardiovascular Risk. *Healthcare* 5
- Bros-Konopielko M., Bialek A., Oleszczuk-Modzelewska L., Zaleskiewicz B., Rozanska-Waledziak A., Teliga-Czajkowska J., Tokarz A., Czajkowski K. (2017). Consumption of fish and seafood by pregnant Polish women and the supply of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid from these products. *Family Medicine and Primary Care Review* 19:191-195
- Budge SM., Iverson SJ., Bowen WD., Ackman RG. (2002). Among- and within-species variability in fatty acid signatures of marine fish and invertebrates on the Scotian Shelf, Georges Bank, and southern Gulf of St. Lawrence. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59:886-898
- Cahu C., Salen P., de Lorgeril M. (2004). Farmed and wild fish in the prevention of cardiovascular diseases: Assessing possible differences in lipid nutritional values. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases* 14:34-41
- Calder PC., Yaqoob P. (2009). Understanding Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids. *Postgraduate Medicine* 121:148-157
- Celik M., Diler A., Kucukgulmez A. (2005). A comparison of the proximate compositions and fatty acid profiles of zander (*Sander lucioperca*) from two different regions and climatic conditions. *Food Chemistry* 92:637-641
- Chubarenko B., Margonski P. (2008). The Vistula lagoon. *Ecological Studies* 197:167-195
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA) (2010).; Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and

cholesterol. EFSA Journal; 8(3):1461. 107 pp.
<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2010.1461> z
dn.25.05.2018

Falandysz J., Wyrzykowska B., Warzocha J., Barska I., Garbacik-Wesolowska A., Szefer P. (2004) Organochlorine pesticides and PCBs in perch *Perca fluviatilis* from the Odra/Oder river estuary, Baltic Sea. *Food Chemistry* 87:17-23

FAO (2016). The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 200 pp. <http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf> z dn. 25.05.2018

FAO/WHO (2011). Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation on the Risks and Benefits of Fish Consumption. Rome, Food and Agriculture Organization of the United Nations; Geneva, World Health Organization, 50 pp. <http://www.fao.org/docrep/014/ba0136e/ba0136e00.pdf> z dn. 30.05.2018

Folch J., Lees M., Stanley GHS. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226:497-509

Gerster H. (1998). Can adults adequately convert alpha-linolenic acid (18 : 3n-3) to eicosapentaenoic acid (20 : 5n-3) and docosahexaenoic acid (22 : 6n-3)? *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 68:159-173

Ghioni C., Tocher DR., Bell MV., Dick JR., Sargent JR. (1999). Low C-18 to C-20 fatty acid elongase activity and limited conversion of stearidonic acid, 18 : 4(n-3), to eicosapentaenoic acid, 20 : 5(n-3), in a cell line from the turbot, *Scophthalmus maximus*. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular and Cell Biology of Lipids* 1437:170-181

Gladyshev MI., Sushchik NN., Dubovskaya OP., Buseva ZF., Makhutova ON., Fefilova EB., Feniova IY., Semenchenko VP., Kolmakova AA., Kalachova GS. (2015). Fatty acid composition of Cladocera and Copepoda from lakes of contrasting temperature. *Freshwater Biology* 60:373-386

Gladyshev MI., Sushchik NN., Makhutova ON., Glushchenko LA., Rudchenko AE., Makhrov AA., Borovikova EA., Dgebuadze YY. (2017). Fatty Acid Composition and Contents of Seven Commercial Fish Species of Genus *Coregonus* from Russian Subarctic Water Bodies. *Lipids* 52:1033-1044

- Gonzalez S., Flick GJ., O'Keefe SF., Duncan SE., McLean E., Craig SR. (2006). Composition of farmed and wild yellow perch (*Perca flavescens*). *Journal of Food Composition and Analysis* 19:720-726
- Goyens PL., Spilker ME., Zock PL., Katan MB., Mensink RP. (2006). Conversion of alpha-linolenic acid in humans is influenced by the absolute amounts of alpha-linolenic acid and linoleic acid in the diet and not by their ratio. *American Journal of Clinical Nutrition* 84:44-53
- Guler GO., Aktumsek A., Citil OB., Arslan A., Torlak E. (2007). Seasonal variations on total fatty acid composition of fillets of zander (*Sander lucioperca*) in Beysehir Lake (Turkey). *Food Chemistry* 103:1241-1246
- Henderson RJ., Tocher DR. (1987). The lipid-composition and biochemistry of freshwater fish. *Progress in Lipid Research* 26:281-347
- Henrotte E., Kpogue D., Mandiki SNM., Wang N., Douxfils J., Dick J., Tocher D., Kestemont P. (2011). n-3 and n-6 fatty acid bioconversion abilities in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) at two developmental stages. *Aquaculture Nutrition* 17:E216-E225
- Hibbeln JR., Davis JM., Steer C., Emmett P., Rogers I., Williams C., Golding J. (2007). Maternal seafood consumption in pregnancy and neurodevelopmental outcomes in childhood (ALSPAC study): an observational cohort study. *Lancet* 369:578-585
- Hu FB., Stampfer MJ., Manson JE., Ascherio A., Colditz GA., Speizer FE., Hennekens CH., Willett WC. (1999). Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. *American Journal of Clinical Nutrition* 70:1001-1008
- Iverson SJ., Frost KJ., Lang SLC. (2002). Fat content and fatty acid composition of forage fish and invertebrates in Prince William Sound, Alaska: factors contributing to among and within species variability. *Marine Ecology Progress Series* 241:161-181
- Jankowska B., Zakes Z., Zmijewski T., Szczepkowski M. (2003). A comparison of selected quality features of the tissue and slaughter yield of wild and cultivated pikeperch *Sander lucioperca* (L.). *European Food Research and Technology* 217:401-405
- Jensen KN., Jacobsen C., Nielsen HH. (2007). Fatty acid composition of herring (*Clupea harengus* L.): influence of time and place of catch on n-3 PUFA content. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87:710-718

- Kainz MJ., Hager HH., Rasconi S., Kahilainen KK., Amundsen PA., Hayden B. (2017). Polyunsaturated fatty acids in fishes increase with total lipids irrespective of feeding sources and trophic position. *Ecosphere* 8
- Karl H., Manthey-Karl M., Ostermeyer U., Lehmann I., Wagner H. (2013). Nutritional composition and sensory attributes of Alaskan flatfishes compared to plaice (*Pleuronectes platessa*). *International Journal of Food Science and Technology* 48:962-971
- Keinanen M., Kakela R., Ritvanen T., Myllyla T., Ponni J., Vuorinen PJ. (2017). Fatty acid composition of sprat (*Sprattus sprattus*) and herring (*Clupea harengus*) in the Baltic Sea as potential prey for salmon (*Salmo salar*). *Helgoland Marine Research* 71:1-16
- Koletzko B., Lien E., Agostoni C., Bohles H., Campoy C., Cetin I., Decsi T., Dudenhausen JW., Dupont C., Forsyth S., Hoesli I., Holzgreve W., Lapillonne A., Putet G., Secher NJ., Symonds M., Szajewska H., Willatts P., Uauy R. (2008). The roles of long-chain polyunsaturated fatty acids in pregnancy, lactation and infancy: review of current knowledge and consensus recommendations. *Journal of Perinatal Medicine* 36:5-14
- Kris-Etherton PM., Grieger JA., Etherton TD. (2009). Dietary reference intakes for DHA and EPA. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 81:99-104
- Mahaffey KR. (2004). Fish and shellfish as dietary sources of methylmercury and the omega-3 fatty acids, eicosahexaenoic acid and docosahexaenoic acid: risks and benefits. *Environmental Research* 95:414-428
- Manthey-Karl M., Lehmann I., Ostermeyer U., Schroeder U. (2016). Natural Chemical Composition of Commercial Fish Species: Characterisation of *Pangasius*, Wild and Farmed Turbot and Barramundi. *Foods* 5
- Marciniak-Lukasiak K. (2011). The role and significance of omega 3 fatty acids. *Zywnosc-Nauka Technologia Jakosc* 18:24-35
- Mozaffarian D., Wu JHY. (2011). Omega-3 Fatty Acids and Cardiovascular Disease Effects on Risk Factors, Molecular Pathways, and Clinical Events. *Journal of the American College of Cardiology* 58:2047-2067
- Napolitano GE. (1998). Fatty acids as trophic and chemical markers in freshwater ecosystems. *Lipids in Freshwater Ecosystems*:21-44
- Nettleton JA. (1991). Omega-3 fatty acids comparison of plant and seafood sources in human nutrition. *Journal of the American Dietetic Association* 91:331-337

- Oku T., Sugawara A., Choudhury M., Komatsu M., Yamada S., Ando S. (2009). Lipid and fatty acid compositions differentiate between wild and cultured Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Food Chemistry* 115:436-440
- Orban E., Navigato T., Di Lena G., Masci M., Casini I., Garnbelli L., Caproni R. (2008). New trends in the seafood market. Sutchi catfish (*Pangasius hypophthalmus*) fillets from Vietnam: Nutritional quality and safety aspects. *Food Chemistry* 110:383-389
- Ozogul Y., Ozogul F., Alagoz S. (2007). Fatty acid profiles and fat contents of commercially important seawater and freshwater fish species of Turkey: A comparative study. *Food Chemistry* 103:217-223
- Pieniak Z., Kolodziejczyk M., Kowrygo B., Verbeke W. (2011). Consumption patterns and labelling of fish and fishery products in Poland after the EU accession. *Food Control* 22:843-850
- Prigge E., Malzahn AM., Zumholz K., Hanel R. (2012). Dietary effects on fatty acid composition in muscle tissue of juvenile European eel, *Anguilla anguilla* (L.). *Helgoland Marine Research* 66:51-61
- Rojbek MC., Jacobsen C., Tomkiewicz J., Stottrup JG. (2012). Linking lipid dynamics with the reproductive cycle in Baltic cod *Gadus morhua*. *Marine Ecology Progress Series* 471:215-234
- Rojbek MC., Tomkiewicz J., Jacobsen C., Stottrup JG. (2014). Forage fish quality: seasonal lipid dynamics of herring (*Clupea harengus* L.) and sprat (*Sprattus sprattus* L.) in the Baltic Sea. *Ices Journal of Marine Science* 71:56-71
- Sargent J., Bell G., McEvoy L., Tocher D., Estevez A. (1999). Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture* 177:191-199
- Seierstad SL., Seljeflot I., Johansen O., Hansen R., Haugen M., Rosenlund G., Froyland L., Arnesen H. (2005). Dietary intake of differently fed salmon; the influence on markers of human atherosclerosis. *European Journal of Clinical Investigation* 35:52-59
- Sheppard KW., Cheatham CL. (2018). Omega-6/omega-3 fatty acid intake of children and older adults in the US: dietary intake in comparison to current dietary recommendations and the Healthy Eating Index. *Lipids in Health and Disease* 17
- Sidhu KS. (2003). Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 38:336-344

- Simopoulos AP. (1991). Omega-3-fatty-acids in health and disease and in growth and development. *American Journal of Clinical Nutrition* 54:438-463
- Simopoulos AP. (2000). Human requirement for n-3 polyunsaturated fatty acids. *Poultry Science* 79:961-970
- Simopoulos AP. (2008). The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine* 233:674-688
- Sioen I., van Lieshout L., Eilander A., Fleith M., Lohner S., Szommer A., Petisca C., Eussen S., Forsyth S., Calder PC., Campoy C., Mensink RP. (2017). Systematic Review on N-3 and N-6 Polyunsaturated Fatty Acid Intake in European Countries in Light of the Current Recommendations - Focus on Specific Population Groups. *Annals of Nutrition and Metabolism* 70:39-50
- Sioen IA., Pynaert I., Matthys C., De Backer G., Van Camp J., De Henauw S. (2006). Dietary intakes and food sources of fatty acids for Belgian women, focused on n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids. *Lipids* 41:415-422
- Sissener NH. (2018). Are we what we eat? Changes to the feed fatty acid composition of farmed salmon and its effects through the food chain. *Journal of Experimental Biology* 221
- Strandberg U., Palviainen M., Eronen A., Piirainen S., Lauren A., Akkanen J., Kankaala P. (2016). Spatial variability of mercury and polyunsaturated fatty acids in the European perch (*Perca fluviatilis*) - Implications for risk-benefit analyses of fish consumption. *Environmental Pollution* 219:305-314
- Sushchik NN., Rudchenko AE., Gladyshev MI. (2017). Effect of season and trophic level on fatty acid composition and content of four commercial fish species from Krasnoyarsk Reservoir (Siberia, Russia). *Fisheries Research* 187:178-187
- Szlinder-Richert J., Usydus Z., Wyszynski M., Adamczyk M. (2010). Variation in fat content and fatty-acid composition of the Baltic herring *Clupea harengus membras*. *Journal of Fish Biology* 77:585-599
- Szlinder-Richert J., Ruczynska W., Nermer T., Usydus Z., Robak S. (2014). The occurrence of organic contaminants in European eel (*Anguilla anguilla*) in Poland: An environmental quality assessment. *Chemosphere* 114:282-290

- Tapiero H., Ba GN., Couvreur P., Tew KD. (2002). Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 56:215-222
- Thong NT., Solgaard HS. (2017). Consumer's food motives and seafood consumption. *Food Quality and Preference* 56:181-188
- Tocher DR. (2003) Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science* 11:107-184
- Turchini GM., Torstensen BE., Ng W-K. (2009). Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture* 1:10-57
- Usydus Z., Szlinder-Richert J., Adamczyk M., Szatkowska U. (2011). Marine and farmed fish in the Polish market: Comparison of the nutritional value. *Food Chemistry* 126:78-84
- Usydus Z., Szlinder-Richert J. (2012a). Functional properties of fish and fish products: a review. *International Journal of Food Properties* 15:823-846
- Usydus Z., Szlifder-Richert J., Adamczyk M. (2012b). Variations in proximate composition and fatty acid profiles of Baltic sprat (*Sprattus sprattus balticus*). *Food Chemistry* 130:97-103
- Vasconi M., Caprino F., Bellagamba F., Busetto ML., Bernardi C., Puzzi C., Moretti VM. (2015). Fatty Acid Composition of Freshwater Wild Fish in Subalpine Lakes: A Comparative Study. *Lipids* 50:283-302
- Verbeke W., Sioen I., Pieniak Z., Van Camp J., De Henauw S. (2005). Consumer perception versus scientific evidence about health benefits and safety risks from fish consumption. *Public Health Nutrition* 8:422-429
- Wang CC., Harris WS., Chung M., Lichtenstein AH., Balk EM., Kupelnick B., Jordan HS., Lau J. (2006). n-3 fatty acids from fish or fish-oil supplements, but not alpha-linolenic acid, benefit cardiovascular disease outcomes in primary- and secondary-prevention studies: a systematic review. *American Journal of Clinical Nutrition* 84:5-17
- Williams MCW., Schrank C., Anderson HA. (2014). Fatty acids in thirteen Wisconsin sport fish species. *Journal of Great Lakes Research* 40:771-777
- Zmijewski T., Kujawa R., Jankowska B., Kwiatkowska A., Mamcarz A. (2006). Slaughter yield, proximate and fatty acid composition and sensory properties of rapfen (*Aspius aspius* L) with tissue of bream (*Abramis brama* L) and pike (*Esox lucius* L). *Journal of Food Composition and Analysis* 19:176-181

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr 2012/05/N/NZ8/00906 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

Nieparzyste i rozgałęzione kwasy tłuszczowe (OBCFA) – występowanie i znaczenie dla człowieka i zwierząt

Robert Kupczyński¹, Antoni Szumny, Kinga Śpitalniak-Bajerska

*Katedra Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt,
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*

*¹Katedra Chemii, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we
Wrocławiu*

Kupczyński R: robert.kupczynski@upwr.edu.pl

Streszczenie

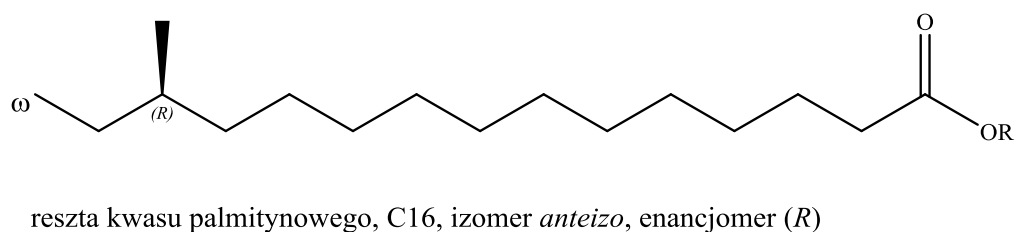
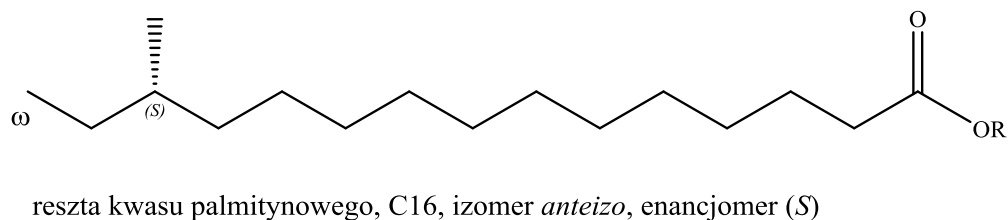
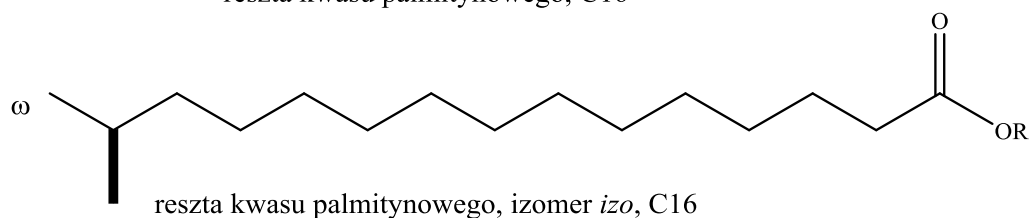
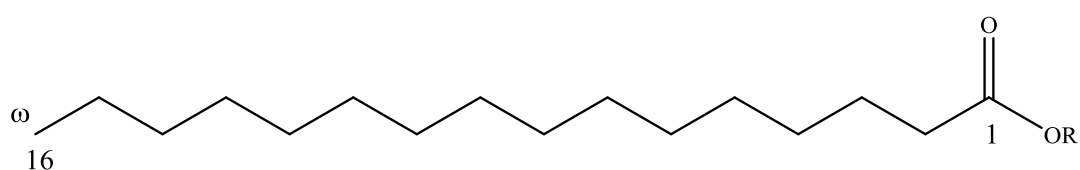
Praca miała na celu analizę dotychczasowych badań dotyczących występowania i znaczenia nieparzystych i rozgałęzionych kwasów tłuszczowych (OBCFA). Grupa związków o akronimie OBCFA obejmuje kwasy tłuszczowe zaliczane do serii nieparzystych kwasów C-9 do C-17 (OFA, *odd fatty acids*) oraz serii izomerów *izo-* i *anteizo* kwasów C-10 do C-18 (BCFA, *branched-chain fatty acids*). Kwasy z serii rozgałęzionych syntezowane głównie są w komórkach mikroorganizmów żwaczowych, ale ich występowanie stwierdzono również w poszczególnych narządach człowieka, w mleku matek karmiących, ustalając mikroflorę jelitową, jako ich główne źródło oraz w olejach roślinnych. Głównym źródłem OBCFA w diecie są produkty odzwierzęce. W skład OBCFA mleka i mięsa przeżuwaczy wchodzi zasadniczo OBCFA od 13 do atomów węgla do 20. Zawartość OBCFA w tłuszczu mleka przeważnie wynosi 2-3%, a ich zawartość może pośrednio odzwierciedlać skład mikroorganizmów w treści w żwacza, jak również służyć wczesnemu wykrywaniu kwasicy żwacza. Duże znaczenie OBCFA (głównie BCFA) wynika z potwierdzonych właściwości antynowotworowych tej grupy kwasów tłuszczowych oraz istotnej roli w rozwoju (również w okresie prenatalnym) i funkcjonowaniu jelit noworodków. W przyszłości potrzebne są badania ukierunkowane nad dokładnym poznaniem mechanizmu apoptozy komórek nowotworowych wywołanych przez OBCFA.

Słowa kluczowe: mleko, nieparzyste i rozgałęzione kwasy tłuszczowe, zwacz, właściwości prozdrowotne

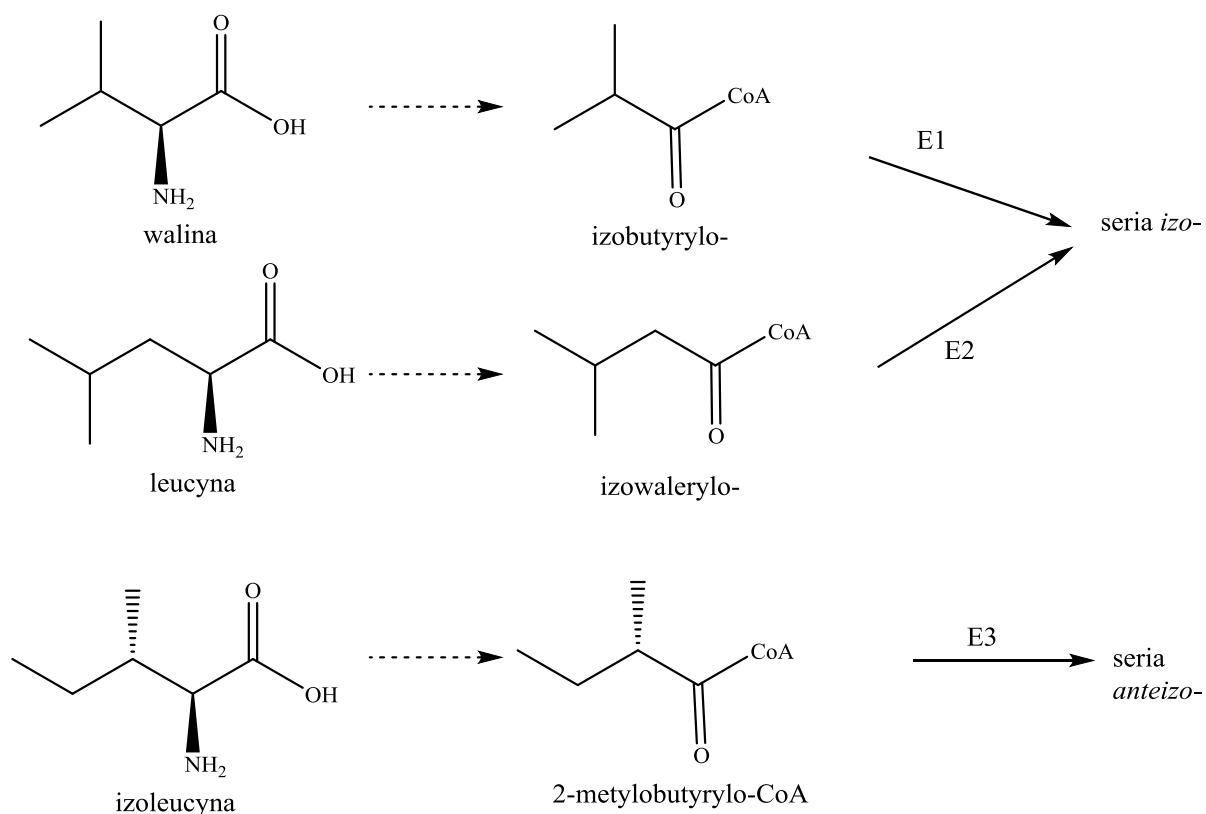
Grupa związków o akronimie OBCFA (z ang. *odd and branched-chain fatty acids*) obejmuje specyficzne kwasy tłuszczowe o nieparzystej liczbie atomów węgla jak również te, z grupą metylową umieszczoną na węglu α -2, drugim od końca (*izo*) lub α -3, trzecim od końca (*anteizo*) (Ryc. 1). Chociaż istnieją w przyrodzie naturalne kwasy tłuszczowe rozgałęzione w innym układzie (jak np. *neo* – czyli 2,2-dimetylo; 2,3 lub 2,4 dimetylo i inne izomery), spełniając formalnie kryteria kwasów tłuszczowych rozgałęzionych, są one jednak rzadziej spotykane i występując częściej w tłuszczach roślinnych i nie są zaliczane do grupy OBCFA [Wenk, 2016]. Akronim OBCFA bywa w literaturze naukowej, szczególnie o charakterze popularyzatorskiej, opatrzenie rozumiany, obejmując jedynie nieparzyste kwasy tłuszczowe oraz ich pochodne *izo/anteizo*. W rzeczywistości obejmując najczęściej i) serię nieparzystych kwasów C-9 do C-17 (OFA, *odd fatty acids*); ii) serię izomerów *izo*- i *anteizo* kwasów C-10 do C-18 (BCFA, *branched-chain fatty acids*, zarówno parzyste jak i nieparzyste).

Rozgałęzione kwasy tłuszczowe zostały wyizolowane z udowodnieniem struktury już w latach 40 ubiegłego stulecia [Velick i English, 1945, Brown, 1946]. Ich wyodrębnienie z mleka i produktów pokrewnych, jak również trafna propozycję biosyntezy przypada na wczesne lata 60-te [Kaneda, 1963], kiedy wytypowano walinę, leucynę i izoleucynę jako odpowiednie prekursory (Ryc. 2). Stereochemię kwasów *anteizo* ustalono ostatecznie dopiero w roku 2010, udowadniając znaczną przewagę enancjomerów *S* w mleku i produktach pochodnych [Hauff i in., 2010]. Oznaczone nadmiary enancjomeryczne w produktach mlecznych wynosiły około 77 % dla fosfolipidów, oraz powyżej 95 % dla lipidów neutralnych. Kwasy z serii rozgałęzionych syntezowane są w komórkach mikroorganizmów, ale znane są przypadki biosyntezy *de novo* w organizmach nicieni [Kniazewa i in., 2004], czy występowanie w woskach lub olejach roślinnych [Iven i in., 2013]. Udowodniono również obecność BCFA w poszczególnych narządach człowieka [Macfarlane i in., 1992], jak również zidentyfikowano je w mleku matek karmiących, ustalając mikroflorę jelitową, jako ich główne źródło [van Zanten i in., 2014]. Ze względu na bardzo prężnie rozwijające się techniki chromatograficzne, analiza profilu mleka czy mięsa przeżuwaczy umożliwia identyfikację grupę kilkudziesięciu kwasów z serii OBCFA. Jednak

standardowa technika chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (Electron impact, 70 eV) napotyka trudności w postaci bardzo zbliżonych rozpadów kwasów liniowych jak i izomerów *izo* i *anteizo*. Zastosowanie pochodnych 3-pyridylocarbinolowych [Harvey, 1982] lub zmiana energii jonizacji z zastosowaniem techniki MS2 [Ran-Ressler i in., 2011] umożliwia precyzyjną i jednoznaczną identyfikację związków, nawet na poziomie setnych części udziału procentowego w sumie wszystkich oznaczanych estrów kwasów tłuszczowych.



Rysunek 1. Wzór pochodnych kwasu palmitynowego i jego izomery



Rysunek 2. Biosynteza serii izo- i anteizo-; E1-3 - syntazy kwasów tłuszczowych

Znaczenie i synteza OBCFA u przeżuwaczy

Źródłem kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka przeżuwaczy są kwasy powstające w procesach żwaczowych, lipidy pochodzące z dawki pokarmowej oraz uruchamiany tłuszcz zapasowy organizmu. W skład OBCFA mleka i mięsa przeżuwaczy wchodzi zasadniczo OBCFA od 13 do atomów węgla do 20. Zawartość OBCFA w tłuszczu mleka przeważnie wynosi 2-3%, a połowa z nich to *anteizo* C15:0 i *anteizo* C17:0 (Yan i in. 2015). Następnie pod względem zawartości występują *izo* C15:0, *izo* C16:0 i *izo* C17:0 [Vlaeminck i in., 2006a]. Mleko krów na początku laktacji zawiera najwięcej biologicznie aktywnych kwasów tłuszczowych, jednak zawartość w nim OBCFA jest najwyższa pod koniec laktacji. Pochodzą one w zasadniczej ilości z przemian żwaczowych, natomiast endogenna synteza jest mała. Wykazano jednak, że nieparzyste KT (C15:0 i C17:0) mogą być syntetyzowane *de novo* z propionianu w gruczole mlekowym [Dewhurst i in., 2007, Or-Rashid i in., 2007].

Zawartość OBCFA w tłuszczu mleka zależy od wielu czynników, między innymi: systemu żywienia, składu dawki pokarmowej, udziału pasz objętościowych i treściwych, pH treści żwacza i stężenia amoniaku [Vlaeminck i in., 2006, Buccioni i in., 2012]. Czynniki

żywniowy w największym stopniu determinuje zawartość OBCFA w tłuszczu mleka [Craninx i in., 2008].

Tabela 1. Zawartość BCFA w triacyloglicerolach mleka wg. Correddu i in. [2016]¹ i Yan i in. [2017]²

BCFA	Mleko ludzkie ²	Mleko kozie ²	Mleko owcze ¹	Mleko krów ²
<i>Izo</i> -13:0	0,01	0,01	0,06	0,00
<i>Izo</i> -14:0	0,04	0,06	0,10	0,05
<i>Izo</i> -15:0	0,07	0,16	0,20	0,12
<i>Anteizo</i> -15:0	0,19	0,32	0,49	0,29
<i>Izo</i> -16:0	0,07	0,19	0,29	0,15
<i>Izo</i> -17:0	0,09	0,42	0,36	0,32
<i>Anteizo</i> -17:0	0,15	0,44	0,50	0,38
<i>Izo</i> -18:0	0,01	0,05	nd	0,04
Σ <i>izo</i> -FA/ Σ BCFA (%)*	44,35	53,88	50,25	50,36
Σ <i>anteizo</i> -FA/ Σ BCFA (%)*	55,65	46,12	49,75	49,64

*Suma *izo*-BCFA lub *anteizo*-BCFA w całkowitej zawartości BCFA

W procesach zwaczowych podczas elongacji z propionianu lub walerianu powstają nieparzyste kwasy tłuszczowe (C15:0 i C17:0). Są one syntetyzowane z acetylo-CoA jako startera przez powtarzającą się kondensację malonylo-CoA pochodzącego z modyfikacji różnych kwasów tłuszczowych. Prekursorami rozgałęzionych KT (*izo* i *anteizo*) są aminokwasy rozgałęzione: walina, leucyna, izoleucyna lub rozgałęzione krótkołańcuchowe kwasy karboksylowe m.in. izowalerianowy, izomasłowy, 2-metylomasłowy z nich biosyntezywane [Vlaeminck i in., 2006a]. Bakterie celulolityczne zawierają dużo kwasów *izo*, m.in. *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus*. Szczepy *Prevotella* zawierają *anteizo* C15:0 [Vlaeminck i in., 2006a]. Profil OBCFA dla szczepów *Butyrivibrio* jest znacznie bardziej niejednorodny. Bakterie fibrolityczne są generalnie zasobne w kwasy *izo* OBCFA, natomiast amylolityczne w *anteizo* OBCFA [Vlaeminck i in., 2006].

Synteza *de novo* kwasów BCFA C15:0, C17:0 zachodzi również w tkance przeżuwaczy z propionianu [Vlaeminck i in., 2006a]. Teza ta wynika z porównania zawartości tych kwasów w tłuszczu mleka, a przepływu dwunastniczego. Podkreśla się również znaczenie delta-9 desaturazy w konwersji C17:0 do *cis*-9 C17:1 w tkankach gruczołu mlekowego [Fievez i in., 2003]. Nie dotyczy to jednak wszystkich OBCFA, gdyż różnice występują w zależności od rozgałęzienia tych kwasów w pozycji *izo* lub *anteizo*. Liniowe nieparzyste kwasy tłuszczowe są jednak tylko częściowo syntetyzowane w gruczole

mlekowym i raczej w ograniczonym stopniu, bez względu czy są to kwasy *izo* czy *anteizo* [Romo i in., 2000, Kay i in., 2005].

OBCFA jako biomarker fermentacji żwaczowej

Zawartości OBCFA w tłuszczu mleka przeżuwaczy może pośrednio odzwierciedlać skład mikroorganizmów treści żwacza. Istnieje zależność pomiędzy kierunkiem przemian wynikających z metabolizmu bakterii żwacza i proporcji powstających kwasów krótkołańcuchowych: kwasu octowego, propionowego i masłowego [Vlaeminck i in., 2005]. Według Vlaeminck i in. [2006b] OBCFA tłuszczu mleka mogą stanowić wzorzec procesów fermentacyjnych zachodzących w żwaczu. Wynika to z zależności pomiędzy molową proporcją lotnych KT w żwaczu a zawartością poszczególnych nieparzystych i rozgałęzionych kwasów tłuszczowych w mleku. Stężenie propionianu w żwaczu było ujemnie skorelowane ze stężeniem *izo* C14:0 i dodatnio skorelowane z C15:0 w tłuszczu mleka, podczas gdy stosunek octan/propionian jest przeciwnie skorelowany z zawartością *izo* 14:0 i 15:0 w mleku [Baumann i in., 2016]. Istnieją jednak pewne ograniczenia użycia zawartości OBCFA jako markera funkcji żwacza. Vlaeminck i in. [2015] wykazali w próbkach mleka większą zawartość C15:0, *izo*-C17:0, *anteizo*-C17:0, i *cis*-9-C17:1 niż w próbkach pobranych z dwunastnicy. Sugeruje to występowanie syntezy *de novo* polegającej na desaturacji i elongacji tych kwasów.

Strategie zwiększania zawartości w mleku OBCFA, szczególnie kwasów *izo*, polegają na wzroście w dawce pokarmowej krów pasz objętościowych [Fievez i in., 2012]. Stężenia OBCFA w mleku jest bardziej skorelowane z zawartością kwasu octowego niż w przypadku propionianów i maślanów [Vazirigochar i in., 2018]. Wysokie poziomy *izo* C14:0 i niskie poziomy *izo* C17:0 mogą wskazywać, że bakterie z grupy "A" i "B" są obecne w żwaczu, w optymalnej ilości [Vlaeminck i in., 2006b]. Jest prawdopodobne, że zwiększone ilości rozgałęzionych kwasów tłuszczowych C17 jest związane z warunkami w żwaczu, faworyzowaniem tworzenia i akumulacji określonych produktów pośrednich do uwodorniania kwasów tłuszczowych [Baumani Griinari, 2003]. Dewhurst i in. [2007] stwierdzili niższe poziomy C15:0 i C17:0 w mleku krów karmionych wysokim stosunkiem paszy objętościowej do treściwej (F/C) niż od krów karmionych dawkami o niskim stosunku F/C. Stosując w żywieniu krów dużej ilości paszy treściwej lub skrobi powstaje więcej propionianów. Dlatego też zwiększona ilość skrobi w diecie wydaje się hamować bakterie

z grupy "B" przez zmniejszenie zawartości w tłuszczu mleka *izo* C14:0 [Shingfield i in., 2005b].

Wpływ dodatków tłuszczowych na procesy fermentacyjne i biouwodorowanie kwasów tłuszczowych jest dobrze udokumentowany. Dodatek do dawki pokarmowej krów C18:2 *n-6* (np. olej słonecznikowy), C18:3 *n-3* (np. olej lniany) czy C20:5 *n-3* i C22:6 *n-3* (np. olej rybny lub algi morskie) wyraźnie wpływa na mikroflorę żwacza. Bakterie Gram-ujemne są mniej wrażliwe niż Gram-dodatnie na dodatki tłuszczowe. Dodatki te prowadząc do zwiększenia ilości powstawania propionianu, jednak mogą hamować endogenną syntezę niektórych BCFA, np. *izo* C14:0, *izo* C16:0. Wykazano, że suplementacja C18:2 *n-6* i C18:3 *n-3* miała tylko niewielki wpływ na parzyste wielorozgałęzione kwasy *izo* (*izo* C14:0, *izo* C16:0), podczas gdy dodatek oleju rybnego lub alg morskich zredukował te kwasy tłuszczowe do 60% w porównaniu do diety kontrolnej. Kwasy tłuszczowe *anteizo* C15:0, *anteizo* C17:0 uległy zwiększeniu wraz ze wzrostem stopnia nienasycenia stosowanego dodatku tłuszczowego [Shingfield i in., 2003, Looor i in., 2005b, Rego i in., 2005]. Olej rybny i algi morskie powodują wzrost zawartości w tłuszczu mleka głównie *izo* C17:0 (Shingfield i in. 2003, Singh i in. 2004).

Włączenie do diety krów olejów roślinnych bogatych w 18:2 *n-6* obniża stężenie kilku *izo* i *anteizo* kwasów tłuszczowych w mleku przy stosowaniu dawek pokarmowych zawierających kiszonki [Halmemies-Beauchet-Filleau i in., 2011], ale nie przy dawkach zawierających kiszonki z traw i kukurydzy [Alfonso-Avila i in., 2017]. Najnowsze badania wskazują, że suplementacja tłuszczu bogatego w C16:0 i C18:2 *n-6* (olej słonecznikowy) przy dawce z niską zawartością paszy objętościowej obniża zawartość w mleku *anteizo* 13:0 i *anteizo* 15:0, jednak stosując mieszaninę obu tłuszczów zwiększa się zawartość *izo* C14:0 i *izo* 16:0 w mleku [Vazirigohar i in., 2018]. Z kolei stosując suplementację tłuszczu zawierającego C18:2*n-6* i dawkę TMR z wysoką zawartością pasz objętościowych można wzbogacić mleko krów w szereg kwasów, *izo* C13:0, *izo* C14:0, *izo* C15:0, *izo* C16:0, *izo* C17:0, *anteizo* C13:0 i *anteizo* C15:0.

Występowanie w stadach krów wysokowydajnych podostrej kwasicy żwacza (SARA) jest dość częste. Stosowanie nadmiernej ilości paszy treściwej i zmiana populacji mikroorganizmów polegająca na wzroście *Streptococcus bovis* inicjuje łańcuch zdarzeń, które ostatecznie mogą prowadzić do podostrej kwasicy żwacza. Niektóre OBCFA są wskazywane jako markery do wczesnego rozpoznawania kwasicy żwacza. Wzrost

zawartości w mleku C17:0 + C17:1 *cis*-9 i obniżenie stężenia *izo* C14:0 wskazuje na podostrą kwasicę lub wzrost ich koncentracji w mleku był nawet obserwowany u krów przed wystąpieniem objawów klinicznych kwasicy [Fievez i in., 2012]. Wzrost zawartości w mleku *trans*-10 C18: 1 ma większy potencjał jako wskaźnik ostrej kwasicy, podczas gdy C15:0 i C17:0 mogą być wskaźnikami występowania SARA. Inne badania wskazują, że oprócz *trans*-10 C18:1 też inne kwasy tłuszczowe (*izo* C13:0, *izo* C16:0, i *cis*-9,*trans*-11 C18:2) mogą być przydatne w badaniach nad kwasicą u krów [Colman i in., 2010]. Z punktu widzenia praktyki samo monitorowanie pH żwacza jest prostsze i bardziej przydatne.

Podkliniczna ketoza jest częstym schorzeniem okresu okołoporodowego i wczesnej laktacji krów wysokowydajnych. Wyraźnie wpływa na zdrowie krów i ich produktywność. Podkliniczna ketoza występuje gdy we krwi stwierdza się stężenia kwasu β -hydroksymasłowego powyżej 1,4 mmol/l. U takich krów stwierdzono obniżenie wydajności o 2,4 kg mleka dziennie w okresie 2 tygodni po zdiagnozowaniu [Chapinal i in., 2012]. Wykazano, że 70% krów z hiperketonemią miało stosunek *cis*-9 C18: 1 -do C15: 0 w tłuszczu mleka powyżej 40. W praktyce wymagałoby to analizy dwóch wyżej wymienionych kwasów tłuszczowych [Jorjong i in., 2015]. Dodatkowo większe zawartości *anteizo* C17:0 u krów z ketozą odzwierciedlają większy udział lipomobilizacji w patogenezie ketozy. Kwas *cis*-9 C18:1 jest dominującym w tkance tłuszczowej przeżuwaczy. Wzrost zawartości w mleku tego kwasu może być traktowany jako wystarczający marker lipomobilizacji i/lub ujemnego bilansu energii [Mann i in. 2016].

Profil kwasów tłuszczowych mleka może być także używany jako wskaźnik do szacowania emisji metanu [Rico i in., 2016]. Zarówno C15:0, jak i C17:0 były dodatnio skorelowane z emisją CH₄, natomiast zawartość w tłuszczu mleka izomerów C18:1, C18:2 i C18:3 była ujemnie skorelowana z emisją tego gazu cieplarnianego [van Gastelen i in., 2018]. Dodatkowo, zwiększona zawartość w tłuszczu mleka *anteizo* C17:0 może wskazywać na deficyt białka ulegającego rozkładowi w żwaczu [Vlaeminck i in., 2006b].

Znaczenie kwasów OBCFA w organizmie człowieka

OBCFA pełnią ważną funkcję w organizmie oraz mają istotny wpływ na zdrowie człowieka. Dotychczasowe badania potwierdziły również dużą skuteczność kwasów OBCFA w leczeniu nowotworów, co przyczyniło się do wzrostu zainteresowania tą grupą kwasów tłuszczowych [Yang i in., 2000]. Rozpatrywana jest obecnie możliwość wykorzystania OBCFA jako alternatywna metoda dla chemioterapii jak również

zastosowanie ich w profilaktyce nowotworów [Yang i in., 2000, Wongtangtintharn i in., 2011]. O istotnym znaczeniu OBCFA w organizmie człowieka może świadczyć ich obecność w przewodzie pokarmowym niemowląt, a także w mleku kobiet, w którym zawartość według różnych doniesień sięga od około 0,63 do 1,5% (Tab. 1) [Ran-Ressler i in., 2011]. Według Dingess i in. [2016] koncentracja tych kwasów w mleku ludzkim jest dodatnio skorelowana ze spożyciem wołowiny lub produktów mlecznych. Dlatego kwasy C15:0 i C17:0 OBCFA, które nie są syntezowane w organizmie człowieka, uznane zostały za wskaźniki spożycia tłuszczu mlecznego [Jenkins i in. 2015]. Obecność kwasów BCFA (kwasy rozgałęzione) stwierdzono również w lipidach skóry człowieka, gdzie jak podaje Ran-Ressler i in. [2011a] zachodzi ich synteza. Szczególnie w dużych ilościach BCFA stwierdza się w wydzielinach lipidowych skóry jak lanolina 45%, wosk 29% [Ran-Ressler i in., 2008] oraz w sebum 3-10% [Yan i in., 2017] i meibum, tłuszczowej wydzielinie gruczołów łojowych tarczki powieki [Liu i in., 2017]. Nieparzyste i rozgałęzione kwasy tłuszczowe występują również w ludzkim osoczu [Mika i in., 2016]. W błonach komórkowych kwasy BCFA pełnią podobne funkcję do nienasyconych kwasów tłuszczowych (w konfiguracji cis) jak np. zapewnienie odpowiedniej płynności błon [Kaneda, 1977]. Ze względu na brak nienasyconych wiązań są bardziej odporne na procesy oksydacyjne zachodzące w tkankach niż PUFA, dlatego BCFA wydzielane są tam gdzie istnieje największe narażenie organizmu na działanie tlenu (łzy oraz wydzieliny skóry tworzące tzw. film) [Liu i in., 2017].

Tabela 2. Zawartość BCFA w rekomendowanej i średniej ilości spożywanych produktów odzwierzęcych w USA [USDA 2008]

Rodzaj produktu	Średnia wielkość spożywanej ilości produktu		Rekomendowana ilość, która powinna być spożywana	
	Porcja (g)	Zawartość BCFA w porcji (mg)	Porcja (g)	Zawartość BCFA (mg)
Mleko	119	54	215	98
Ser	30	168	53	297
Wołowina	50	180	50	180
Łącznie	199	402	318	575

Na szczególne znaczenie kwasów OBCFA może wskazywać wysoka zawartość BCFA w płynie owodniowym i smółce noworodków, a także w białej mazi płodowej (vernix caseosa) pokrywającej ciało noworodka po porodzie [Ran-Ressler i in., 2008]. Maź płodowa jest unikalną wydzieliną organizmu kobiety, występująca wyłącznie u ludzi [Pickens i in.,

2000]. Kwasy BCFA stwierdzone w mazi płodowej to przede wszystkim: kwasy dimetylowe i kwasy z serii *anteizo*, natomiast w smółce oznaczono kwasy w konfiguracji *izo* [Ran-Ressler i in., 2011b], które mogą stanowić nawet do 30% wszystkich kwasów tłuszczowych mazi [Liu i in., 2017]. W późnym okresie ciąży BCFA wraz z mazią i płynem owodniowym połykane są przez płód. Pełnią więc istotną rolę odżywczą w życiu płodowym. Jak podają Liu i in. [2017] są łatwo przyswajalne przez enterocyty płodowe przez co koncentracja BCFA w jelitach może sięgnąć do 50% wszystkich kwasów tłuszczowych w błonach fosfolipidowych (Tab. 2). Obecność BCFA korzystnie wpływa na mikroflorę przewodu pokarmowego, co może w dużym stopniu wpływać również na kształtowanie mikroflory przewodu pokarmowego noworodków [Ran-Ressler i in., 2011b, Ran-Ressler i in., 2008].

Korzystny wpływ na stan zdrowotny jelit stwierdzono między innymi w badaniach na szczurach, które otrzymywały mleko wzbogacone w BCFA (*izo* C14:0, *anteizo* C15:0, *izo* C16:0, *anteizo* C17:0, *izo* C18:0 i *izo* C20:0). W porównaniu do szczurów z grupy kontrolnej zaobserwowano mniejszą liczbę przypadków martwiczego zapalenia jelit [Ran-Ressler i in., 2011c]. W przypadku wcześniaków problem martwiczego zapalenia jelit może dotyczyć nawet 5-10% dzieci. Główną przyczyną może być żywienie dojelitowe i kolonizacja jelit florą bakteryjną. Jak podają Cilieborg i in. [2012] brak odpowiedniej ilości bakterii i ich mały przyrost również może przyczynić się do wzrostu występowania tego schorzenia. Kwasy BCFA mogą mieć więc istotny wpływ na rozwój i funkcjonowanie tkanek jelit, a przez to na zdrowie i prawidłowy rozwój noworodków [Ran-Ressler i in., 2011a].

Nieparzyste i rozgałęzione kwasy tłuszczowe mają wiele potwierdzonych właściwości prozdrowotnych. Stwierdzono wpływ OBCFA na wzrost i apoptozę w hodowlach ludzkich komórek nowotworowych (różnych linii) [Wongtangtintharn, 2004, Yang i in., 2000]. Kwasy OBCFA mogą więc stanowić zdrową alternatywę do chemioterapii stosowanych w leczeniu nowotworów, które mogą wywoływać wiele niepożądanych efektów ubocznych [Yang i in., 2000]. Przykładem jest kwas *izo* C15:0, (13-metylotetradekanowy, 13 MTD), otrzymany z produktów fermentacji soi, w przypadku którego stwierdzono jego zdolność do indukowania apoptozy ludzkich komórek nowotworowych, zarówno w warunkach *in vitro* jak i *in vivo* [Yang i in., 2000]. Zaobserwowano indukcję apoptozy aż w 7 liniach komórek nowotworowych jak: MCF7 (komórki raka piersi), DU-145 (komórki raka prostaty), NCI-SNU-1 (komórki raka żołądka), SNU- 423 (komórki raka wątroby), NCI-H1688 (komórki raka płuc), BxPC3 (gruczolak

trzustki), HCT116 (komórki raka okrężnicy) i K-562 (białaczka) już po 2 godzinach podawania kwasu [Yang i in., 2000]. Z kolei dożołądkowe podawanie myszom kwasu *izo* C15:0, 13 MTD w dawce 35 mg/kg m.c, hamowało rozwój indukowanych nowotworów w wątrobie i prostaty [Yang i in., 2000]. W innych badaniach stwierdzono korzystniejszy wpływ kwasów z serii *izo* w hamowaniu syntezy komórek raka piersi przy udziale kwasu *izo* C16:0 [Wongtangtintharn i in., 2011]. W przypadku kwasu *izo* C15:0, 13 MTD stosowanego warunkach *in vitro* skuteczne (śmiertelne) okazały się również niższe dawki 10-25 µg/ml [Yang i in., 2000]. Dodatkowo nie wykazano znaczących efektów ubocznych u zwierząt, którym kwas *izo* C15:0 podawano w dużej dawce przez okres 6 tygodni [Yang i in., 2000].

W badaniach Wongtangtintharn i in. [2011] stwierdzono wpływ BCFA na hamowanie syntezy kwasów tłuszczowych w guzach. Ma to duże znaczenie w terapii nowotworowej, ponieważ komórki rakowe w porównaniu do zdrowych, są bardziej uzależnione od syntezy kwasów tłuszczowych. Obecnie prowadzone badania mają na celu wyjaśnienie dokładnego mechanizmu związanego z apoptozą indukowaną przez OBCFA. Wyjaśnienie procesu jest ważnym i koniecznym elementem w leczeniu nowotworów [Lin i in., 2012]. W badaniach Lin i in. [2012] nad wykorzystaniem *izo* C15:0, 13 MTD w leczeniu nowotworu pęcherza moczowego, udało się po raz pierwszy wytłumaczyć potencjalny mechanizm apoptotycznego działania kwasu. Na podstawie powyższych badań wykazano, że indukcja apoptozy wywołuje zaburzenia mitochondrialne co doprowadza do uwolnienia cytochromu C z mitochondriów do cytoplazmy oraz proteolitycznej aktywacji kaspaz. Wywołana przy udziale 13-MTD apoptoza mitochondrialna odbywa się za pośrednictwem regulacji szlaków kinaz białkowych: AKT i MAPK [Lin i in., 2012]. Kwasy BCFA mogą również indukować aktywację oraz wydzielanie czynnika martwiczego nowotworu (TNF-α), który jest niezbędny do wywołania apoptozy komórek [Idel i in., 2002].

Podsumowanie

Rozwój technik chromatograficznych wpłynął na poznanie funkcji fizjologicznych OBCFA. Zawartość OBCFA w tłuszczu mleka krów zależy od wielu czynników, między innymi od składu dawki pokarmowej (udziału pasz objętościowych i treściwych), pH treści żwacza i stężenia amoniaku. Zawartość OBCFA w tłuszczu mleka krów w dużej mierze jest efektem bakteryjnych procesów żwaczowych, chociaż pewne znaczenie ma endogenna synteza i/lub konwersja niektórych kwasów w następstwie lipo mobilizacji. Analiza profilu

OBCFA jest obiecującą, nieinwazyjną metodą oceny procesów fermentacyjnych w żwaczu. Niektóre OBCFA zawarte w tłuszczu mleka mogą być markerami intensywności metanogenezy, wczesnego wykrywania kwasicy żwacza i przepływu dwunastniczego białka drobnoustrojów. Duże znaczenie OBCFA (głównie BCFA) wynika z potwierdzonych, dla tych kwasów tłuszczowych, właściwości apoptotyczne i antynowotworowe.

Literatura

- Alfonso-Avila A.R., Baumann E., Charbonneau É., Chouinard P.Y., Tremblay G.F., Gervais R. (2017). Interaction of potassium carbonate and soybean oil supplementation on performance of early-lactation dairy cows fed a high-concentrate diet. *Journal of dairy science* 100, 9007–9019.
- Bauman D.E., Griinari J.M. (2003). Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition* 23, 203–227.
- Baumann E., Chouinard P.Y., Lebeuf Y., Rico D.E., Gervais R. (2016). Effect of lipid supplementation on milk odd-and branched-chain fatty acids in dairy cows. *Journal of dairy science*, 99, 6311-6323.
- Bessa R.J., Maia M.R., Jerónimo E., Belo A.T., Cabrita A.R., Dewhurst R.J., Fonseca A.J. (2009). Using microbial fatty acids to improve understanding of the contribution of solid associated bacteria to microbial mass in the rumen. *Animal Feed Science and Technology* 150, 197-206
- Brown J.B. (1946). The chemistry of the lipids. *Annual review of biochemistry* 15, 93-118.
- Buccioni A., Decandia M., Minieri S., Molle G., Cabiddu A. (2012) Lipid metabolism in the rumen: new insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. *Animal Feed Science and Technology* 174, 1-25.
- Chapinal N., Carson M.E., LeBlanc S.J., Leslie K.E., Godden S., Capel M., Santos J.E.P., Overton M.W., Duffield T.F. (2012). The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. *Journal of dairy science* 95, 1301–1309.
- Cilieborg M.S., Boye M., Sangild P.T. (2012). Bacterial colonization and gut development in preterm neonates. *Early human development* 88, S41-S49.

- Colman E., Fokkink W. B., Craninx M., Newbold J.R., De Baets B., Fievez V. (2010). Effect of induction of subacute ruminal acidosis on milk fat profile and rumen parameters. *Journal of dairy science* 93, 4759-4773.
- Correddu F., Gaspa G., Pulina G., Nudda A. (2016). Grape seed and linseed, alone and in combination, enhance unsaturated fatty acids in the milk of Sarda dairy sheep. *Journal of dairy science* 99, 1725-1735.
- Craninx M., Steen A., Van Laar H., Nepsen T., Martín-Tereso J., De Baets B., Fievez V. (2008). Effect of lactation stage on the odd- and branched-chain milk fatty acids of dairy cattle under grazing and indoor conditions. *Journal of dairy science* 91, 2662-2677.
- Dewhurst R.J., Moorby J.M., Vlaeminck B., Fievez V. (2007). Apparent recovery of duodenal odd- and branched-chain fatty acids in milk of dairy cows. *Journal of dairy science* 90, 1775-1780.
- Fievez V., Vlaeminck B., Dhanoa M.S., Dewhurst R.J. (2003). Use of principal component analysis to investigate the origin of heptadecenoic and conjugated linoleic acids in milk. *J. Dairy Sci.* 86, 4047-4053.
- Fievez V., Colman E., Castro-Montoya J.M., Stefanov I., Vlaeminck B. (2012). Milk odd- and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function-An update. *Animal Feed Science and Technology* 172, 51-65.
- Halmemies-Beauchet-Filleau A., Kokkonen T., Lampi A.-M., Toivonen V., Shingfield K.J., Vanhatalo A. (2011). Effect of plant oils and camelina expeller on milk fatty acid composition in lactating cows fed diets based on red clover silage. *Journal of dairy science* 94, 4413-4430.
- Harvey D.J. (1982). Picolinyl esters as derivatives for the structural determination of long chain branched and unsaturated fatty acids. *Biological Mass Spectrometry* 9, 33-38.
- Hauff S., Hottinger G., Vetter W. (2010). Enantioselective analysis of chiral anteiso fatty acids in the polar and neutral lipids of food. *Lipids* 45, 357-365.
- Idel S., Ellinghaus P., Wolfrum C., Nofer J.R., Gloerich J., Assmann G., Spener F., Seedorf U. (2002). Branched chain fatty acids induce nitric oxide-dependent apoptosis in vascular smooth muscle cells. *Journal of Biological Chemistry* 277, 49319-49325.

- Iven T., Herrfurth C., Hornung E., Heilmann M., Hofvander P., Stymne S., Feussner I. (2013). Wax ester profiling of seed oil by nano-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Plant Methods* 9, 24.
- Jenkins B., West J.A., Koulman A. (2015). A review of odd-chain fatty acid metabolism and the role of pentadecanoic acid (C15: 0) and heptadecanoic acid (C17:0) in health and disease. *Molecules* 20, 2425-2444.
- Jorjong S., van Knegsel A.T.M., Verwaeren J., Bruckmaier R.M., De Baets B., Kemp B., Fievez V. (2015). Milk fatty acids as possible biomarkers to diagnose hyperketonemia in early lactation. *Journal of dairy science* 98, 5211-5221.
- Kaneda T. (1963). Valine as a source of the branched short chain precursor in the biosynthesis of iso-C14, iso-C15, iso-C16 and iso-C17 fatty acids by *Bacillus, subtilis*. *Biochemical and biophysical research communications* 10, 283-287.
- Kaneda T. (1977). Fatty acids of the genus *Bacillus*: An example of branched-chain preference. *Bacteriological Reviews* 41, 391.
- Kay J.K., Kolver E.S., Thomson N.A., Roche J.R., Baumgard L.H. (2005). The effect of Vitamin E supplementation on production and fatty acid profiles. *Journal of dairy research* 72, 1-11.
- Kniazeva M., Crawford Q.T., Seiber M., Wang C.Y., Han, M. (2004). Monomethyl branched-chain fatty acids play an essential role in *Caenorhabditis elegans* development. *PLoS biology* 2, 257.
- Liu L., Wang Z., Park H.G., Xu C., Lawrence P., Su X., Wijendrane V., Walkerer W.A., Kothapalli K.S.D., Brenna J.T. (2017). Human fetal intestinal epithelial cells metabolize and incorporate branched chain fatty acids in a structure specific manner. *Prostaglandins, 26. 26. Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA)* 116, 32-39.
- Loor J.J., Ferlay A., Ollier A., Doreau M., Chilliard Y. (2005b). Relationship among trans and conjugated fatty acids and bovine milk fat yield due to dietary concentrate and linseed oil. *Journal of Dairy Science* 88, 726-740.
- Macfarlane G.T., Gibson G.R., Beatty E., Cummings J.H. (1992). Estimation of short-chain fatty acid production from protein by human intestinal bacteria based on branched-chain fatty acid measurements. *FEMS Microbiology Letters* 101, 81-88.

- Mann S., Nydam D.V., Lock A.L., Overton T.R., McArt J.A.A. (2016). Association of milk fatty acids with early lactation hyperketonemia and elevated concentration of nonesterified fatty acids. *Journal of dairy science* 99, 5851-5857.
- Mika A., Stepnowski P., Kaska L., Proczko M., Wisniewski P., Sledzinski M., Sledzinski T. (2016). A comprehensive study of serum odd- and branched-chain fatty acids in patients with excess weight. *Obesity (Silver Spring)*.
- Or-Rashid M.M., Odongo N.E., McBride B.W. (2007). Fatty acid composition of ruminal bacteria and protozoa, with emphasis on conjugated linoleic acid, vaccenic acid, and odd- and branched-chain fatty acids. *Journal of Animal Science* 85, 1228-1234.
- Pickens W.L., Warner R.R., Boissy Y.L., Boissy R.E., Hoath S.B. (2000). Characterization of vernix caseosa: water content, morphology, and elemental analysis. *Journal of investigative dermatology* 115, 875-881.
- Ran-Ressler R.R., Devapatla S., Lawrence P., Brenna J.T. (2008). Branched chain fatty acids are constituents of the normal healthy newborn gastrointestinal tract. *Pediatric Research* 64, 605–609.
- Ran-Ressler R.R., Sim D., O'Donnell-Megaró A.M., Bauman D.E., Barbano D.M., Brenna J.T. (2011a). Branched chain fatty acid content of United States retail cow's milk and implications for dietary intake. *Lipids* 46, 569-576.
- Ran-Ressler R.R., Lawrence P., Brenna J.T. (2011b). Structural characterization of saturated branched chain fatty acid methyl esters by collisional dissociation of molecular ions generated by electron ionization. *Journal of Lipid Research*, jlr. D020651.
- Ran-Ressler, R.R., Khailova L., Arganbright K.M., Adkins-Rieck C.K., Jouni Z.E., Koren O., Dvorak B. (2011c). Branched chain fatty acids reduce the incidence of necrotizing enterocolitis and alter gastrointestinal microbial ecology in a neonatal rat model. *PLoS ONE* 6, e29032.
- Rego O.A., Rosa H.J.D., Portugal P.V., Franco T., Vouzela C.M., Borba A.E.S., Bessa R.J.B. (2005). The effects of supplementation with sunflower and soybean oils on the fatty acid profile of milk fat from grazing dairy cows. *Animal Research*. 54, 17–24.
- Rico D.E., Chouinard P.Y., Hassanat F., Benchaar C., Gervais R. (2016). Prediction of enteric methane emissions from Holstein dairy cows fed various forage sources. *Animal* 10, 203–211.

- Romo G.A., Erdman R.A., Teter B.B., Sampugna J., Casper D.P. (2000). Milk composition and apparent digestibilities of dietary fatty acids in lactating dairy cows abomasally infused with cis or trans fatty acids. *Journal of Dairy Science* 83, 2609–2619.
- Shingfield K., Ahvenjarvi S., Toivonen V., Arola A., Nurmela K.V.V., Huhtanen P., Griinari J. (2003). Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. *Animal Science* 77, 165–179.
- Shingfield K.J., Reynolds C.K., Lupoli B., Toivonen V., Yurawecz M.P., Delmonte P., Griinari J.M., Grandison A.S., Beever D.E. (2005b). Effect of forage type and proportion of concentrate in the diet on milk fatty acid composition in cows given sunflower and fish oil. *Animal Science* 80, 225–238.
- Singh A.P., Avramis C.A., Kramer J.K.G., Marangoni A.G. (2004). Algal meal supplementation of the cows' diet alters the physical properties of milk fat. *Journal Dairy Research* 71, 66–73.
- USDA_Economic_Research_Service_(ERS). Food availability (per capita) data system. USDA; Washington, DC: 2008. [updated 2008; cited 2010 22 July]; Updated date: February 1, 2010
- Wenk, M. R. (Ed.). (2016). *Encyclopedia of Lipidomics*. Springer.
- Wongtangtharn S., Oku H., Iwasaki H., Toda T. (2004). Effect of branched chain fatty acids on fatty acid biosynthesis of human breast cancer cells. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 50, 137–143.
- van Gastelen S., Mollenhorst H., Antunes-Fernandes E.C., Hettinga K.A., van Burgsteden, G.G., Dijkstra J., Rademaker J.L.W. (2018). Predicting enteric methane emission of dairy cows with milk Fourier-transform infrared spectra and gas chromatography-based milk fatty acid profiles. *Journal of dairy science* 101, 1–17
- van Zanten G.C., Krych L., Röytiö H., Forssten S., Lahtinen S.J., Al-Soud W.A., Jakobsen M. (2014). Synbiotic *Lactobacillus acidophilus* NCFM and cellobiose does not affect human gut bacterial diversity but increases abundance of lactobacilli, bifidobacteria and branched-chain fatty acids: a randomized, double-blinded cross-over trial. *FEMS microbiology ecology* 90, 225–236
- Vazirigohar M., Dehghan-Banadaky M., Rezayazdi K., Nejati-Javaremi A., Mirzaei-Alamouti H., Patra A.K. (2018). Effects of diets containing supplemental fats on ruminal

- fermentation and milk odd-and branched-chain fatty acids in dairy cows. *Journal of dairy science* 101, 1–9.
- Velick S. F., English J. (1945). The synthesis and configuration of d-14-methylpalmitic acid and its identity with the natural acid from wool fat. *Journal of Biological Chemistry* 160, 473-480;
- Vlaeminck B., Dufour C., van Vuuren A.M., Cabrita A.R., Dewhurst R.J., Demeyer D., Fievez V. (2005). Use of odd and branched-chain fatty acids in rumen contents and milk as a potential microbial marker. *Journal of dairy science* 88, 1031-1042.
- Vlaeminck B., Fievez V., Cabrita A.R., Fonseca A.J., Dewhurst R.J. (2006a). Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk. *Animal Feed Science and Technology* 131, 389-417.
- Vlaeminck B., Fievez V., Tamminga S., Dewhurst R.J., van Vuuren A., De Brabander D., Demeyer D. (2006b). Milk odd- and branched fatty acids in relation to the rumen fermentation pattern. *Journal of dairy science* 89, 3954-3964.
- Vlaeminck B., Gervais R., Rahman M.M., Gadeyne F., Gorniak M., Doreau M., Fievez V. (2015). Postruminal synthesis modifies the odd-and branched-chain fatty acid profile from the duodenum to milk. *Journal of dairy science* 98, 4829-4840.
- Yan Y., Wang Z., Wang X., Wang Y., Xiang J., Kothapalli K.S., Brenna J.T. (2017). Branched chain fatty acids positional distribution in human milk fat and common human food fats and uptake in human intestinal cells. *Journal of functional foods* 29, 172-177.
- Yan Y., Wang X., Liu Y., Xiang J., Wang X., Zhang H., Huang J. (2015). Combined urea-thin layer chromatography and silver nitrate-thin layer chromatography for micro separation and determination of hard-to-detect branched chain fatty acids in natural lipids. *Journal of Chromatography A* 1425, 293–301.
- Yang Z., Liu S., Chen X., Chen H., Huang M., Zheng J. (2000). Induction of apoptotic cell death and *in vivo* growth inhibition of human. *Cancer research* 60, 505-509.

Modyfikowanie profilu kwasów tłuszczowych – za i przeciw

**Władysław Migdał¹, Jarosław Nowak¹, Ewelina Węsierska¹,
Marzena Zając¹, Maria Walczycka¹, Joanna Tkaczewska¹, Piotr Kulawik¹, Łukasz Migdał²,
Henryk Pustkowiak³**

¹*Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie*

²*Katedra Genetyki i Metod Doskonalenia Zwierząt, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie*

³*Instytut Nauk o Zwierzętach, Zakład Hodowli Bydła, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie*

Migdał W. e-mail: wladyslaw.migdal@ur.krakow.pl

Streszczenie

Profil kwasów tłuszczowych tłuszczu mięśniowego uzależniony jest od gatunku, rasy, płci, typu użytkowego, żywienia i systemu utrzymania zwierząt. Pomimo tego, że mięso nie jest jedynym składnikiem diety człowieka podejmowane są próby modyfikowania profilu kwasów tłuszczowych tłuszczu zwierząt rzeźnych poprzez stosowanie w ich żywieniu pełnotłustych nasion roślin oleistych lub dodatku olejów roślinnych. Celem opracowania jest przedstawienie argumentów za i przeciw modyfikowania profilu kwasów tłuszczowych surowców zwierzęcych.

Słowa kluczowe: produkty pochodzenia zwierzęcego, kwasy tłuszczowe, modyfikowanie

Wstęp

Tłuszczowce (lipidy) pełnią w organizmie człowieka i zwierząt równie ważną rolę jak pozostałe składniki – woda, białka, związki mineralne, węglowodany. Jest to grupa niejednorodna, gdyż wśród lipidów wyróżniamy ważne biologicznie grupy: tłuszcze obojętne (właściwe), fosfolipidy, steroidy, karotenoidy, woski. Lipidy wykorzystywane są między innymi do budowy błon komórkowych, stanowią około 60% masy mózgu. Istotną rolę w funkcjonowaniu układu nerwowego odgrywiają wielonienasycone kwasy omega-3

(głównie kwasy: eikozapentaenowy *EPA* i dokozaheksaenowy *DHA*), kwasy omega-6, cholesterol (wchodzi w skład błon komórkowych i w skład otoczek mielinowych w układzie nerwowym) oraz lecytyna, która decyduje o prawidłowym funkcjonowaniu komórek nerwowych [Zabłocka i Janusz, 2007]. Ponadto cholesterol jest prekursorem hormonów steroidowych, w tym między innymi hormonów płciowych, kortykosteroidów oraz hormonów tkankowych. Uważa się, że w okresie życia płodowego, w okresie dojrzewania płciowego tłuszcze odgrywają szczególną rolę. Tłuszcz jest ważnym źródłem energii (najwyższa wartość energetyczna (9,3 kcal/g - 38,9 kJ/g), zapasem energii na wypadek głodu lub zwiększonego zapotrzebowania. Chroni organy wrażliwe (funkcja ochronna tłuszczu), izoluje organizm przed nadmierną utratą ciepła (tłuszcz podskórny). Ponadto tłuszcz jest źródłem witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, w tym jedynym źródłem niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych nazywanych również witaminą F [Migdał i in., 2008; Woodgate i van der Veen, 2014; Ziemiański, 1996]. Tłuszcze pełnią ważną rolę w technologii żywności, gdyż decydują o wartości kulinarnej i przetwórczej mięsa, kształtują soczystość mięsa, stanowią o jego marmurkowatości. Są najważniejszym medium podczas przyrządzania potraw poddawanych obróbce termicznej (smażenie, pieczenie), nadają potrawom pożądany, charakterystyczny zapach i smak. Tłuszcze są nośnikami związków smakowo-zapachowych. mięsa i produktów mięsnych, gdyż mają zdolność do rozpuszczania substancji smakowych i zapachowych. Zbyt chude mięso i produkty mięsne pomimo tego, że zawierają wszystkie związki smakowe i zapachowe są mniej smaczne i soczyste w porównaniu z mięsem i produktami mięsnymi o umiarkowanej zawartości tłuszczu [Achremowicz i Szary-Sworst, 2005; Migdał i in., 2008]. Jednocześnie tłuszcz postrzegany jest przez dietetyków jako najmniej pożądany składnik żywności, któremu przypisuje się odpowiedzialność za rozwój prawie wszystkich tzw. chorób cywilizacyjnych (chronicznych chorób środowiskowych), głównie chorób układu krążenia. Jednak w przeprowadzonych w ostatnich latach analizach dotyczących związku między spożyciem nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) a chorobami układu krążenia (CVD, cardiovascular diseases) nie zaobserwowano statystycznie istotnych zależności [Chowdhury i in., 2014]. Hooper i in. [2001] analizując wyniki 27 dużych projektów badawczych, wykazali istnienie słabej (statystycznie niepotwierdzonej) zależności między ilością konsumowanego tłuszczu a poziomem cholesterolu w surowicy krwi i zapadalnością na choroby serca. Za nadinterpretacje i wprowadzanie konsumenta w błąd

należy uznać publikacje w których niektórym rodzajom mięs przypisuje się nadzwyczajne (dietetyczne) właściwości pisząc, że „zawierają tylko 1,5% tłuszczu, podczas gdy wieprzowina zawiera 10-50% tłuszczu a wołowina 7-30% tłuszczu”. Nie można porównywać piersi kurczaka czy combra króliczego z tłustym boczkiem czy tłustą łatą wołową. Porównujmy elementy porównywalne, tym bardziej, że nazwy szynka i polędwica drobiowa (piers) zostały wprowadzone w 1998 r. zmianą PN-A-86526/A1 do normy podstawowej z 1995 roku. Każdy rodzaj mięsa charakteryzuje się optymalną zawartością tłuszczu. Grześkowiak i in. [2009] podają, że optymalna ilość tłuszczu w mięsie jagnięcym, wpływająca korzystnie na cechy sensoryczne powinna mieścić się w przedziale 1,5 – 2,5%.

Biorąc pod uwagę wszystkie argumenty za i przeciw nie należy eliminować tłuszczu z diety, ale powinniśmy zwracać uwagę na ilość i rodzaj spożywanego tłuszczu. Zakłada się, że tłuszcz spożywany powinien być w ilości 0,8 g – 2 g na 1 kg masy ciała [Włodarczyk i in., 2017]. Z żywieniowego punktu widzenia istotna jest nie tylko ogólna ilość tłuszczu dostarczanego z pokarmem, ale udział poszczególnych grup kwasów tłuszczowych: nasyconych (Saturated Fatty Acids - SFA), jednonienasyconych (Monounsaturated Fatty Acids - MUFA), wielonienasyconych (Polyunsaturated Fatty Acids - PUFA), kwasów tłuszczowych w konfiguracji trans (Trans Fatty Acids - TFA) czy sprzężonych dienów kwasu linolowego (Conjugated Linoleic Acid - CLA) [Achremowicz i Szary-Sworst, 2005; Dybkowska, 2015; Migdał i in., 2008]. Zalecenia żywieniowe postulują ograniczenie spożycia tłuszczów ogółem do poziomu poniżej 30%, nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) poniżej 10% i izomerów trans nasyconych kwasów tłuszczowych poniżej 2% spożytej energii [za Achremowicz i Szary-Sworst, 2005]. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA) powinny stanowić; n-6 od 2 do 8% energii, a n-3 w ilości 2 g/dzień kwasu α -linolenowego (ALA) i 200 mg/dzień długołańcuchowych kwasów tłuszczowych eikozapentaenowego i dokozaheksaenowego. Aby zapewnić właściwe przyswajanie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych należy pamiętać o witaminie E jako naturalnym przeciwutleniaczu. Zalecana ilość to 0,4 mg α -tokoferolu na 1 g PUFA w diecie [Achremowicz i Szary-Sworst, 2005].

Ważny jest również stosunek kwasów tłuszczowych wielonienasyconych do nasyconych (PUFA/SFA), uznawany powszechnie za wskaźnik jakości tłuszczu, z punktu widzenia zdrowia człowieka. Jednak korzystna proporcja PUFA/SFA nie idzie w parze z korzystną proporcją n-6/n-3, gdyż przy wzroście PUFA wzrastają głównie kwasy PUFA

z rodziny n-6. Ulbricht i Southgate [1991] przedstawili inne wskaźniki jakości tłuszczu, między innymi wskaźnik ryzyka chorób układu krążenia - indeks aterogenności (index of atherogenicity - AI). Określa on proporcję kwasów SFA (kwas mirystynowy i palmitynowy) do UFA (PUFA + MUFA), wskazując na istotną, negatywną rolę kwasu mirystynowego, i pozytywną rolę kwasów z grupy MUFA w żywieniu człowieka. Udział poszczególnych grup kwasów tłuszczowych w tłuszczach pochodzenia zwierzęcego zależy od rodzaju mięsa, a więc gatunku zwierzęcia z którego mięso pochodzi. Zwraca uwagę duże zróżnicowanie profilu kwasów tłuszczowych tłuszczu mięśniowego zwierząt rzeźnych. Żaden tłuszcz mięśniowy nie charakteryzuje się idealnym profilem kwasów tłuszczowych, zgodnym z zaleceniami żywieniowymi. Należy jednak podkreślić, że zalecenia żywieniowe dotyczą dziennej diety, a nie pojedynczego pokarmu wchodzącego w skład diety. Żadna dieta człowieka (nawet dieta paleo) nie jest oparta tylko na mięsie i produktach mięsnych, dlatego połączenie produktów roślinnych z mięsem oraz urozmaicenie dziennej diety różnymi rodzajami mięs pozwala pobrać odpowiednią do zapotrzebowania ilość kwasów tłuszczowych. Mięso przeżuwaczy (wołowina i baranina) przedstawiane jest przez dietetyków jako mniej pożądane ze względu na dużą zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA). Zwraca się uwagę na wyższą niż w mięsie innych gatunków zwierząt np. mięsie drobiowym, wieprzowinie, zawartość kwasów o działaniu hipercholesterolemicznych - laurynowego C12:0 i mirystynowego C14:0. Z drugiej strony podkreśla się, że mięso i mleko przeżuwaczy są jedynymi naturalnymi źródłami sprzężonego kwasu linolowego (CLA). Sprzężony kwas linolowy (CLA) ma silne właściwości antyoksydacyjne, wykazuje działanie przeciwnowotworowe, przeciwcukrzycowe oraz korzystnie wpływa na funkcje układu odpornościowego. Wykazano, iż kwas ten podobnie jak kwas stearynowy przeciwdziała odkładaniu się cholesterolu w organizmie człowieka [Karwat i in., 2013; Bartnikowska i in., 1999]. W mięsie i mleku zwierząt przeżuwających, szczególnie korzystających z pastwiska stwierdza się szczególnie wysoką zawartość CLA. Zielone trawy i koniczyny zawierają dużą ilość (50-75%) kwasów tłuszczowych w postaci kwasu α -linolenowego – C18:3 LNA a w wyniku przemian biochemicznych mających miejsce w żwaczu i gruczole mlekowym z LNA powstaje CLA [Nałęcz-Tarwacka i Zdanowska-Sąsiadek, 2011]. Na mięso owcze jako szczególnie cenne źródło wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA), CLA jak również L-karnityny zwrócili uwagę również inni autorzy [Patkowska-Sokoła i in., 2000; Patkowska-Sokoła i in., 2004;

Łukasiewicz i in., 2011; Kawęcka i in., 2016]. Spośród kilku izomerów składających się na CLA, w mleku i jego przetworach izomer *cis-9, trans-11* stanowi 73-93% wszystkich izomerów CLA, zaś w wołowinie – 57-85% CLA ogółem. Izomer ten powstaje w wyniku uwodornienia kwasu linolowego i linolenowego, za pomocą enzymów bakterii *Butyrivibrio fibrisolvens* występujących w żwaczu [Bartnikowska, 2001]. Zwiększenie zawartości sprzężonych dienów kwasu linolowego w tłuszczu zwierząt (mleka oraz śródmięśniowym i zapasowym) można uzyskać najłatwiej dodając do paszy zwierząt preparaty CLA [Migdał i in., 2004]. Migdał i in. [2002] podając tucznikom sprzężony kwas linolowy stwierdzili w tłuszczu schabu, szynki i słoniny statystycznie istotny wzrost nasyconych kwasów tłuszczowych kosztem nienasyconych kwasów tłuszczowych — głównie kosztem kwasu linolowego. Zwiększeniu uległ udział kwasów C16:0 i C18:0 oraz kwasu linolenowego C18:3. Podobne zmiany stwierdzili Eggert i in. [2001] podając tucznikom od 75 do 120 kg masy ciała 1% CLA-60. Natomiast Thiel-Cooper i in. [2001] podając świniom rosnącym od 26 do 116 kg masy ciała, różne poziomy CLA (0; 0,12; 0,25; 0,5 lub 1%) obserwowali wzrost poziomu kwasu linolowego oraz oleinowego w tłuszczu śródmięśniowym. Takie postępowanie nie ma jednak praktycznego uzasadnienia z ekonomicznego punktu widzenia. Ponadto mięso tuczników otrzymujących preparat CLA może wykazywać zmieniony (metaliczny) posmak. W tłuszczu ryb i owoców morza zwraca uwagę wysoka zawartość kwasów eikozapentaenowego (EPA) i dokozapentaenowego (DHA), które odgrywają istotną funkcję w organizmie człowieka [Weichselbaum i in., 2013]. Kwas DHA jest niezbędny do prawidłowego funkcjonowania mózgu (stanowi ok. 60 % kory mózgowej) oraz do budowy tzw. neurotransmiterów; stanowi budulec do produkcji serotoniny i dopaminy. Z kolei kwas EPA warunkuje prawidłową syntezę eikozanoidów (prostaglandyn, prostacyklin, leukotrienów i tromboksanów) [Materac i in., 2013; Wcisło i Rogowski, 2006]. Zalecane pobrania sumy kwasów EPA i DHA powinno zawierać się między 250 a 500 mg na dobę. Według Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) [2010] spożycie 250 mg EPA + DHA na dobę jest wystarczające do uzyskania efektu zdrowotnego w profilaktyce układu sercowo-naczyniowego [za Kaliniak i in., 2015]. Jednak nadmiar tych kwasów może niekorzystnie wpływać na organizm człowieka, poprzez zwiększenie peroksydacji lipidów i redukcję produkcji cytokin. Dlatego według ekspertów EFSA [2010] oraz FAO/WHO [2010] górny poziom spożycia EPA i DHA nie powinien przekraczać 2 g na dobę. Wprowadzenie ryb do diety człowieka pozwala

uzyskać zalecane proporcje kwasów tłuszczowych i pokrywa dzienne zapotrzebowanie organizmu na kwasy tłuszczowe. Pomimo tego, że mięso nie jest jedynym składnikiem diety człowieka podejmowane są próby modyfikowania profilu kwasów tłuszczowych tłuszczu zwierząt rzeźnych poprzez stosowanie w ich żywieniu pełnotłustych nasion roślin oleistych lub dodatku olejów roślinnych [Baranowski i in., 2008; Barowicz i in., 2002; Borowiec i Augustyn 2009; Borys i Borys 2005; Jeronimo i in., 2009; Kowalska i in., 2011; Pieszka i in., 2004; Radzik-Rant i Rant, 2007]. W polskiej hodowli w żywieniu zwierząt stosuje się komponenty oleiste zawierające olej rzepakowy i słonecznikowy (pełnotłuste nasiona lub makuchy powstające przy produkcji biodiesla) oraz lniany (nasiona lnu), charakteryzujące się wysoką zawartością nienasyconych kwasów tłuszczowych. Wprowadzenie do diety nasion roślin oleistych bądź też olei roślinnych powoduje zwiększenie w mięśniach poziomu kwasów α -linolenowego i eikozapentaenowego (EPA), natomiast suplementacja dawki pokarmowej olejem rybnym zwiększa zawartość kwasów EPA oraz dokozaheksaenowego (DHA). Borowiec i in. [1998] podając tucznikom mieszankę pełnodawkową z udziałem śruty z pełnotłustych nasion rzepaku stwierdzili najwyższy wzrost poziomu kwasów linolowego i linolenowego w tłuszczu szynki. Podobne tendencje obserwowali Ostoja i in. [1996] oraz Falkowski i in. [1997]. Tłuszcz śródmięśniowy schabu był bardziej stabilny i nie reagował w takim stopniu na podanie tłuszczu z dużym udziałem egzogennych kwasów tłuszczowych. Zastosowanie śruty z pełnych nasion rzepaku w mieszankach pełnodawkowych dla tuczników przyczyniło się do podwyższenia zawartości kwasu linolowego i linolenowego przy jednoczesnym obniżeniu ilości kwasu palmitynowego i stearynowego [Busboom i in., 1991; Lipiński i in., 1996]. Podobne efekty obserwowali Grela [1992 i 1995]) po podaniu tucznikom oleju sojowego, Myer i in. [1992] po podaniu oleju rzepakowego oraz Barowicz i in. [1996] po podaniu oleju słonecznikowego. Podanie oleju arachidowego o wysokiej zawartości kwasu oleinowego spowodowało wzrost zawartości tego kwasu w tłuszczu śródmięśniowym do 54% [Myer i in., 1992], a podanie oleju lnianego spowodowało wzrost zawartości kwasu linolenowego (do 9%) w tłuszczu słoniny tuczników [Fontanillas i in., 1998]. Barowicz i in. [1998] podając tucznikom mieszankę pełnodawkową z 4 lub 8% dodatkiem śruty z pełnych nasion lnu stwierdzili obniżenie zawartości tłuszczu w mięśniach oraz wzrost zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych typu n-3 (głównie linolenowego) przy jednoczesnym obniżeniu zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych. Siemińska i in. [2011] wykazali, że

żywienie jagniąt makuchem słonecznikowym i nasionami lnu wpłynęło korzystnie na właściwości odżywcze tłuszczu mięśnia, wątroby i serca, a suplementacja mieszanki treściwej witaminą E potęgowała ten korzystny wpływ. Wzrost zawartości kwasów nienasyconych w mięsie i innych produktach pochodzenia zwierzęcego powoduje zwiększenie (niekorzystne) ich podatności na utlenianie. Proces ten zachodzi przede wszystkim podczas obróbki kulinarnej mięsa i jego przechowywania. Zmianom tym można skutecznie przeciwdziałać poprzez podawanie zwierzętom przeciwutleniaczy, wśród których za najskuteczniejszy uznaje się witaminę E (tokoferol) [Gabryszuk i in., 2007]. Jeronimo in. [2009] wykazali, że istotny wpływ na profil kwasów ma nie tylko ilość, ale i wzajemne proporcje komponentów oleistych (olej słonecznikowy i lniany) w mieszance pokarmowej. Liczne badania wykazały, że dodatek komponentów oleistych do diety zwierząt gospodarskich, w tym tuczonych jagniąt [Baranowski i in., 2008; Borowiec i Augustyn, 2009; Borys i Borys, 2005; Jeronimo i in., 2009], wpływał na wzrost zawartości kwasów nienasyconych w tłuszczu wyrębów kulinarnych tych zwierząt. Charakter tych zmian zależy jednak od profilu kwasów tłuszczowych komponentów oleistych stosowanych w żywieniu zwierząt. Zmiany zawartości tłuszczu w mięsie spowodowane zróżnicowanym żywieniem zwierząt mają istotny wpływ na: poprawę stosunku kwasów SFA do UFA, kwasów rodzin PUFA n-6 do n-3. Uzupełnienie dawki pokarmowej witaminami A, E i niektórymi składnikami mineralnymi (selen) przeciwdziała procesom utleniania zachodzącym w mięsie podczas przechowywania [Forrester-Anderson i in., 2006; Kowalska, 2011; Zsédely i in., 2008]. Szybkość i kierunek utleniania lipidów mięsa zależy m.in. od ich składu chemicznego, zawartości wody, obecności naturalnych prooksydantów i antyoksydantów występujących w mięsie, procesów i operacji technologicznych oraz warunków przechowywania [Gašperlin i in., 2006]. Uzyskanie optymalnego poziomu tłuszczu śródmięśniowego jest sprawą bardzo istotną ponieważ tłuszcz pozostaje w ścisłym związku z wieloma cechami sensorycznymi mięsa między innymi z kruchością, smakowitością i soczystością. Jednak zbyt duża ilość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w tłuszczu śródmięśniowym lub zapasowym wpływa niekorzystnie na właściwości technologiczne i jakościowe - głównie sensoryczne mięsa. Miękki, mazisty tłuszcz, pogorszenie smaku i zapachu mięsa, zmniejszona trwałość, ograniczone możliwości przechowywania to podstawowe problemy związane z modyfikowaniem profilu kwasów tłuszczowych mięsa i jego przetworów. Przemiany spowodowane

utlenianiem się tłuszczów w tkance mięśniowej są główną przyczyną niepożądanych zmian chemicznych i sensorycznych nie tylko mięsa jako surowca, ale również przetworów mięsnych, dlatego dodatek wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w paszy dla zwierząt wymaga dodatku przeciwutleniaczy np. witaminy E (tokoferolu). Ponadto dodatek tłuszczu do dawek dla przeżuwaczy może się okazać zabójcze dla mikroflory żwacza, wymaga stosowania tzw. tłuszczu chronionego. Przekroczenie poziomu 10% tłuszczu w dawce dla owiec może być niekorzystne dla procesów trawiennych w przedżołądkach owiec, a zbyt daleko idąca modyfikacja profilu kwasów tłuszczowych ma negatywne skutki dla jakości mięsa. Udział izomerów kwasu linolowego (CLA) i wielonienasyconych długołańcuchowych kwasów tłuszczowych w mięsie poddanym długotrwałej obróbce wysokotermicznej może prowadzić do powstawania izomerów trans, które wywierają niekorzystne działanie na wiele procesów biochemicznych i fizjologicznych w organizmie człowieka. Kwasy tłuszczowe dostarczając aldehydów biorą udział w syntetyzowaniu związków chemicznych decydujących o aromacie mięsa a zbudowanych z heterocyklicznych pierścieni zawierających siarkę i/lub azot. Zaliczamy do nich laktany, alkilofurany, alkilopirydyny oraz alkilotiazole. Najważniejsze aldehydy dające niepożądany zapach to heksanal i pentanal. Wiele tych produktów utleniania lipidów powstaje podczas obróbki termicznej – smażenie, grillowanie, gotowanie. Kwas linolowy (C18:2) podczas gotowania gwałtownie utlenia się, co nadaje produktom mięsnym charakterystyczny, zjełczały zapach. Głównym produktem utleniania kwasu arachidonowego (C20:4) jest 1-okteno-3-ol nadający mięsu charakterystyczny grzybowy zapach. W wyniku utleniania kwasów z rodziny n-3 mięso nabiera nieakceptowanego przez konsumenta zapachu rybiego. Nośnikami tego zapachu są kwasy: α -linolenowy (C18:3), eikozapentaenowy (C20:5) oraz dokozaheksaenowy (C22:6). W amerykańskich i angielskich badaniach stwierdzono, że górną granicą zawartości tych kwasów (suma C18:3 + C20:5 + C22:6) akceptowaną przez konsumenta jest zawartość 3% tych kwasów w całej sumie kwasów tłuszczowych [Wood i in., 2008]. Jednocześnie badania porównawcze wykazały, że mięso zawierające więcej kwasów z rodziny n-6 jest smaczniejsze w porównaniu z mięsem zawierającym więcej kwasów z rodziny n-3. Kwas stearynowy odgrywa znaczącą rolę w kształtowaniu kruchości oraz soczystości mięsa. Poza bezwzględną zawartością grup kwasów tłuszczowych o różnym stopniu nasycenia, bardzo istotnym wskaźnikiem jakości tłuszczu jest stosunek kwasów nienasyconych (UFA) do nasyconych (SFA), który w diecie

człowieka powinien osiągać wartość zbliżoną do 2. Badania Wooda i in. [1999, 2004] wykazały dodatnią korelację pomiędzy smakiem mięsa a zawartością w nim kwasów nasyconych i jednonienasyconych oraz ujemną korelację w odniesieniu do kwasów wielonienasyconych. W prawidłowej dobowej racji pokarmowej lipidy powinny dostarczać 20-35% energii, z jednoczesnym pełnym pokryciem zapotrzebowania na witaminy rozpuszczalne w tłuszczach i niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe. Według EFSA (Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności) [2010] dzienne zapotrzebowanie na kwasy z rodziny n-3 wynosi 2,2 g. Kwas oleinowy (C18:1) wykazuje korzystny efekt w profilaktyce miażdżycy. Suma kwasów laurynowego C12:0 i mirystynowego C14:0 – kwasów o działaniu hipercholesterolemicznym w tłuszczu wołowym waha się od 2 do 3,7%. Wysoka zawartość kwasów nasyconych przyczynia się do kształtowania negatywnej opinii na temat wartości odżywczej wołowiny, jednak należy zauważyć, że nie wszystkie kwasy nasycone mają jednakowo niekorzystny efekt biologiczny. Kwasy palmitynowy (16:0) i występujący w niewielkich ilościach kwas mirystynowy (14:0) podnoszą poziom cholesterolu LDL w krwi, natomiast kwas stearynowy (18:0) uważany jest za neutralny. Negatywnego wpływu nie wywierają również, dominujące w mięsie wołowym, kwasy jednonienasycone. Stosunek kwasów tłuszczowych wielonienasyconych do nasyconych (PUFA/SFA) uznawany jest powszechnie za wskaźnik jakości tłuszczu, z punktu widzenia zdrowia człowieka. Według Wooda i in. [2003] stosunek PUFA/SFA powinien być wyższy niż 0,4, podczas gdy zazwyczaj stosunek tych kwasów w tłuszczu mięśniowym przeżuwaczy wynosi 0,1. Mała zawartość PUFA w stosunku do SFA w tłuszczu z mięsa przeżuwaczy może wiązać się z tym, iż nienasycone kwasy tłuszczowe są uwodorowane przy udziale mikroorganizmów zwiacza do nasyconych kwasów tłuszczowych. Pod względem zawartości i stosunku kwasów hipocholesterolemicznych i hipercholesterolemicznych bardziej wartościowe jest mięso cieląt i koźłat. Uważa się, że kwasy hipocholesterolemiczne, zmniejszają wchłanianie cholesterolu pokarmowego oraz kwasów żółciowych i wpływają na syntezę lipoprotein. Zawartość kwasów nienasyconych w tłuszczu mięsa jest korzystna, ze względu na niższy punkt topnienia. Ponadto kwasy te mogą wpływać dodatnio na ocenę sensoryczną głównie smakową mięsa, redukując specyficzny posmak „łojowaty”. Jednak zbyt wysoka zawartość kwasów nienasyconych w tłuszczu mięsa i mleka powoduje przede wszystkim pogorszenie właściwości technologicznych (miękkki i mazisty tłuszcz) oraz walorów sensorycznych – smaku

i zapachu. Niekorzystną cechą kwasów nienasyconych jest łatwość utleniania powodująca jełczenie tłuszczu i skracanie czasu przechowywania oraz niekorzystny wpływ na zapach przy dużej zawartości kwasów C18:2, C18:3, C20:4, C20:5 i C22:6. Daszkiewicz i in. [2014] sugerują, że charakterystyczny, niepożądany zapach mięsa baraniego, którego natężenie wzrasta wraz z wiekiem zwierzęcia oraz stopniem otłuszczenia, wynika ze zbyt dużej zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych w tym głównie C_{16:0} i C_{18:0} oraz zbyt małej ilości kwasów nienasyconych takich jak C_{18:1}, C_{18:2} i C_{18:3}.

Większa zawartość CLA i długołańcuchowych kwasów tłuszczowych przy niektórych procesach technologicznych (np. wędzeniu) prowadzi do powstawania szkodliwych dla zdrowia izomerów *trans* kwasów tłuszczowych. Z wyższą zawartością nienasyconych kwasów tłuszczowych (UFA) wiąże się również mniejsza trwałość produktów mięsnych i mlecznych (również barwy), spowodowana większą podatnością oksydacyjną nawet w stanie zamrożenia. Zapobiegać temu można przez stosowanie przeciwutleniaczy, głównie naturalnych witamin: E (tokoferol), β -karotenu oraz C. Szybkość i kierunek utleniania lipidów mięsa zależy m.in. od ich składu chemicznego, zawartości wody, obecności naturalnych prooksydantów i antyoksydantów występujących w mięsie, procesów i operacji technologicznych oraz warunków przechowywania [Gašperlin, 2006]. Nienasycone kwasy tłuszczowe w naturze występują w konformacji *cis* i w tej formie są biologicznie aktywne, natomiast w konformacji *trans* występują w naturze rzadko. Zastosowanie tłuszczu w procesach kulinarnych, w których wykorzystuje się wysoką temperaturę (smażenie, pieczenie, grillowanie) powoduje niekorzystne przemiany takie jak utlenianie, hydroliza, polimeryzacja, cyklizacja [Achremowicz i Szary-Sworst, 2005]. Podobnie dzieje się w trakcie wysokotermicznych procesów technologicznych (wędzenie na gorąco, wędzenie z pieczeniem). W trakcie tych procesów nienasycone kwasy tłuszczowe mogą zmieniać konformację *cis* na *trans*. Zawartość kwasów tłuszczowych *trans* w mięsie i mleku przeżuwaczy wynosi 1–11% całkowitej zawartości kwasów tłuszczowych, w wieprzowinie (0,2–2,2%) a w mięsie drobiowym 0,2–1,7%, [Achremowicz i Szary-Sworst, 2005]. Ilość kwasów tłuszczowych *trans* zwiększa się pod wpływem wysokotemperaturowej obróbki. Dlatego mięso i produkty mięsne o zmodyfikowanej, podwyższonej zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych nie powinny być poddawane działaniu wysokiej temperatury powyżej 150°C. Technolog i konsument powinni wiedzieć o zmodyfikowaniu profilu kwasów tłuszczowych produktów

pochodzenia zwierzęcego, dlatego konieczna jest współpraca hodowcy, technologa i konsumenta w tym zakresie. Utlenianie się lipidów, zachodzące w czasie przetwarzania surowca, np. mięsa, i późniejszego przechowywania produktu, prowadzi do znacznego pogorszenia jego jakości, a nawet do zepsucia. W wyniku utleniania kwasów tłuszczowych, szczególnie polienowych, powstaje wiele różnorodnych produktów zarówno lotnych, wpływających na cechy sensoryczne, jak i nielotnych, które pogarszają cechy fizykochemiczne i rzutują na jakość zdrowotną żywności. Z powyższych względów bardzo ważne jest przestrzeganie terminu przydatności do spożycia zarówno tłuszczów, jak i żywności zawierającej tłuszcz. Według zaleceń prawidłowego żywienia ważna jest wzajemna proporcja kwasów z rodziny n-6 do n-3 w diecie, która powinna wynosić (4-5) : 1, bez przekraczania wartości 10:1. Nadmierna dysproporcja pomiędzy kwasami z rodziny n-6 i n-3 w diecie może zakłócić równowagę w ilości syntetyzowanych, często antagonistycznie działających, eikozanoidów, prowadząc do stanów chorobowych [Candela i in., 2011].

Podsumowanie

Zróznicowanie profilu kwasów tłuszczowych w produktach pochodzenia zwierzęcego i roślinnego jest korzystne z żywieniowego punktu widzenia. Pozwala urozmaicić jadłospis człowieka i spełnić zalecenia żywieniowe. Pomimo zróżnicowania profilu kwasów tłuszczowych tłuszczu mięśniowego zwierząt rzeźnych podejmowane są próby jego modyfikowania. Główne kierunki prozdrowotnej modyfikacji profilu kwasów tłuszczowych to:

- zwiększenie udziału kwasów nienasyconych, zwłaszcza wielonienasyconych PUFA,
- zawężenie stosunku kwasów PUFA $n6/n3$,
- zwiększenie zawartości CLA (zwłaszcza izomeru C18:2 c9 t11).

Modyfikowanie profilu kwasów tłuszczowych może odbywać się zarówno na drodze genetycznej jak i żywieniowej. Jednak wielu autorów wskazuje na potrzebę bardziej kompleksowego i interdyscyplinarnego podejścia do tych zagadnień. Autorzy ci wskazują, że oprócz właściwości prozdrowotnych i funkcjonalnych mięsa czy jego przetworów, należy brać pod uwagę ich zwiększoną podatność oksydacyjną, mniejszą trwałość i związany z tym krótszy okres przechowywania produktów. Ponadto należy brać pod uwagę wpływ procesów przetwarzania surowców o zmodyfikowanym profilu kwasów

tłuszczowych (szczególnie obróbki wysokotermicznej) na cechy fizykochemiczne i jakość produktów finalnych.

Literatura

- Achremowicz K., Szary-Sworst K. (2005). Wielonienasycone kwasy tłuszczowe czynnikiem poprawy stanu zdrowia człowieka. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 3 (44), 23-35.
- Baranowski A., Jóźwik A., Bernatowicz E., Chyliński W. (2008). Fattening performance, slaughter indicators and meat chemical composition in lambs fed the diet supplemented with linseed oil and mineral bioplex. *Anim. Sci. Papers Rep.*, 26 (2), 117-127.
- Barowicz T., Pieszka M., Pietras M., Migdał W., Kędzior W. (2002). Conjugated linoleic acid utilization for improvement of chemical composition and dietetic value of pork meat. *Ann. Anim. Sci.*, 2, 123–130.
- Barowicz T., Pietras M., Brzóška F., Kołat S. (1996). Użytkowość, jakość tusz i mięsa rosnących świń otrzymujących w dawce dodatek oleju rybnego lub słonecznikowego. *Konf. „Genetyczne i środowiskowe uwarunkowania wartości rzeźnej i jakości mięsa zwierząt”*. Lublin, 13-14.06.1996, 101-105.
- Barowicz T., Pietras M., Gąsior R. (1998). Wpływ skarmiania pełnotłustych nasion lnu na wzrost, jakość tusz oraz skład kwasów tłuszczowych w mięśniu najdłuższym świń. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 25 (2), 95-107.
- Bartnikowska E. (2001). Use of CLA. *Bezpieczna żywność*. 1, 20–23.
- Bartnikowska E, Obiedziński M, Grzeszkiewicz S. (1999). Rola i znaczenie żywieniowe sprzężonych dienów kwasu linolowego. *Przem. Spożyw.*, 53, 16–18.
- Borowiec F., Augustyn R. (2009). Effect of dietary unsaturated fatty acids on some indicators in blood plasma and fatty acid content in selected tissues of fattening lambs. *J. Cent. Eur. Agric.*, 10, 1, 13-18.
- Borys B. (2015). Modyfikacje prozdrowotne mięsa jagnięcego – możliwości i ograniczenia. *Wiadomości Zootechniczne*, R. LIII, 1, 97–108.
- Borys.B., Borys A. (2005). Effect of the form of rapeseed and linseed in lamb diets on some health quality parameters of meat. *Annals Anim. Sci.*, 5, 1, 159-169.

- Busboom J.R., Rule D.C., Colin D., Heald T., Mazhar A. (1991). Growth, carcass characteristics, and lipid composition of adipose tissue and muscle of pigs fed canola. *J. Anim. Sci.*, 69, 1101-1108.
- Candela CG, Bermejo López LM, Kohen VL. (2001). Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health. Nutritional recommendations. *Nutr Hosp.*, 26(2), 323-329.
- Chowdhury R., Warnakula S., Kunutsor S. Crowe F., Ward H.A., Johnson L., Franco O.H., Butterworth A.S., Forouhi N.G., Thompson S.G., Khaw K.T., Mozaffarian D., Danesh J., Di Angelantonio E. (2014). Association of dietary, circulating, and supplement fatty acids with coronary risk: a systematic review and meta-analysis. *Ann. Intern. Med.*, 160, 398–406.
- Daszkiewicz T., Purwin C., Milewski S., Tański Z., Winiarski R., Kubiak D., Hnatyk N., Koba – Kowalczyk M. (2014). Jakość mięsa jagniąt rasy kamienieckiej pochodzącego z różnych elementów tuszy. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2, (93), 48 – 57.
- Dybkowska E. (2015). Rola kwasów tłuszczowych w żywieniu i zdrowiu człowieka. (w). *Znaczenie racjonalnego żywienia w edukacji zdrowotnej*, red. A. Wolska-Adamczyk, WSiLiZ, Warszawa.
- EFSA. (2010). Scientific opinion on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA J.*, 8 (3), 1461, 1-107.
- Eggert J.M., Belury M.A., Kempa-Steczko A., Mills S.E., Schinckel A.P. (2001). Effects of conjugated linoleic acid on the belly firmness and fatty acid composition of genetically lean pigs. *J. Anim. Sci.* 79, 2866-2872.
- Falkowski J., Kozera W., Bugnacka D., Kozłowski M., Meller Z. (1997). Wpływ mieszanek z udziałem produktów rzepakowych na jakość mięsa i tłuszczu śródmięśniowego knurów ubijanych w wieku 7 i 24 miesięcy. *Acta Acad. Agricult. Tech. Olst. Zootechnica*, 46, 53-61.
- FAO/WHO. (2010). Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation. *FAO Food and Nutrition Paper*. FAO, Rome 2010, 91.
- Fontanillas R., Barroeta A., Baucells M.D., Guardiola F. (1998). Backfat fatty acid evolution in swine fed diets high in either cis-monounsaturated, trans, or (n-3) fats. *J. Anim. Sci.*, 76, 1045-1055.

- Forrester-Anderson I.T., McNitt J., Way R., Way M. (2006). Fatty acid content of pasture-reared fryer rabbit meat. *J. Food. Compos. Anal.*, 19, 715-719.
- Gabryszuk M., Czauderna M., Baranowski A., Strzałkowska N., Józwick A., Krzyżewski J. (2007). The effect of diet supplementation with Se, Zn and vitamin E on cholesterol, CLA and fatty acid contents of meat and liver of lambs. *Anim. Sci. Papers Rep.*, 25 (1), 25-33.
- Gašperlin L., Polak T., Rajar A., Skvarèa M., Lender B. (2006). Effect of genotype, age at slaughter and sex on chemical composition and sensory profile of rabbit meat. *World Rabbit Sci.*, 14, 157-166.
- Grela E. (1992). Wpływ oleju sojowego i witaminy E w żywieniu tuczników na zawartość kwasów tłuszczowych w sercu. *Medycyna Wet.*, 48, 7, 329-331.
- Grela E.R. (1995). Skład kwasów tłuszczowych w mięśniach rosnących świń żywionych paszą z dodatkiem oleju sojowego i witaminy E. *Międzynar. Konf. „Perspektywy hodowli zwierząt w Polsce”*, Wrocław, 18-19.09.1995, 2: 85-89.
- Grześkowiak E., Borys B., Strzelecki J., Borzuta K., Borys A., Lisiak D. (2009). Podstawowy skład chemiczny oraz wybrane parametry fizykochemiczne mięsa jagniąt tuczonych paszami suchymi lub z udziałem zielonek. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 2, 63, 28 – 39.
- Hooper, L., Summerbell, CD, Higgins, JP. (2001). Dietary fat intake and prevention of cardiovascular disease: systematic review. *BMJ*, 322, 757–763.
- Jeronimo E., Alves S.P., Prates J.A.M., Santos-Silva J., Bessa R.J.B. (2009). Effect of dietary replacement of sunflower oil with linseed oil on intramuscular fatty acids of lamb meat. *Meat Sci.*, 83, 499-505.
- Kaliniak A., Florek M., Skąłcki P. (2015). Profil kwasów tłuszczowych mięsa, ikry i wątroby ryb. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2015, 2 (99), 29 – 46
- Karwat J, Gil-Kulik P, Kotuła L, Niedojadło A, Kocki J, Sawiuk M. (2013). CLA – właściwości prozdrowotne. *Med. Og Nauk Zdr.*, 19(4), 535–538.
- Kawęcka A., Sosin-Bzducha E., Sikora J. (2016). Ocena jakości tusz i mięsa jagniąt rodzimej owcy wrzosówki żywionych paszą z dodatkiem nasion Inu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1 (104), 68–78.

- Kowalska D. (2011). Wzbogacanie mięsa królików w nienasycone kwasy tłuszczowe i witaminy oraz przeciwdziałanie procesom utleniania. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 38 (2), 227-243.
- Kowalska D., Bielański P., Chełmińska A. (2011). Wpływ dodatku do paszy oleju lnianego i rybnego na profil kwasów tłuszczowych i utlenianie tłuszczu śródmięśniowego królików. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2 (75), 148-159.
- Lipiński K., Ostoja H., Tywończuk J., Korzeniowski W. (1996). Jakość tkanek tłuszczowych i mięsnych tuczników żywionych mieszankami pełnoporcjowymi ze zróżnicowanym udziałem nasion rzepaku. *Konf. „Genetyczne i środowiskowe uwarunkowania wartości rzeźnej i jakości mięsa zwierząt”*. Lublin, 13-14.06.1996, 101-105.
- Łukasiewicz M., Pieniak-Lendzion K., Horoszkiewicz E., Niedziółka R. (2011). Analiza składu chemicznego i profilu kwasów tłuszczowych mięsa koźląt i jagniąt. *Zesz. Nauk. UP Wrocław, Biol. Hod. Zwierz.*, LXIII, 583, 202-210.
- Materac E., Marczyński Z., Bodek K.H. (2013). Rola kwasów tłuszczowych omega-3 i omega-6 w organizmie człowieka. *Bromat. Chem. Toksykol.* XLVI, 2, 225 – 233.
- Migdał W., Barowicz T., Borowiec F., Pieszka M. (2002). Wpływ dodatku oleju słonecznikowego lub CLA w dawkach pokarmowych na umięśnienie i profil kwasów tłuszczowych w tkankach. *Rośliny Oleiste*, 23 (1), 187-200.
- Migdał W, Pasciak P, Wojtysiak D, Barowicz T, Pieszka M, Pietras M. (2004). The effect of dietary CLA supplementation on meat and eating quality, and the histochemical profile of the m. longissimus dorsi from stress susceptible fatteners slaughtered at heavier weights. *Meat Sci.*, 66(4), 863-870.
- Migdał W., Pieszka M., Barowicz T., Janik A., Wojtysiak D., Pustkowiak H., Nowak J., Kozioł J. (2008). Modyfikowanie profilu kwasów tłuszczowych mięsa zwierząt rzeźnych - za i przeciw. *Rocz. Inst. Przem. Mięś. i Tłuszcz.*, 46 (3), 111-122.
- Myer R.O., Johnson D.D., Knauft D.A., Gorbet D.W., Brendemuhl J.H., Walker W.R. (1992). Effect of feeding high-oleic-acid peanuts to growing-finishing swine on resulting carcass and meat quality characteristics. *J. Anim. Sci.*, 70, 3734-3741.
- Nałęcz-Tarwacka T., Zdanowska-Sąsiadek Ż. (2011). Wpływ żywienia na zawartość skoniugowanego kwasu linolowego (CLA) w mleku przeżuwaczy. *Przeegl. Hod.* 3, 19-22.

- Ostoja H., Lipiński K., Korzeniowski W., Tywończuk J. (1996). Wpływ zastosowania w mieszankach paszowych gniecionych nasion rzepaku na skład kwasów tłuszczowych i zawartość cholesterolu w tkankach tuczników. *Acta Acad. Agricult. Tech. Olst. Zootechnica*, 45, 151-161.
- Patkowska-Sokoła B., Bodkowski R., Jędrzejczak J. (2000). Zawartość sprzężonych dienów kwasu linolowego (SKL) w mięsie i mleku różnych gatunków zwierząt. *Zesz. Nauk. AR Wrocław, Konf.*, 30 (399), 257–266.
- Patkowska-Sokoła B., Bodkowski R., Chabros A. (2004). Zawartość L-karnityny w mleku i mięsie różnych gatunków przeżuwaczy. *Zesz. Nauk. Prz. Hod.*, 72, 3, 79–85.
- Pieszka M., Barowicz T., Migdał W., Pietras M., Migdał W., Kędzior W. (2004). Chemical composition and sensory traits of meat of fatteners fed with mixtures containing corn oil without or with the addition of α -tocopherol acetate. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 13/54, 65-69.
- Radzik-Rant A., Rant W. (2007). Wpływ oleju lnianego stosowanego w diecie maciorek karmiących na profil kwasów tłuszczowych tkanki zapasowej. *Annales UMCS, Sec. EE*, 25 (1), 21-27.
- Siemińska E., Borys B., Biernacka H. (2011). Wpływ żywienia jagniąt makuchem słonecznikowym i nasionami lnu bez lub z dodatkiem witaminy E na profil kwasów tłuszczowych mięsa, wątroby i serca. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1 (74), 9-51.
- Thiel-Cooper R.L., Parrish Jr.F.C., Sparks J.C., Wiegand B.R., Ewan R.C. (2001). Conjugated linoleic acid changes swine performance and carcass composition. *J. Anim. Sci.*, 79, 1821-1828.
- Ulbricht T.L.V., Southgate D.A.T. (1991). Coronary heart disease: Seven dietary factors. *Lancet*, 338, 985-992.
- Wcisło T., Rogowski W. (2006). Rola wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3 w organizmie człowieka. *Cardiovascular Forum*, 11, 39-43.
- Weichselbaum E., Coe S., Buttriss J., Stanner S. (2013). Fish in the diet: A review. *Nutr. Bull.*, 38, 128-177.
- Włodarczyk T., Leśków A., Całkosińska A., Tarnowska M., Całkosiński A., Dorosz N., Całkosiński I. (2017). The importance of fats in food of persons physically active. *Journal of Education, Health and Sport*. 7(7),311-314.

- Wood J.D., Enser M., Fisher A.V., Nute G.R., Sheard P.R., Richardson R.I., Hughes S.I., Whittington F.M. (2008). Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Sci.*, 78, 343–358.
- Wood J.D., Richardson R.I., Nute G.R., Fisher A.V., Campo M.M., Kasapidou E., Sheard P.R., Enser M. (2004). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Sci.*, 66 (1), 21-32.
- Wood J.D., Enser M., Fisher A.V., Nute G.R., Richardson R.I., Sheard P.R. (1999). Manipulating meat quality and composition. *Proc. Nutr. Soc.* 58: 363-370.
- Wood J.D., Richardson R.I., Nute G.R., Fisher A.V., Camp M.M., Kasapidou E., Sheard P. R., Enser M. (2003). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Sci.* 66, 21-32.
- Woodgate, S.L., van der Veen J.T. (2014). Fats and oils—animal based. *Food Processing: Principles and Applications*, Second Edition, 481-499.
- Zabłocka A., Janusz M. (2007). Struktura i funkcjonowanie ośrodkowego układu nerwowego. *Postepy Hig. Med. Dośw.*, 61, 454-460.
- Ziemiański Ś. (1996). Tłuszcze w żywieniu człowieka – nowe koncepcje i zalecenia. *Przemysł Spożywczy*, 10, 10-12.
- Zsédely E., Tóth T., Eiben Cs., Virág Gy., Fábíán J., Schmidt J. (2008). Effect of dietary vegetable oil (sunflower, linseed) and vitamin E supplementation on the fatty acid composition, oxidative stability and quality of rabbit meat. 9th World Rabbit Congress on Meat Quality and Safety, Verona, Italy 2008, June 10-13, pp.1473-1477.

Projekt „Kierunki wykorzystania oraz ochrona zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich w warunkach zrównoważonego rozwoju” współfinansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach Strategicznego programu badań naukowych i prac rozwojowych „Środowisko naturalne, rolnictwo i leśnictwo” – BIOSTRATEG, nr umowy: BIOSTRATEG2/297267/14/NCBR/2016.

Profil kwasów tłuszczowych mięsa zwierząt ras rodzimych

**Władysław Migdał¹, Jarosław Nowak¹, Ewelina Węsierska¹,
Marzena Zając¹, Maria Walczycka¹, Joanna Tkaczewska¹, Piotr Kulawik¹, Łukasz Migdał², Henryk Pustkowiak³**

¹*Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych, Wydział Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie*

²*Katedra Genetyki i Metod Doskonalenia Zwierząt, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie*

³*Instytut Nauk o Zwierzętach, Zakład Hodowli Bydła, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie*

Migdał W. e-mail: wladyslaw.migdal@ur.krakow.pl

Streszczenie

Profil kwasów tłuszczowych tłuszczu mięśniowego decyduje o cechach jakościowych, wartości odżywczej, przydatności kulinarnej i przetwórczej mięsa a uzależniony jest od: gatunku, rasy, płci, typu użytkowego, żywienia i systemu utrzymania zwierząt. Celem pracy była analiza profilu kwasów tłuszczowych mięsa zwierząt ras rodzimych.

Słowa kluczowe: rasy rodzime, mięso, kwasy tłuszczowe

Wstęp

Tłuszczowce (lipidy) pełnią w organizmie człowieka i zwierząt równie ważną rolę jak pozostałe składniki – woda, białka, związki mineralne, węglowodany. Oprócz funkcji budulcowej, ochronnej, zapasowej, tłuszcze pełnią ważną rolę w technologii żywności, gdyż decydują o wartości kulinarnej i przetwórczej mięsa, kształtują soczystość mięsa, stanowią o jego marmurkowatości, są nośnikiem związków smakowo-zapachowych mięsa i produktów mięsnych, gdyż mają zdolność do rozpuszczania substancji smakowych

i zapachowych [Achremowicz i Szary-Sworst, 2005; Migdał i in., 2008; Woodgate i van der Veen, 2014; Ziemiański, 1996].

Udział poszczególnych grup kwasów tłuszczowych w tłuszczach pochodzenia zwierzęcego zależy od rodzaju mięsa, a więc gatunku zwierzęcia z którego mięso pochodzi. Ponieważ konsument coraz częściej szuka produktów tradycyjnych, niskowydajnych, wykonanych tradycyjnymi metodami z surowca pochodzącego z rodzimej hodowli, szczególnie znaczenia nabierają rodzime rasy zwierząt, tradycyjnie żywione, których surowce mogą być szczególnie przydatne do produkcji produktów tradycyjnych najwyższej jakości.

Celem pracy była analiza profilu kwasów tłuszczowych w mięsie zwierząt ras rodzimych.

Materiał i metody

W ramach projektu „Kierunki wykorzystania oraz ochrona zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich w warunkach zrównoważonego rozwoju” współfinansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach Strategicznego programu badań naukowych i prac rozwojowych „Środowisko naturalne, rolnictwo i leśnictwo” – BIOSTRATEG, nr umowy: BIOSTRATEG2/297267/14/NCBR/2016 analizowano mięso zwierząt ras rodzimych: między innymi świn rasy puławskiej, bydła polskiego bydła czerwonego, kóz rasy karpackiej, owiec rasy polska owca górską, gęsi zatorskiej, karpia zatorskiego oraz pstrąga potokowego ojcowskiego. Ponadto w ramach badań statutowych analizowano mięso zwierząt dziko żyjących; dzika, sarny, jelenia i daniela. Oznaczono profil kwasów tłuszczowych tłuszczu mięśniowego (mięsień najdłuższy grzbietu *m. longissimus dorsi*) 6 sztuk zwierząt każdego gatunku (stosunek płci 50/50%, w przypadku świn rasy puławskiej analizowano tłuszcz mięśniowy 3 loszek i 3 wieprzków). W przypadku gęsi zatorskiej analizowano tłuszcz mięśniowy mięśnia piersiowego, gdyż zmianą PN-A-86526/A1 do normy podstawowej z 1995 r. uznano mięsień piersiowy ptaków za odpowiednik mięśnia najdłuższego grzbietu ssaków. Profil kwasów tłuszczowych oznaczono metodą chromatografii gazowej, z tłuszczu wyekstrahowanego z próbki mięsa [Folch i in., 1957]. Do oznaczenia zastosowano chromatograf gazowy TRACE GC ULTRA (Thermo Electron Corporation) z kolumną SUPELCOWAX (SUPELCOWAX, Bellefonte, USA)

10 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Analiza przeprowadzona została w następujących warunkach:

- gaz nośny hel 1 ml/min,
- split flow 10 ml/min.,
- temperatura dozownika 220°C,
- temperatura detektora 250°C
- temperatura kolumny początkowo wynosiła 160°C, przez 3 min, a następnie zwiększano ją o 3°C / min do 210°C i utrzymywano przez 25 min.

Ponieważ zwierzęta rzeźne pochodzą z różnych warunków środowiskowych, były różnie żywione nie przeprowadzono analizy statystycznej wyników. Podano jedynie średnią arytmetyczną jako wynik oznaczeń profilu kwasów tłuszczowych prób mięsa.

Wyniki i dyskusja

W tabeli 1 przedstawiono profil kwasów tłuszczowych tłuszczu śródmięśniowego mięśnia najdłuższego grzbietu (w przypadku gęsi zatorskiej – mięśnia piersiowego) zwierząt gospodarskich, w tabeli 2 profil kwasów tłuszczowych tłuszczu śródmięśniowego mięśnia najdłuższego grzbietu zwierząt dziko żyjących, natomiast w tabeli 3 profil kwasów tłuszczowych tłuszczu śródmięśniowego karpia i pstrąga.

Zwraca uwagę duże zróżnicowanie profilu kwasów tłuszczowych tłuszczu mięśniowego zwierząt rzeźnych. Żaden tłuszcz mięśniowy nie charakteryzował się idealnym profilem kwasów tłuszczowych, zgodnym z zaleceniami żywieniowymi. Należy jednak podkreślić, że zalecenia żywieniowe dotyczą dziennej diety, a nie pojedynczego pokarmu wchodzącego w skład diety. Żadna dieta człowieka (nawet dieta paleo) nie jest oparta tylko na mięsie i produktach mięsnych, dlatego połączenie produktów roślinnych z mięsem oraz urozmaicenie dziennej diety różnymi rodzajami mięs pozwala pobrać odpowiednią do zapotrzebowania ilość kwasów tłuszczowych. Mięso przeżuwaczy (wołowina i baranina) przedstawiane jest przez dietetyków jako mniej pożądane ze względu na dużą zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA). Zwraca uwagę wyższa niż w mięsie innych gatunków zwierząt np. mięsie drobiowym, wieprzowinie, zawartość kwasów o działaniu hipercholesterolemicznych - laurynowego C12:0 i mirystynowego C14:0. W badaniach własnych w mięsie króliczym, końskim i jagnięcym stwierdzono wyższy poziom kwasu mirystynowego C14:0 w porównaniu do wołowiny.

Z drugiej strony podkreśla się, że mięso i mleko przeżuwaczy są jedynymi naturalnymi źródłami sprzężonego kwasu linolowego (CLA). W mięsie bydła polskiego czerwonego stwierdzono 0,23% CLA. Należy zaznaczyć, że bydło to korzystało z pastwiska. Zielone trawy i koniczyny zawierają dużą ilość (50-75%) kwasów tłuszczowych w postaci kwasu α -linolenowego – C18:3 LNA. Naukowo potwierdzono, że żywienie zielonką pastwiskową może również wpłynąć na zwiększenie zawartości sprzężonego kwasu linolowego CLA w tłuszczu śródmięśniowym mięsa oraz w tłuszczu mlecznym. W wyniku przemian biochemicznych mających miejsce w żwaczu i gruczole mlekowym z LNA powstaje CLA [Nałęcz-Tarwacka i Zdanowska-Sąsiadek, 2011]. Wyższą zawartość CLA (0,30%) stwierdzono w mięsie kozy karpackiej oraz w mięsie jagniąt polskiej owcy górskiej (0,83%). Na mięso owcze jako szczególnie cenne źródło wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA), CLA jak również L-karnityny zwrócili uwagę również inni autorzy [Patkowska-Sokoła i in., 2000; Patkowska-Sokoła i in., 2004; Łukasiewicz i in., 2011; Kawęcka i in., 2016]. W mięsie zwierząt dziko żyjących zawartość CLA wahała się od 0,08% (dzik) do 0,22% (daniel) – tabela 2. Tłuszcz rodzimych ryb (karpia zatorskiego i ojcowskiego pstrąga potokowego) charakteryzował się wysoką zawartością długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych C-20:5 *n*-3, C-22:5 *n*-3 i C-22:6 *n*-3 – tabela 3. Kwasy eikozapentaenowy (EPA) i dokozapentaenowy DHA pełnią istotną funkcję w organizmie człowieka [Weichselbaum i in., 2013]. Jednak nadmiar tych kwasów może niekorzystnie wpływać na organizm człowieka, poprzez zwiększenie peroksydacji lipidów i redukcję produkcji cytokin. Dlatego według ekspertów EFSA [2010] oraz FAO/WHO [2010] górny poziom spożycia EPA i DHA nie powinien przekraczać 2 g na dobę. Wprowadzenie ryb do diety człowieka pozwala uzyskać zalecane proporcje kwasów tłuszczowych i pokrywa dzienne zapotrzebowanie organizmu na kwasy tłuszczowe. Stosunek kwasów tłuszczowych wielonienasyconych do nasyconych (PUFA/SFA) uznawany jest powszechnie za wskaźnik jakości tłuszczu, z punktu widzenia zdrowia człowieka. Według Wooda i in. [2003] stosunek PUFA/SFA powinien być wyższy niż 0,4. W analizowanych mięsach stosunek ten wahał się od 0,06 (sarna) do 2,14 (ojcowski pstrąg potokowy).

Według zaleceń prawidłowego żywienia ważna jest wzajemna proporcja kwasów z rodziny *n*-6 do *n*-3 w diecie, która powinna wynosić (4-5) : 1, bez przekraczania wartości 10:1. Nadmierna dysproporcja pomiędzy kwasami z rodziny *n*-6 i *n*-3 w diecie może zakłócić równowagę w ilości syntetyzowanych, często antagonistycznie działających,

eikozanoidów, prowadząc do stanów chorobowych [Candela i in., 2011]. W analizowanych mięsach stosunek kwasów z rodziny n-6 do n-3 wahał się od 0,48 (ojcowski pstrąg potokowy) do 20,21 (gęś zatorska).

Tabela 1. Profil kwasów tłuszczowych tłuszczu śródmięśniowego mięśnia najdłuższego grzbietu (gęś zatorska – mięsień piersiowy)

Kwasy tłuszczowe	Rodzaj mięsa						
	wołowina rasa polska czerwona n=6	wieprzowina rasa puławska n=6	jagnięcina rasa polska owca górska n=6	koźlina rasa karpacka n=6	mięso królicze rasa popie lniańska n=6	gęszina rasa zatorska n=6	konina Polskie konie zimnokrwiste n=6
C-10:0	0,11	0,07	0,16	0,10	0,10	0,06	0,22
C-12:0	0,24	0,08	0,22	0,08	4,68	0,06	0,83
C-14:0	1,72	1,06	2,64	0,82	7,36	0,46	3,31
C-14:1	0,60	0,02	0,10	0,07	0,09	0,05	0,20
C-15:0	0,60	0,04	0,34	0,29	0,82	0,20	0,24
C-16:0	22,28	20,51	20,02	17,32	38,08	25,91	23,80
C-16:1n9	0,21	0,23	0,32	0,62	0,86	0,81	0,68
C-16:1n7	2,82	3,41	1,64	1,52	1,64	3,61	4,69
C-17:0	1,22	0,14	0,92	0,89	0,60	0,17	0,30
C-17:1	0,98	0,19	0,68	1,02	0,18	0,12	0,34
C-18:0	16,76	10,60	16,59	15,38	8,39	6,56	6,58
C-18:1 n-9	30,62	46,89	34,30	38,02	22,84	43,42	21,68
C-18:1n-7	2,15	4,79	3,34	1,86	1,84	3,24	2,67
C-18:2 n-6	7,36	7,79	7,69	7,39	10,13	11,73	17,82
C-18:3n-6	0,09	0,08	0,21	0,16	0,14	0,07	0,08
C-18:3n-3	1,48	0,43	1,28	1,31	0,46	0,48	9,81
CLA	0,23	0,09	0,83	0,30	0,22	0,08	0,04
C-20:0	0,17	0,14	0,11	0,10	0,17	0,09	0,07
C-20:1	0,26	0,73	0,07	0,12	0,33	0,52	0,34
C-20:2	0,16	0,30	0,56	1,16	0,06	0,08	0,44
C-20:3 n-6	0,65	0,21	0,31	0,49	0,03	0,09	0,38
C-20:4n-6	2,95	1,24	3,73	4,96	0,36	1,60	3,19
C-20:4n-3	0,19	-	-	-	0,01	0,01	0,44
C-20:5 n-3	0,68	0,05	0,94	1,37	0,03	0,01	0,24
C-22:4 n-6	0,25	0,26	0,17	0,36	0,15	0,25	0,12
C-22:5 n-3	1,37	0,26	1,15	2,06	0,07	0,06	1,12
C-22:6 n-3	0,13	0,01	0,40	0,35	0,36	0,12	0,29
PUFA n-3	3,72	0,75	3,77	5,09	0,93	0,68	11,90
PUFA n-6	11,30	9,58	12,11	13,36	10,81	13,74	21,59
PUFA n6/n3	3,04	12,77	3,21	2,62	11,62	20,21	1,81
PUFA/SFA	0,33	0,32	0,39	0,53	0,53	0,43	1,09

Tabela 2. Profil kwasów tłuszczowych tłuszczu śródmięśniowego mięśnia najdłuższego grzbietu zwierząt dziko żyjących

Kwasy tłuszczowe	Rodzaj mięsa			
	Dzik n=6	Jeleń n=6	Sarna n=6	Daniel n=6
C-10:0	0,12	0,05	0,01	0,17
C-12:0	0,10	0,33	0,01	0,36
C-14:0	1,71	7,93	1,38	5,27
C-14:1	0,11	1,02	0,03	1,35
C-15:0	0,07	0,86	0,49	0,67
C-16:0	32,50	31,31	30,16	33,53
C-16:1 <i>n</i> 9	0,58	0,62	0,55	0,65
C-16:1 <i>n</i> 7	2,11	4,51	0,92	5,64
C-17:0	0,28	0,76	1,98	0,70
C-17:1	0,15	0,19	0,18	0,27
C-18:0	16,76	29,09	32,81	19,98
C-18:1 <i>n</i> -9	36,08	14,21	21,07	16,98
C-18:1 <i>n</i> -7	3,45	2,95	6,05	3,46
C-18:2 <i>n</i> -6	4,10	3,26	2,83	5,99
C-18:3 <i>n</i> -6	0,04	0,24	0,17	0,13
C-18:3 <i>n</i> -3	0,26	0,77	0,56	1,14
CLA	0,08	0,10	0,18	0,22
C-20:0	0,22	0,34	0,17	0,23
C-20:1	0,79	0,08	0,06	0,20
C-20:2	0,19	0,05	0,04	0,09
C-20:3 <i>n</i> -6	0,03	0,07	0,02	0,25
C-20:4 <i>n</i> -6	0,10	0,62	0,17	1,75
C-20:4 <i>n</i> -3	0,05	0,03	0,01	0,04
C-20:5 <i>n</i> -3	0,01	0,12	0,02	0,18
C-22:4 <i>n</i> -6	0,03	0,07	0,01	0,09
C-22:5 <i>n</i> -3	0,04	0,29	0,08	0,46
C-22:6 <i>n</i> -3	0,02	0,08	0,01	0,11
PUFA <i>n</i> -3	0,38	1,29	0,68	1,93
PUFA <i>n</i> -6	4,30	4,26	3,20	8,21
PUFA <i>n</i> 6/ <i>n</i> 3	11,32	3,30	4,71	4,25
PUFA/SFA	0,09	0,08	0,06	0,16

Tabela 3. Profil kwasów tłuszczowych tłuszczu śródmięśniowego karpia i pstrąga

Kwasy tłuszczowe	Ryba	
	Karp zatorski n=6	Pstrąg potokowy Ojcowski n=6
C-10:0	0,01	0,01
C-12:0	0,04	0,05
C-14:0	1,48	3,29
C-14:1	0,07	0,02
C-15:0	0,35	0,25
C-16:0	20,45	12,56
C-16:1n9	1,09	0,35
C-16:1n7	7,05	4,50
C-17:0	0,32	0,18
C-17:1	0,49	0,50
C-18:0	5,43	2,54
C-18:1 n-9	31,44	27,34
C-18:1n-7	4,15	3,47
C-18:2 n-6	8,98	11,74
C-18:3n-6	0,25	0,24
C-18:3n-3	2,99	10,11
C18:4 n-3	0,57	1,50
C-20:0	0,00	0,28
C-20:1	0,13	0,17
C-20:2	1,77	1,58
C-20:3 n-6	2,98	0,53
C-20:4n-6	0,00	0,80
C-20:4n-3	-	-
C-20:5 n-3	3,20	5,60
C-22:1	0,00	0,00
C-22:4 n-6	0,24	0,07
C-22:5 n-3	1,31	1,47
C-22:6 n-3	4,08	9,00
PUFA n-3	12,15	27,68
PUFA n-6	12,45	13,38
PUFA n6/n3	1,02	0,48
PUFA/SFA	0,88	2,14

Podsumowanie

Zróznicowanie profilu kwasów tłuszczowych w produktach pochodzenia zwierzęcego i roślinnego jest korzystne z żywieniowego punktu widzenia. Pozwala urozmaicić jadłospis człowieka i spełnić zalecenia żywieniowe poprzez wprowadzenie do jadłospisu różnych rodzajów mięs. Mięso rodzimych ras zwierząt, szczególnie zwierząt przeżuujących korzystających z pastwisk jest naturalnym źródłem sprzężonego kwasu linolowego (CLA).

Literatura

- Achremowicz K., Szary-Sworst K. (2005). Wielonienasycone kwasy tłuszczowe czynnikiem poprawy stanu zdrowia człowieka. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 3(44), 23–35.
- Candela CG, Bermejo López LM, Kohen VL. (2001). Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health. *Nutritional recommendations. Nutr Hosp.*, 26(2), 323–329.
- EFSA. (2010). Scientific opinion on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA J.*, 8(3), 1461, 1–107.
- FAO/WHO. (2010). Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation. *FAO Food and Nutrition Paper*. FAO, Rome 2010, 91.
- Folch J., Less M., Sloane G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol. Chem.*, 226, 497–509.
- Kawęcka A., Sosin-Bzducha E., Sikora J. (2016). Ocena jakości tusz i mięsa jagniąt rodzimej owcy wrzosówki żywionych paszą z dodatkiem nasion Inu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1(104), 68–78.
- Łukasiewicz M., Pieniak-Lendzion K., Horoszkiewicz E., Niedziółka R. (2011). Analiza składu chemicznego i profilu kwasów tłuszczowych mięsa kozłat i jagniąt. *Zesz. Nauk. UP Wrocław, Biol. Hod. Zwierz.*, LXIII, 583, 202–210.
- Migdał W., Pieszka M., Barowicz T., Janik A., Wojtysiak D., Pustkowiak H., Nowak J., Kozioł J. (2008). Modyfikowanie profilu kwasów tłuszczowych mięsa zwierząt rzeźnych - za i przeciw. *Rocz. Inst. Przem. Mięś. i Tłuszcz.*, 46(3), 111–122.
- Nałęcz-Tarwacka T., Zdanowska-Sąsiadek Ż. (2011). Wpływ żywienia na zawartość skoniugowanego kwasu linolowego (CLA) w mleku przeżuwaczy. *Przegl. Hod.* 3, 19–22.
- Patkowska-Sokoła B., Bodkowski R., Jędrzejczak J. (2000). Zawartość sprzężonych dienów kwasu linolowego (SKL) w mięsie i mleku różnych gatunków zwierząt. *Zesz. Nauk. AR Wrocław, Konf.*, 30(399), 257–266.
- Patkowska-Sokoła B., Bodkowski R., Chabros A. (2004). Zawartość L-karnityny w mleku i mięsie różnych gatunków przeżuwaczy. *Zesz. Nauk. Prz. Hod.*, 72(3), 79–85.

- Weichselbaum E., Coe S., Buttriss J., Stanner S. (2013). Fish in the diet: A review. *Nutr. Bull.*, 38, 128–177.
- Wood J.D., Richardson R.I., Nute G.R., Fisher A.V., Camp M.M., Kasapidou E., Sheard P. R., Enser M. (2003). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Sci.* 66, 21–32.
- Woodgate, S.L., van der Veen J.T. (2014). Fats and oils–animal based. *Food Processing: Principles and Applications*, Second Edition, 481–499.
- Zabłocka A., Janusz M. (2007). Struktura i funkcjonowanie ośrodkowego układu nerwowego. *Postepy Hig. Med. Dośw.*, 61, 454–460.
- Ziemiański Ś. (1996). Tłuszcze w żywieniu człowieka – nowe koncepcje i zalecenia. *Przemysł Spożywczy*, 10, 10–12.

Projekt „Kierunki wykorzystania oraz ochrona zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich w warunkach zrównoważonego rozwoju” współfinansowany przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach Strategicznego programu badań naukowych i prac rozwojowych „Środowisko naturalne, rolnictwo i leśnictwo” – BIOSTRATEG, nr umowy: BIOSTRATEG2/297267/14/NCBR/2016.

Ponadto badania dziczyzny zostały sfinansowane z dotacji przyznanej przez MNiSW na działalność statutową

Olej mikrobiologiczny – biochemiczne aspekty syntezy i kierunki jego wykorzystania w przemyśle oleochemicznym

Paulina Misiukiewicz¹, Agata Fabiszewska²

¹Wydział Ogrodnictwa, Biotechnologii i Architektury Krajobrazu, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

²Katedra Chemii, Wydział Nauk o Żywności Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Misiukiewicz P: paulina.misiukiewicz@gmail.com

Streszczenie

Olejem mikrobiologicznym nazywamy tłuszcze zapasowe kumulowane przez wybrane rodzaje mikroorganizmów zdolne do ich produkcji w ilości powyżej 20% s.s. Obok tłuszczów zwierzęcych, rybich oraz olejów roślinnych, lipidy pochodzenia mikrobiologicznego stanowią cenne źródło długołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Celem niniejszego przeglądu jest podsumowanie wiedzy na temat biochemicznych oraz fizjologicznych aspektów biosyntezy oleju mikrobiologicznego w kontekście jego potencjalnego wykorzystania przemysłowego na przykładzie modelowego gatunku drożdży olejogennych *Y. lipolytica* oraz wskazanie aktualnych trendów w zastosowaniu oleju mikrobiologicznego w przemyśle oleochemicznym. W pracy przedstawiono perspektywy wykorzystania lipidów pochodzenia mikrobiologicznego w produkcji paliwa typu biodiesel oraz możliwości jego zastosowania w suplementacji diety zwierząt i ludzi.

Słowa kluczowe: biodiesel drugiej generacji, biosynteza tłuszczu, mikroorganizmy olejogenne, wielonienasycone kwasy tłuszczowe, *Yarrowia lipolytica*

Wprowadzenie

Wszystkie znane mikroorganizmy są zdolne do syntezy tłuszczów, jednak tylko niektóre rodzaje mikroalg, bakterii, grzybów strzępkowych oraz drożdży posiadają zdolność do ich kumulacji w ilości powyżej 20% s.s.. Takie gatunki nazywamy olejogennymi, ich biomasa jest źródłem SCO (ang. single cell oil), a zmagazynowane w tzw.

ciałkach lipidowych tłuszcze stanowią olej mikrobiologiczny. Zewnętrzną część każdego ciała lipidowego buduje pojedyncza warstwa fosfolipidów i osadzonych w niej białek, natomiast część wewnętrzna zbudowana jest w większości z triacylogliceroli [Beopoulos i in., 2009].

Mikroalgi m.in. z gatunków *Cryptothecodinium cohnii*, czy *Schizochytrium* sp. kumulują olej w ilości średnio od 20 do 50 % suchej masy. Najczęściej w celu pozyskania SCO wykorzystuje się gatunki autotroficzne, gdyż nie wymagają relatywnie kosztowych, organicznych źródeł węgla w podłożu [Thevenieau i Nicaud, 2013; Mohan i in., 2015].

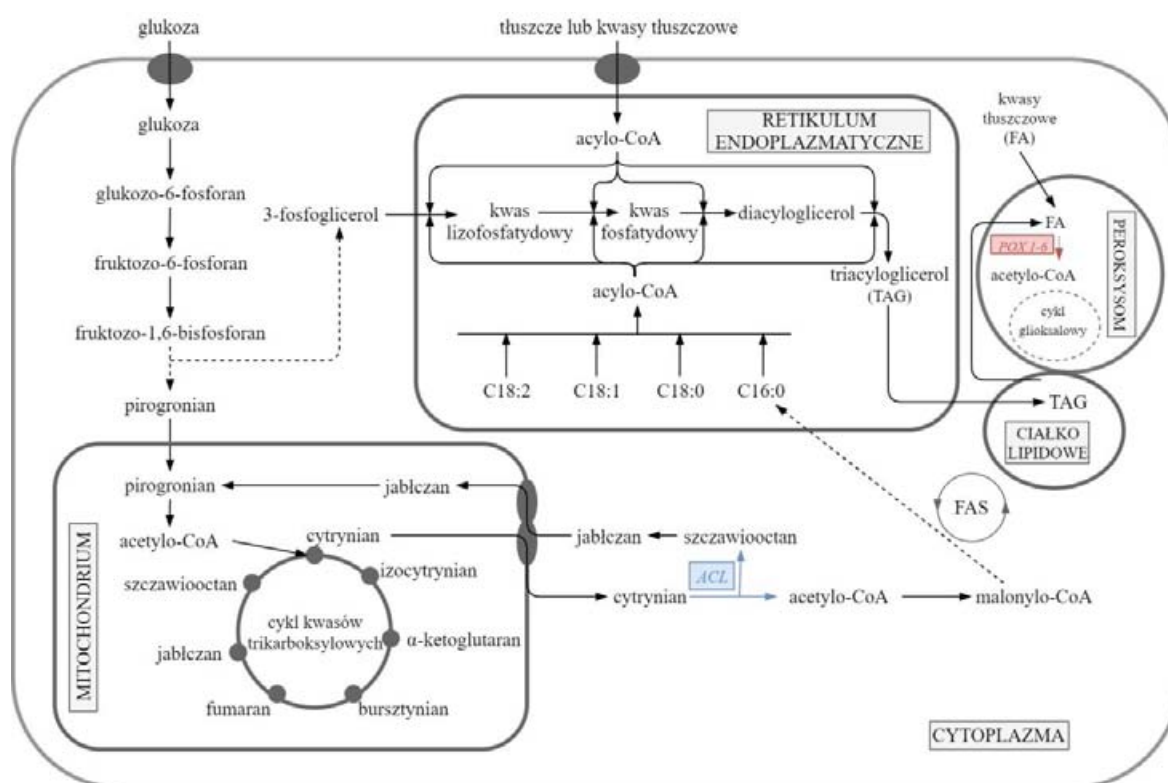
Dzięki łatwości hodowli i krótkiemu czasowi generacji niektóre bakterie Gram-dodatnie należące do rodzajów *Gordonia*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, czy *Streptomyces* oraz bakterie Gram-ujemne z rodzajów *Aeromonas* i *Acinetobacter* są intensywnie badane pod kątem wykorzystania w procesach kumulacji lipidów [Li i in., 2008]. Profil kwasów tłuszczowych produkowanych przez bakterie jest inny niż u pozostałych mikroorganizmów olejogennych. W komórkach większości bakterii występują tłuszcze złożone, takie jak polihydroksyalkaniany (np. polihydroksymaślan) [Thevenieau i Nicaud, 2013].

Wśród olejodajnych gatunków grzybów strzępkowych wymienia się grzyby *Aspergillus terreus*, *Tolyposporidium* sp, *Claviceps purpurea*, *Mortierella alpina* i *M. isabelina*. Kumulują one znaczne ilości lipidów zapasowych [Ochsenreither i in., 2016]. Z kolei do typowych przedstawicieli drożdży olejogennych zaliczamy mikroorganizmy z rodzajów *Candida*, *Yarrowia*, *Cryptococcus*, *Lipomyces*, *Trichosporon* oraz *Rhodotorula* [Probst i in., 2015]. Dzięki produkcji szerokiej gamy enzymów hydrolitycznych w hodowli drożdży i grzybów strzępkowych mogą być wykorzystane alternatywne źródła składników odżywczych, np. odpady przemysłu rolno-spożywczego [Leiva-Candia i in., 2014].

Celem niniejszego przeglądu jest podsumowanie wiedzy na temat biochemicznych oraz fizjologicznych aspektów biosyntezy oleju mikrobiologicznego w kontekście potencjalnego wykorzystania przemysłowego SCO na przykładzie modelowego gatunku drożdży olejogennych *Y. lipolytica* oraz wskazanie aktualnych trendów w zastosowaniu oleju mikrobiologicznego w przemyśle oleochemicznym.

Biochemiczne szlaki biosyntezy oleju mikrobiologicznego w komórkach drożdży *Y. lipolytica*

Synteza oleju mikrobiologicznego została najlepiej poznana dla gatunku *Y. lipolytica*, które uznawane są za modelowy organizm do badania metabolizmu lipidów w komórkach grzybów olejogennych. Może ona przebiegać dwiema różnymi ścieżkami biochemicznymi (rys. 1). Pierwszy szlak (*de novo*) jest włączany, gdy hodowla przebiega w podłożu z glukozą lub innymi węglowodanami zastosowanymi jako źródło węgla. Druga ścieżka (*ex novo*) rozpoczyna się hydrolizą obecnych w podłożu tłuszczów do wolnych kwasów tłuszczowych, a następnie przebiega z ich włączeniem wewnątrz komórki w cząsteczki triacylogliceroli [Papanikolau i Aggelis, 2011a]. Zgromadzony w komórkach drożdży olej mikrobiologiczny można ekstrahować i/lub poddawać dalszym modyfikacjom w celu zastosowania jako składnik żywności lub paszy, suplement diety czy substrat w produkcji paliwa typu biodiesel.



Rysunek 1. Schemat szlaków biosyntezy oleju mikrobiologicznego w organizmach olejogennych, [opracowanie własne na podstawie Zhu i Jackson, 2015; Probst i in., 2015].

ACL- ATP-zależna liaza cytrynianowa (EC 2.3.3.8); **POX 1-6** - oksydazy acylo-CoA (1-6); **FAS** - kompleks syntazy kwasów tłuszczowych; linią przerywaną oznaczono uproszczone przekształcenia substratów przebiegające z wytworzeniem produktów pośrednich

Biosynteza tłuszczów *de novo*

W procesie biosyntezy tłuszczów drogą *de novo* wyróżnia się dwa podstawowe etapy. Pierwszy obejmuje reakcje, których celem jest synteza acetylo-coA. W drugim etapie produkt ten stanowi substrat do syntezy triacylogliceroli [Kot i in., 2015].

Cukry pobrane z podłoża komórka metabolizuje w cytozolu w procesie glikolizy do pirogronianu, skąd jest on transportowany do wnętrza mitochondriów. Znajdujący się w matriks mitochondrialnej kompleks dehydrogenazy pirogronianowej (PDC) (EC 1.2.4.1) katalizuje konwersję pirogronianu do acetylo-coA. Produkt tej reakcji może zostać włączony do cyklu Krebsa lub ulega transportowi do cytoplazmy [Ratledge i Wynn, 2002; Papanikolau i Aggelis, 2011a]. Transport acetylo-coA do cytoplazmy w formie natywnej jest niemożliwy. Nieprzepuszczalną barierę stanowi dla niego wewnętrzna błona mitochondrium [Ratledge, 1997]. U mikroorganizmów olejogennych acetylo-coA zostaje przyłączony do cząsteczki szczawiooctanu, w wyniku czego powstaje cytrynian, dla którego wewnętrzna błona mitochondrialna nie stanowi przeszkody. W cytozolu cytrynian może ulec biotransformacji do acetylo-coA niezbędnego w kolejnych etapach syntezy tłuszczów [Fakas i in., 2009].

Deficyt związków azotowych w podłożu jest głównym czynnikiem decydującym o produkcji tłuszczów zapasowych przez mikroorganizmy olejogenne. W warunkach niedoboru azotu w komórkach następuje szybkie zmniejszenie ilości wewnątrzkomórkowego adenozymonofosforanu (AMP) z powodu wysokiej aktywności deaminazy AMP (EC 3.5.4.6), rozkładającej ten substrat do inozynomonofosforanu (IMP) i jonów amonowych (NH_4^+). Wydzielone jony NH_4^+ stanowią wtórne źródło azotu niezbędnego do syntezy biomasy komórkowej [Evans i Ratledge, 1985; Papanikolau i Aggelis, 2011a]. Jednocześnie zmniejszenie stężenia AMP w komórkach, będącego allosterycznym aktywatorem dehydrogenazy izocytrynianowej (EC 1.1.1.42), skutkuje obniżoną aktywnością enzymu, który katalizuje reakcję przekształcania izocytrynianu w α -ketoglutaran. Izocytrynian jest kumulowany w mitochondriach. Po osiągnięciu krytycznego stężenia cytrynianu w mitochondrium, następuje jego transport do cytoplazmy, a następnie hydroliza do szczawiooctanu i acetylo-coA przez ATP-zależną liazę cytrynianową (EC 2.3.3.8). Enzym ten uznawany jest za kluczowy w szlaku syntezy tłuszczu u drobnoustrojów olejogennych, a jego obecności nie stwierdzono w komórkach mikroorganizmów nieolejogennych [Ratledge i Wynn, 2002; Beopoulos i in., 2009].

Pierwsza reakcja drugiego etapu biosyntezy kwasów tłuszczowych polega na karboksylacji acetylo-coA do malonylo-coA przez karboksylazę acetylo-coA zależną od biotyny (EC 6.4.1.2) [Papanikolau i Aggelis, 2011a]. Dalsze etapy syntezy kwasów tłuszczowych w komórkach przebiegają dzięki aktywności kompleksu enzymatycznego syntazy kwasów tłuszczowych (FAS). Aktywność tego kompleksu skutkuje w każdej kolejnej reakcji wydłużaniem łańcucha alifatycznego, aż do uzyskania palmitoilo-coA. Wydłużanie łańcucha węglowego kwasów tłuszczowych możliwe jest dzięki specyficznym enzymom znajdującym się na powierzchni gładkiej siateczki śródplazmatycznej komórek. Szkielet TAG stanowi 3-fosfoglicerol. Acylacja cząsteczki 3-fosfoglicerolu prowadzi do powstania kwasu lizofosfatydowego (LPA), a następnie do powstania kwasu fosfatydowego (PA). Produktem jego defosforylacji jest diacyloglicerol (DAG), który ulega ostatecznej acylacji do triacyloglicerolu (TAG) [Ageitos i in., 2011; Kot i in., 2015].

Biosynteza tłuszczów ex novo

Drobnoustroje takie jak drożdże *Y. lipolytica* produkują enzymy lipolityczne katalizujące hydrolizę cząsteczek tłuszczów do wolnych kwasów tłuszczowych. Wewnątrz komórki mogą one zostać wykorzystane jako źródło energii do wzrostu drobnoustrojów lub też stanowią substrat do wewnątrzkomórkowej syntezy triacylogliceroli [Papanikolau i Aggelis, 2003; Fickers i in., 2005]. Aby możliwe było pozyskanie energii z wolnych kwasów tłuszczowych niezbędna jest obecność sześciu enzymów z grupy oksydaz acylo-coA (Aox), które to w procesie β -oksydacji katalizują reakcję powstawania acetylo-coA i acylo-coA krótszego od wyjściowego triacyloglicerolu [Mlícková i in., 2004; Nicaud 2012]. Acetylo-coA może zostać włączony do cyklu Krebsa lub stanowić substrat do syntezy kwasów tłuszczowych [Papanikolau i Aggelis, 2011a]. Możliwe jest także przekierowanie niektórych produktów pośrednich procesu β -oksydacji, wybranych acylo-coA, do ciałek lipidowych i ich magazynowanie oraz modyfikacja składu znajdujących się tam TAG [Nicaud, 2012].

Synteza lipidów szlakiem *ex novo* jest niezależna od zawartości azotu w medium hodowlanym w przeciwieństwie do ścieżki *de novo*, w której to synteza lipidów zapasowych odbywa się po wyczerpaniu źródła azotu z podłoża [Papanikaolau i Aggelis, 2011a]. Dodatkowo, podawana jest jako szlak, w którym można uzyskać wyższą wydajność produkcji oleju mikrobiologicznego [Huang i in., 2013]. Synteza z wykorzystaniem ścieżki *ex novo* pozwala na modyfikowanie składu oleju wewnątrzkomórkowego, co w przyszłości

może zostać wykorzystane do produkcji tłuszczów o składzie pożądanym przez przemysł spożywczy czy chemiczny [Papanikaolau i Aggelis, 2011b].

Warunki produkcji oleju mikrobiologicznego w hodowli drobnoustrojów na przykładzie olejogennych gatunków drożdży

Przy określaniu potencjalnej przydatności danego mikroorganizmu do przemysłowej produkcji oleju mikrobiologicznego brane są pod uwagę trzy główne czynniki. Pierwszym z nich jest całkowita ilość oleju, jaka może być kumulowana w g s.s. Istotny czynnik stanowi jakość oleju, czyli profil kumulowanych kwasów tłuszczowych, który różni się znacząco między gatunkami. Ważna wydaje się także zdolność do wykorzystywania tanich, nie wymagających wstępnej obróbki surowców jako podłoży hodowlanych, co pozwala na ograniczenie kosztów produkcji oleju mikrobiologicznego [Thevenieau i Nicaud, 2013].

Jednym z istotniejszych czynników rozpatrywanych przy kumulacji oleju mikrobiologicznego jest stosunek zawartości węgla do azotu w podłożu hodowlanym (C:N, mol/mol) oraz rodzaj zastosowanego źródła azotu. Przy niskiej zawartości azotu w podłożu zahamowany jest wzrost komórek i ich podziały, a nadmiar źródła węgla może zostać wykorzystany do syntezy lipidów zapasowych przez gatunki olejogenne. Optymalny stosunek C:N musi zostać wyznaczony eksperymentalnie dla każdego mikroorganizmu [Evans i Ratledge, 1985; Beopoulous i in., 2009].

Ważnym parametrem przy optymalizacji produkcji oleju mikrobiologicznego jest ilość tlenu rozpuszczonego w podłożu hodowlanym. Papanikolau i in. [2002] stwierdzili, iż zawartość tlenu rozpuszczonego w podłożu na poziomie 5-15% wpływa na wydajną kumulację lipidów wewnątrzkomórkowych przez drożdże *Y. lipolytica* przy zastosowaniu hydrofobowego źródła węgla w podłożu. Z kolei Davies i in. [1990] wykorzystali 40-50% poziom natlenienia w hodowlach *Rhodospiridium toruloides*. Zastosowanie takiego natlenienia pozwoliło uzyskać biomasę zawierającą tłuszcze w ilości 67,5% s.s.. Optymalna ilość tlenu rozpuszczonego w podłożu sprzyjająca kumulacji oleju mikrobiologicznego jest także zależna gatunkowo.

Warunki i rodzaj hodowli oraz czas jej trwania, jak również zastosowane podłoże hodowlane oraz gatunek mikroorganizmu wpływają na profil kwasów tłuszczowych w kumulowanych cząsteczkach tłuszczów [Kot i in., 2015]. Dla przykładu największy udział wśród kwasów tłuszczowych w oleju mikrobiologicznym syntetyzowanym przez drożdże

olejogenne drogą *de novo* ma kwas oleinowy (C18:1), który stanowi do 70% wszystkich lipidów zapasowych. Drugi w kolejności jest kwas linolowy (C18:2), który stanowi do 25% oleju mikrobiologicznego. Kwas palmitynowy (C16:0) stanowi 15-25%, kwas oleopalmitynowy (C16:1) ok. 5%, zaś stearynowy (C18:0) 5-8% wszystkich kwasów tłuszczowych w oleju mikrobiologicznego [Ratlidge, 1997].

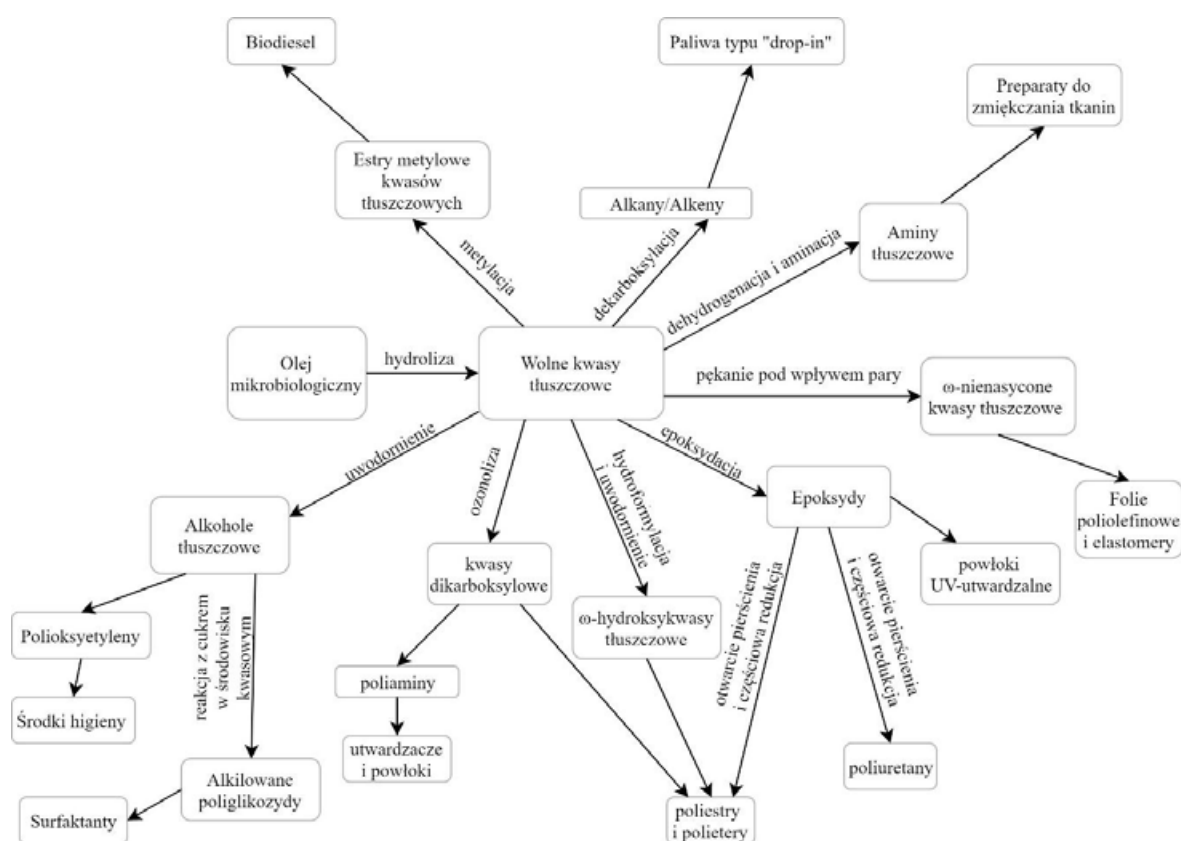
W przypadku syntezy tłuszczów *ex novo* skład oleju mikrobiologicznego jest wypadkową składu lipidowego źródła węgla obecnego w podłożu i indywidualnych preferencji mikroorganizmu. Drobnoustroje olejogenne potrafią często selektywnie pobierać wybrane kwasy tłuszczowe. Wykazano także [Montet i in., 1985; Papanikolau i Aggelis, 2011a], że niektóre drożdże olejogenne posiadają zdolność tworzenia nienasyconych wiązań w kwasach tłuszczowych w pozycjach C9 i C12 pomimo asymilacji nasyconych kwasów tłuszczowych. Z kolei Papanikolau i Aggelis [2003] podają, że nienasycone i krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe obecne w podłożu hodowlanym są po wniknięciu do komórki wykorzystywane jako źródło energii, natomiast pobrane z podłoża nasycone kwasy tłuszczowe są chętniej kumulowane w ciałkach lipidowych, co skutkuje wyższą zawartością nienasyconych kwasów tłuszczowych w oleju mikrobiologicznym w porównaniu do oleju będącego substratem.

Wykorzystanie przemysłowe oleju mikrobiologicznego – perspektywy i praktyka

Z uwagi na zyskującą na popularności i aktualności politykę zrównoważonego rozwoju, coraz częściej podejmuje się próby wykorzystywania alternatywnych źródeł energii. Obiecujące wydaje się być wykorzystanie SCO w przemyśle oleochemicznym m.in. do produkcji paliwa typu biodiesel, gdyż produkcja paliw m.in. z biomasy roślin oleistych nie jest w stanie zaspokoić rosnącego zapotrzebowania konsumentów [Quispe i in., 2013] (rys. 2).

Na dzień dzisiejszy biotechnologiczna produkcja biodiesla drugiej generacji, tzw. second - generation biodiesel, czyli paliwa otrzymywanego z oleju mikrobiologicznego, jest nieopłacalna ekonomicznie w skali przemysłowej. Główną tego przyczynę stanowi nadal zbyt niska wydajność produkcji. Niewątpliwą jednak zaletą tego podejścia jest minimalizacja zapotrzebowania na przestrzeń oraz krótki czas prowadzenia procesu w porównaniu z produkcją biomasy roślinnej. Dodatkowo, produkcja SCO jest niezależna od pory roku i warunków klimatycznych [Thiru i in., 2011]. Dzięki zdolności drobnoustrojów

olejogennych do wzrostu na podłożach odpadowych możliwe jest zagospodarowanie uciążliwych dla środowiska substancji będących źródłem węgla i azotu. Oporność na wysokie stężenia cukru pozwala na skuteczną utylizację płynnych odpadów bez konieczności ich rozcieńczania, a zdolność do kumulacji dużych ilości tłuszczu przyczynia się do zwiększenia wydajności procesu produkcji lipidów wewnątrzkomórkowych stanowiących substrat do syntezy estrów metylowych i etylowych. Zastosowanie znanych i dobrze scharakteryzowanych mikroorganizmów nie tylko zapewnia bezpieczeństwo produkcji, ale umożliwia także wykorzystanie manipulacji genetycznych w celu zwiększenia wydajności pozyskiwanego oleju [Ageitos i in., 2011]. Do rozwoju tej gałęzi przemysłu przyczyni się niewątpliwie możliwość zastosowania istniejącej infrastruktury wykorzystywanej dotychczas do produkcji biodiesla pierwszej generacji, z surowców roślinnych oraz prowadzone intensywnie badania z udziałem inżynierii genetycznej.



Rysunek 2. Schemat przetwarzania wolnych kwasów tłuszczowych do odnawialnych oleochemikaliów, opracowanie własne na podstawie [Probst i in., 2015].

W przeciwieństwie do opisanego powyżej rozwiązania w praktyce komercyjnej olej mikrobiologiczny wykorzystuje się w suplementacji diety człowieka w wielonienasycone

kwasy tłuszczowe (PUFA), których ssaki nie potrafią syntezować lub ich synteza jest niewystarczająca [Laoteng i Certik, 2010]. Do najczęściej suplementowanych kwasów zaliczyć należy kwasy ω -3 takie jak kwas α -linolenowy (C18:3, ALA) i kwas linolowy (C18:2, LA), które stanowią składnik błon komórkowych oraz są prekursorami hormonopodobnych związków regulujących działanie układu krwionośnego, odpornościowego i nerwowego [Arjuna, 2014]. Ważnymi związkami są także kwas arachidonowy (C20:4, ARA, ω -6), kwas dokozaheksaenowy (C22:6, DHA, ω -3) oraz kwas eikozapentaenowy (EPA, C20:5, ω -3), które wchodzi w skład kory mózgowej, siatkówki oka oraz trombocytów [Bellou i in., 2016].

Produktami często wzbogacanymi w PUFA jest żywność dla niemowląt. Kwasy takie jak DHA i ARA są niezbędne do prawidłowego rozwoju układu nerwowego i ostrości widzenia u noworodków. Dzieci karmione mlekiem matki na ogół nie mają niedoborów tych kwasów, jednak pojawiają się one u niemowląt karmionych mlekiem modyfikowanym [Beligon i in., 2016]. Najczęściej w celu suplementacji stosowano olej rybi, jednak z uwagi na zanieczyszczenie ryb dioksynami, chlorowanymi bifenyłami (PCB), czy też metalami ciężkimi, na popularności zyskują źródła mikrobiologiczne (tab. 1) [Ochsenreither i in., 2016].

Tabela 1. Wybrane firmy produkujące odżywki dla dzieci wzbogacane w DHA, praca własna [wg. Fichtali i Senanayake, 2010 i Ochsenreither i in., 2016]

Nazwa koncernu	Kraj
Royal Numico	Holandia
Arla Fooda	Dania
Medici Medical	Włochy
Semper AB	Szwecja
Pasteur Milk	Korea Południowa
PT Sanghiang Perkasa	Indonezja
Synutra Inc.	Chiny
Murray Goulburn	Australia
Nature's One	USA

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe można dodawać bezpośrednio do gotowych produktów przeznaczonych do spożycia lub też stosować suplementację paszy dla zwierząt, co w konsekwencji prowadzi do zwiększonej zawartości PUFA w produktach pochodzenia zwierzęcego np. mięsie czy jajach [Bellou i in., 2016]. Wykorzystanie oleju mikrobiologicznego do suplementacji kwasów ω -3 i ω -6 w żywności wydaje się być godną

uwagi alternatywą dla oleju rybiego i roślinnego. Potrzebne są jednak dalsze badania nad optymalizacją składu tego oleju, tak aby zawierał wystarczającą ilość pożądaných wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, a jednocześnie wykazywał odpowiednią stabilność i trwałość. W tym celu prowadzone są badania nad mikrokapsułkowaniem oleju oraz stabilizacją emulsji [Kralovec i in., 2012]. Co ciekawe, istnieje również możliwość wykorzystania mikroorganizmów olejogennych do syntezy substytutów masła kakaowego, które zawierać może ponad 60% nasyconych kwasów tłuszczowych [Dyal i Narine, 2005].

Literatura

- Ageitos JM., Vallejo JA., Veiga-Crespo P., Villa TG. (2011). Oily yeast as oleaginous cell factories. *Applied Microbiology and Biotechnology* 90, 1219-1227.
- Arjuna A. (2014) Production of polyunsaturated fatty acids by fungi: a review. *International Journal of Pharma and Bio Science* 5, 931-954.
- Beligon V., Christophe G., Fontanille P., Larroche C. (2016). Microbial lipids as potential source to food supplements. *Current Opinion in Food Science* 7, 35-42.
- Bellou S., Triantaphyllidou IE., Aggeli D., Elazzazy AM., Baeshen MN., Aggelis G. (2016). Microbial oils as food additives: recent approaches for improving microbial oil production and its polyunsaturated fatty acid content. *Current Opinion in Biotechnology* 37, 24-35.
- Beopoulos A., Cescut J., Haddouche R., Uribelarrea JL., Molina-Jouve C., Nicaud JM. (2009). *Yarrowia lipolytica* as a model for bio-oil production. *Progress in Lipid Research* 48, 375-387.
- Dyal SD., Narine SS. (2005). Implications for the use of *Mortierella* fungi in the industrial production of essential fatty acids. *Food Research International* 38, 445-467.
- Evans CT., Ratledge C. (1985). The role of the mitochondrial NAD⁺ isocitrate dehydrogenase in lipid accumulation. *Canadian Journal of Microbiology* 31, 845-850.
- Fakas S., Papanikolau S., Galiotou-Panayotou M., Komaitis M., Aggelis G. (2009). Biochemistry and biotechnology of single cell oil. W: Pandey A., Larroche C., Soccol CR., Dussard CG. *New Horizons in Biotechnology*. AsiaTech Publishers Inc, 38-60.

- Fickers P., Benetti PH., Waché Y., Marty A. i in. (2005). Hydrophobic substrate utilization by the yeast *Yarrowia lipolytica* and its potential applications. *FEMS Yeast Research* 5, 527-543.
- Huang C, Chen XF., Xiong L., Chen XD., Ma LL., Chen Y. (2013). Single cell oil production from low-cost substrates: the possibility and potential of its industrialization. *Biotechnology Advances* 31, 129–39.
- Kot A., Błażej S., Kurcz A., Gientka I. (2015). Drożdże jako potencjalne źródło tłuszczu mikrobiologicznego. *Postępy Mikrobiologii* 54(4), 364-373.
- Kralovec JA., Zhang S., Zhang W., Barrow CJ. (2012). A review of the process in enzymatic concentration and microencapsulation of omega-3 rich oil from fish and microbial sources. *Food Chemistry* 131, 639-644.
- Laoteng K., Certik M. (2010). Biotechnological production and application of high value microbial oils. W: *Industrial Fermentation: Food Processes, Nutrient Sources and Production Strategies*, Hauppauge, NY, Nova Science Publishers, Inc. 187-215.
- Leiva-Candia DE., Pinzi S., Redel-Macias MD. i in. (2014) The potential for agro-industrial waste utilization using oleaginous yeast for the production of biodiesel. *Fuel* 123, 33-42.
- Li Q., Du W., Liu D. (2008). Perspectives of microbial oils for biodiesel production. *Applied Microbiology and Biotechnology* 80, 749-756.
- Mlícková K., Roux E., Athenstaedt K., d'Andrea S., Daum G., Chardot T., Nicaud JM. (2004). Lipid accumulation, lipid body formation and acyl coenzyme A oxidases of the yeast *Yarrowia lipolytica*. *Applied Environmental Microbiology* 70, 3918-3924.
- Mohan SV., Rohit MV., Chiranjeevi P., Chandra R., Navaneeth B. (2015). Heterotrophic microalgae cultivation to synergize biodiesel production with waste remediation. *Bioresource Technology* 184, 169-178.
- Nicaud JM. (2012). *Yarrowia lipolytica*. *Yeast* 29, 407-452.
- Ochsenreither K., Gluck C., Stressler T., Fischer L., Sylatak C. (2016). Production strategies and applications of microbial single cell oils. *Frontiers Microbiology* 7, article 1539.
- Papanikolau S., Aggelis G. (2003). Selective uptake of fatty acids by the yeast *Yarrowia lipolytica*. *European Journal of Lipid Science and Technology* 105, 651-655

- Papanikolaou S., Aggelis G. (2007). Biotechnological valorization of biodiesel derived glycerol waste through production of single cell oil and citric acid by *Yarrowia lipolytica*. *Lipid Technology* 21, 83-87.
- Papanikolaou S., Aggelis G. (2011a). Lipids of oleaginous yeasts. Part I: Biochemistry of single cell oil production. *European Journal of Lipid Science and Technology* 113, 1031-1051.
- Papanikolaou S., Aggelis G. (2011b). Lipids of oleaginous yeasts. Part II: technology and potential applications. *European Journal of Lipid Science and Technology* 113, 1052-73.
- Quispe CAG., Coronado CJR., Cavalho JA. (2013). Glycerol: Production, consumption, prices, characterization and new trends in combustion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 27, 475-493.
- Ratlidge C. (1997). Microbial lipids. W: Kleinkauf H., Dohren H., *Biotechnology* 7, 135-197.
- Ratlidge C., Cohen Z. (2008). Microbial and algal oils: do they have a future for biodiesel or as commodity oils? *Lipid Technology* 20, 155-160.
- Ratlidge C., Wynn J. (2002). The biochemistry and molecular biology of lipid accumulation in oleaginous microorganisms. *Lipid Technology* 51, 1-51.
- Thevenieau F., Nicaud JM. (2013). Microorganisms as sources of oils. *Oilseeds and fats Crops and Lipid*, 20, D603.
- Thiru M., Sankh S., Rangaswamy V. (2011). Process for biodiesel production from *Cryptococcus curvatus*. *Bioresource Technology* 102, 10436-10440.
- Zhang X., Agrawal A., San KY. (2012). Improving fatty acid production in *Escherichia coli* through the overexpression of malonyl CoA-acyl carrier protein transacylase. *Biotechnology Progress* 28, 60-65.
- Zhu Q., Jackson EN. (2015). Metabolic engineering of *Yarrowia lipolytica* for industrial applications. *Current Opinion in Biotechnology* 36, 65-72.

Naturalne antyoksydanty oraz ich wpływ na peroksydację lipidów - praca przeglądowa

Tomasz Półbrat

*Studenckie Koło Naukowe Żywienia Zwierząt, Katedra Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa,
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*

Półbrat T.: tomasz.polbrat@op.pl

Streszczenie

Antyoksydanty przeciwdziałające procesowi jełczenia nie powinny wpływać negatywnie na zdrowie konsumenta, co jest głównym zarzutem przeciwko syntetycznym antyoksydantom. Celem pracy był przegląd badań wpływu naturalnych antyoksydantów na peroksydację tłuszczów.

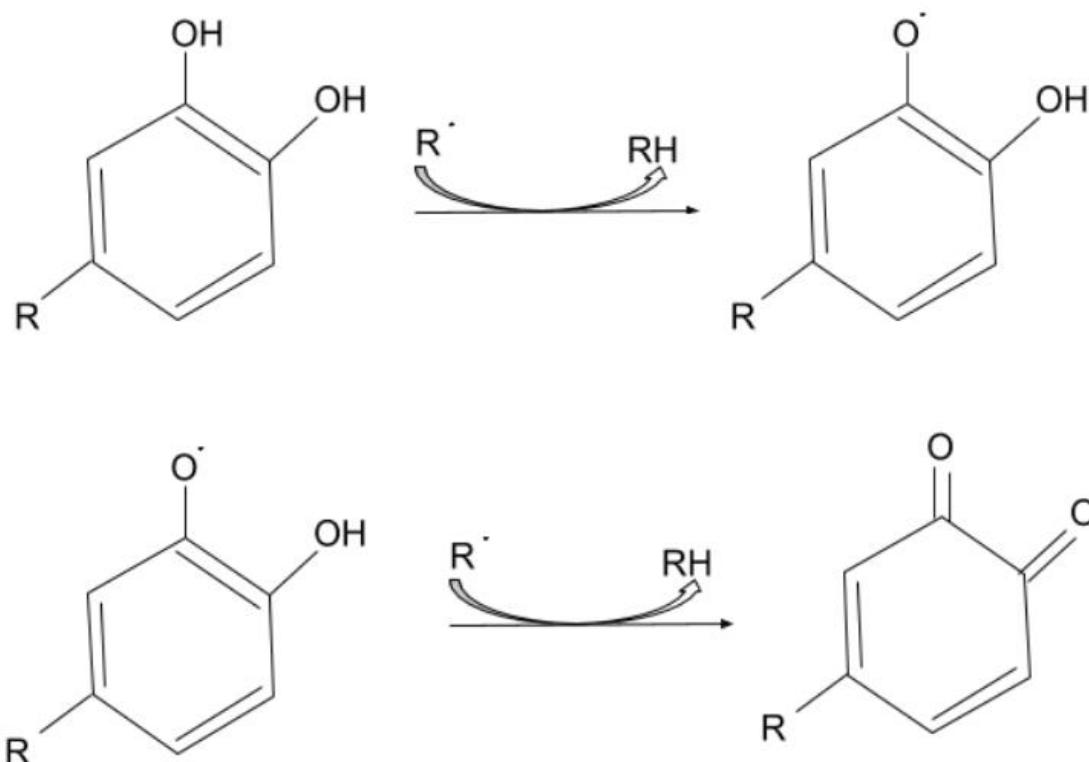
Słowa kluczowe: wolne rodniki, utlenianie, flawonoidy, polifenole

Wstęp

Tłuszcze przyjmowane z pożywieniem są dla człowieka bardzo istotnym elementem diety, ponieważ pełnią w naszym organizmie wiele funkcji. Stanowią doskonały magazyn energii, tworzą budulec błon komórkowych, są integralną częścią wielu hormonów oraz pełnią rolę medium, w którym rozpuszczają się witaminy A, E, D, K. Jednym z elementów określenia wartości odżywczej tłuszczu jest oznaczenie budujących go kwasów tłuszczowych. Kwasy tłuszczowe dzieli się na nieposiadające wiązań podwójnych (nienasycone), posiadające jedno wiązanie podwójne (jednonienasycone), lub też posiadające dwa i więcej wiązań podwójnych (wielonienasycone). Reakcje chemiczne w naszym organizmie prowadzą jedynie do syntezy kwasów tłuszczowych nasyconych i jednonienasyconych. Niezbędne wielonienasycone kwasy tłuszczowe nie mogą być syntezowane w organizmie człowieka, dlatego muszą być dostarczane z dietą [Gawęcki, 2010].

Cechą charakterystyczną nienasyconych kwasów tłuszczowych jest ich podatność na oksydację, a więc przyłączanie tlenu do węgla tworzącego wiązanie podwójne. Zmienia to właściwości fizykochemiczne związku, czyniąc go bardzo często szkodliwym [Gawęcki, 2010]. Charakterystyczny jest również produkt w postaci dialdehydu malonowego (MDA). MDA jest elektrofilowym, reaktywnym aldehydem, powstającym jako drugorzędowy produkt oksydacji kwasów wielonienasyconych n-3 i n-6. Specyficzność tego aldehydu spowodowała, że stał się markerem peroksydacji [Larsson i in., 2016]. Jego barwna reakcja z kwasem 2-tiobarbiturowym pozwala określić stopień utlenienia tłuszczu w danej próbie (TBARS) [Gawęcki i in., 1960]. Do określenia stopnia utlenienia tłuszczu używa się wskaźnika PV (Peroxidation Value). Jest to miara koncentracji (w mikro ekwiwalentach) nadtlenu wodoru, pierwszorzędowego produktu oksydacji. Nadtlenek w reakcji z jodkiem potasu uwalnia jod. Ilość uwolnionego jodu wskazuje na koncentrację nadtlenu, a więc na przebieg oksydacji tłuszczu. Ilość jodu oznacza się, wykorzystując tiosiarczan sodu [Kong i Singh, 2011]. Istnieje również metoda oceny podatności tłuszczu na utlenianie. Metoda Rancimat [Laubli i in., 1986] polega na przepuszczeniu przez tłuszcz gorącego powietrza, które powoduje zapoczątkowanie procesów oksydacji. Pierwsze produkty reakcji utleniania lipidów, a więc nadtlenuki, przeniesione z powietrzem trafiają do zdejonizowanej wody. Obecność tych substancji w wodzie powoduje zmianę jej przewodności elektrycznej. Zmiana ta jest podstawą do stwierdzenia, iż rozpoczęły się procesy utleniania. Czas potrzebny do zmiany przewodności elektrycznej wody jest nazywany fazą indukcji. Długość fazy indukcji jest wartością, która pozwala ocenić podatność tłuszczu na procesy peroksydacji.

Organizmy żywe szybko nauczyły się radzić sobie z destruktywnym działaniem reaktywnych form tlenu (ROS) i azotu (RNS), powodujących utlenianie tłuszczu. Wytworzyły bowiem tzw. antyoksydanty, czyli substancje zdolne do ustabilizowania wolnego rodnika. Antyoksydant uniemożliwia zapoczątkowanie reakcji łańcuchowej, przerywa już zapoczątkowane reakcje, reaguje z nadtlenukami oraz łączy się z metalami katalizującymi peroksydację [Abou-Arab i Abu-Salem, 2010]. Umiejętność zmiany konformacji przez antyoksydant powoduje, że nie staje się on kolejnym ogniwem łańcucha peroksydacji [Ruszczycki i Liu, 2017] (Rys. 1).



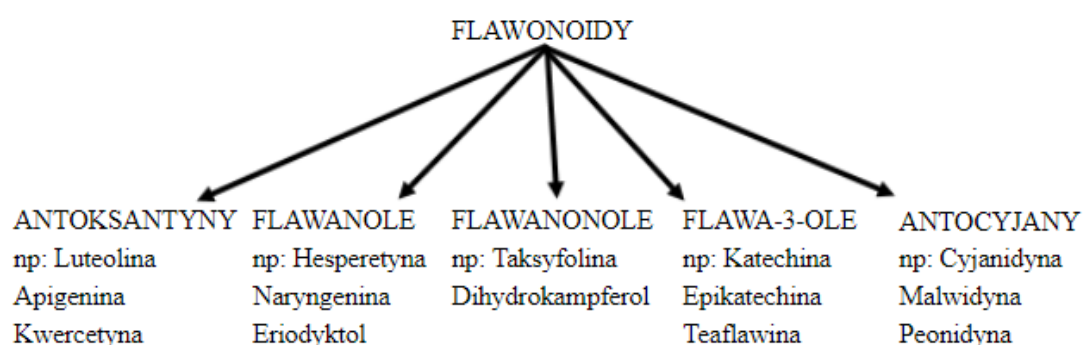
Rysunek 1. Wyłapywanie reaktywnych form tlenu przez flawonoidy [Bartosz, 2004]

Antyoksydanty różnią się między sobą właściwościami antyoksydacyjnymi. By określić pojemność antyoksydacyjną, używa się metody opierającej się na reakcjach wygaszania syntetycznych wolnych rodników. Wynik podaje się jako IC_{50} , a więc ilość danego antyoksydantu potrzebną do inhibicji (wygaszenia) procesów peroksydacji w 50%. Często spotykane jest odnoszenie wartości IC_{50} danego antyoksydantu do wartości jaką uzyskuje Trolox® (syntetyczny analog witaminy E). Stałość wyników uzyskiwanych przez tę substancję stanowi dobry punkt odniesienia. Niektóre antyoksydanty, pomimo swojej wysokiej pojemności antyoksydacyjnej, nie spełniają podstawowych kryteriów, jakie stawia się przed substancjami mającymi służyć konserwacji żywności. Antyoksydanty używane w żywności powinny być tanie, nietoksyczne, efektywne w niskiej koncentracji, możliwie odporne na procesy produkcyjne, stabilne i nie powinny wnosić własnego zabarwienia, smaku oraz zapachu [Shahidi i Zhong, 2005].

Liczną grupą reprezentującą antyoksydanty są związki polifenolowe. Są to substancje syntetyzowane głównie przez rośliny oraz niektóre ryby [Larsson i in., 2016]. Ze względu na różnice we właściwościach chemicznych, fizycznych oraz biologicznych,

można je podzielić na lignany, taniny, stylbeny, kwasy fenolowe oraz flawonoidy [Shavandi i in., 2018].

Flawonoidy są bardzo rozpowszechnionymi polifenolami w królestwie roślin i sztandarowym przykładem antyoksydantów. Wytwarzane są z fenyloalaniny, by chronić roślinę przed peroksydacją elementów błon fosfolipidowych oraz uszkodzeniami na skutek promieniowania UV. Są polifenolami zbudowanymi z 15 atomów węgla, z czego 12 tworzy dwa pierścienie aromatyczne, a łączy je 3-węglowy most [Butković i in. 2004]. Flawonoidy dzieli się na antoksantyny, flawanole, flawanonole, flawan-3-ole oraz antocyjany (Rys.2).



Rysunek 2. Podział flawonoidów ze względu na budowę chemiczną.

Istotne (ze wzgl. ekonomicznych) jest przedłużenie terminu przydatności do spożycia dla produktów żywnościowych. Flawonoidy, oprócz swojego pozytywnego wpływu na trwałość produktów spożywczych, są też składnikami ekstraktów całkowicie naturalnych, co w dzisiejszych czasach zwiększa atrakcyjność produktu.

Cel opracowania

Celem niniejszego opracowania było dokonanie przeglądu prac traktujących o wpływie dodatku naturalnych ekstraktów roślinnych zawierających antyoksydanty (podawanych do paszy oraz bezpośrednio do żywności) na peroksydację tłuszczów, w tym również kwasów wielonienasyconych (PUFA).

Peroksydacja tłuszczu jest procesem negatywnym z perspektywy przechowalności, ponieważ zmienia właściwości fizykochemiczne, co wpływa niekorzystnie na smak produktu [Vercellotti i in., 1992]. Mięso jest produktem wysoce

narażonym na procesy jęłczenia tłuszczu śródmięśniowego (szczególnie mięso przetworzone bądź oddzielone mechanicznie).

Ekstrakty roślinne znacznie różnią się od siebie pod względem stężenia substancji czynnych, co może być przyczyną rozbieżności wyników badań nad antyoksydacyjnym wpływem ekstraktów na produkty spożywcze. Schwarz [1992] dowiódł, że głównym czynnikiem zmieniającym pojemność antyoksydacyjną ekstraktów rozmarynu i szałwii jest koncentracja diterpenów. Czynniki zewnętrzne również mogą mieć wpływ na aktywność związków zawartych w ekstraktach roślinnych. Wpływ przechowywania ekstraktu rozmarynu na aktywność substancji w nich zawartych zbadał Zhang [2012]. Karnozol, kwas karnozolowy oraz kwas rozmarynowy wykazywały liniowy wzrost degradacji wraz ze zwiększeniem temperatury. Istotny wpływ na degradację tych substancji miało także promieniowanie UV.

Wielu autorów zauważa wzrost efektywności mieszanek antyoksydantów. Jest to spowodowane różnymi mechanizmami działania poszczególnych substancji. Na synergiczne działanie antyoksydantów wskazuje Lee [2005]. Ekstrakt z rozmarynu, cytrynian sodu oraz izoaskorbinian sodu w połączeniu wykazały wyższy poziom inhibicji reakcji utleniania oraz stabilizacji barwy mięsa niż każdy z nich osobno (przy takim samym stężeniu molowym).

Zapobieganie utlenianiu tłuszczu w mięsie

Bakalivanova i Kaloyanov [2012] w swoim badaniu sprawdzili wpływ naturalnych antyoksydantów w postaci taksyfoliny (120 mg/kg), ekstraktu rozmarynu (400 mg/kg), suszonego rozmarynu (3 g/kg) oraz syntetycznych antyoksydantów w postaci Frisheks-S (5 g/kg), izoaskorbinianu sodu (500 mg/kg), kwasu askorbinowego (1 g/kg), na utlenianie lipidów w mięsie drobiowym MOM. Frisheks-S jest mieszaniną substancji o działaniu antyoksydacyjnym, a składa się z octanu sodu, cytrynianu sodu, izoaskorbinianu sodu, kwasu askorbinowego i chlorku sodu. Próby były przechowywane w temperaturze 4°C przez 3 miesiące. Stopień utlenienia mięsa zbadano w 7, 15, 30 oraz 90 dniu metodą TBARS i oznaczono ilość hemu (mg/100g mięsa). Z przeprowadzonych analiz wynikało, że po 15 dniach najskuteczniejszym naturalnym antyoksydantem okazała się taksyfolina, która w porównaniu do próby zerowej zahamowała 50% reakcji peroksydacji. Podobny wynik osiągnął ekstrakt z rozmarynu, powodując inhibicję 37% reakcji peroksydacji. Frisheks-S

wykazał najsilniejsze właściwości antyoksydacyjne spośród badanych substancji syntetycznych. Wszystkie antyoksydanty w 30 dniu prowadzonych badań powodowały inhibicję reakcji peroksydacji. Żadna z substancji w 90 dniu badania nie wpłynęła na obniżenie poziomu MDA. W 7 i 15 dniu badań, ilość hemu w mięsie z dodatkiem antyoksydantów naturalnych oraz syntetycznych była odpowiednio o 19% i 30% większa niż w próbie kontrolnej. Po 15 dniach przechowywania, ilość hemu w mięsie zabezpieczonym substancjami o charakterze antyoksydacyjnym spadła, osiągając wynik podobny do wyniku próby kontrolnej.

Ekstrakt z igieł rozmarynu został również zbadany przez Fernandez-Lopez i in. [2004]. Jego badania dotyczyły wpływu użytego rozpuszczalnika na właściwości antyoksydacyjne ekstraktu roślinnego. Materiałem, dla którego przeprowadzono analizy, było mielone mięso wołowe, zaś jako antyoksydantu użyto sześciu komercyjnych ekstraktów roślinnych, w tym: trzech ekstraktów rozmarynu (rozpuszczalnikiem był olej spożywczy, woda i mieszanina oleju z wodą), ekstraktu czosnku, ekstraktu z cytryny oraz ekstraktu z pomarańczy. Z uwagi na fakt, że w teście Rancimat ekstrakt z czosnku wykazał właściwości prooksydacyjne, nie został poddany dalszym testom na mięsie. Test ten nie wykazał istotnych różnic statystycznych pomiędzy ekstraktem wodnym i olejowym rozmarynu; w przypadku mieszaniny oleju z wodą wynik był odmienny. W dalszych etapach badań, mięso w formie szwedzkich pulpetów było przechowywane przez 12 dni. Każdego dnia część pulpetów była poddana analizie oraz podawana testerom w próbach organoleptycznych. Przy pomocy kolorymetrycznego testu TBA (sprawdzającego zawartość MDA) wykazano wysoką skuteczność antyoksydacyjną ekstraktów rozmarynu (najlepszą przy użyciu rozpuszczalników w postaci wody i oleju, ale nieco gorszą dla ich mieszaniny). Ekstrakty te wpłynęły pozytywnie na stopień peroksydacji lipidów, smak mięsa, aromat i kolor, a tym samym na akceptowalność produktu w testach organoleptycznych. Pozostałe ekstrakty nie spełniły swojego zadania w stopniu zadowalającym, co przełożyło się na nieakceptowalny smak mięsa już w 6 dniu przechowywania. Wroniak i Łubian [2008] jako odpowiedź na prooksydacyjne właściwości ekstraktu czosnku, sugerują wpływ zbyt wysokiego początkowego stopnia utleniania tłuszczu oraz obecności lotnych związków organicznych zawartych w ekstraktach na poprawność testu Rancimat. W swoich badaniach nad antyoksydacyjnym wpływem

czosnku nad przetworzonym mięsem, Aguirrezaabal [1999] odnotował wzrost wskaźnika TBARS dla prób z czosnkiem, bez wzrostu wskaźnika PV dla tych samych prób.

Al-Hijazeen [2017] w swojej pracy porównywał antyoksydacyjny wpływ ekstraktu oregano (100 i 150 ppm) z innymi, dostępnymi na rynku środkami przeciwdziałającymi peroksydacji lipidów w pożywieniu, między innymi z witaminą C (300 ppm), BHA (5-14 ppm) oraz azotynem sodu (150 ppm). Kurczęta brojlery po 6 tygodniach odchowu zostały poddane ubojowi, po którym mięso zmielono i dodano do niego ekstrakty oraz inne wyżej wymienione środki, a następnie przechowywano je w temperaturze -18°C. Test TBARS posłużył do określenia różnic w utlenianiu tłuszczu mięsa w pierwszym, czwartym oraz siódmym dniu. Nie zaobserwowano różnic istotnych statystycznie pomiędzy poszczególnymi grupami żywieniowymi po 4 i 7 dniu przechowywania prób. Pomimo braku zaobserwowanych różnic pomiędzy ilością MDA oraz innych substancji zawierających grupę karbonylową, w teście organoleptycznym największe uznanie zyskało mięso z dodatkiem ekstraktu oregano (150 ppm).

Innym podejściem do problemu charakteryzowało się badanie Giannenasas i in. [2016], w którym sprawdzano wpływ diety zawierającej naturalne antyoksydanty na intensywność procesów peroksydacji lipidów w mięsie drobiowym surowym oraz pieczonym. Do paszy brojlerów dodano 5-procentowy ekstrakt oregano oraz 0,5-procentowy ekstrakt szałwi. Mieszaniny ekstraktów dodano do paszy w ilości 500 ppm oraz 1000 ppm. Brojlery w 42 dniu życia poddano ubojowi, a następnie uzyskane próby umieszczono w temperaturze -20°C. Poziom utlenienia kolejnych prób określono przy pomocy metody kolorymetrycznej TBARS. Dodatek ekstraktów nie wpłynął na parametry odchowu, jak i na zawartość białka, tłuszczu oraz popiołu surowego. Mięso zbadano w dniu uboju zwierząt oraz po 3 i 6 dniach przechowywania. W mięsie kurcząt brojlerów karmionych paszą z dodatkiem ekstraktów zaobserwowano zmniejszone wydzielanie się MDA. Utlenianiu najefektywniej opierało się mięso surowe oraz pieczone drobiu karmionego paszą z zawartością 1000 ppm mieszanki ekstraktów.

Zapobieganie utlenianiu tłuszczu w żółtku jaja

Jednym z produktów odzwierzęcych, w których wykorzystuje się polifenole do zabezpieczenia błon lipidowych przed peroksydacją, są jaja. Przeciętnie żółtko jaja składa się w 31% z tłuszczu, a niemal 6% z samych tylko wielonienasyconych kwasów

tłuszczowych [American Egg Board, 2006]. Od ponad dwóch dekad, jaja wzbogacone o dodatkowe niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT) są coraz częściej spotykane na rynku, a generuje to jeszcze większe zapotrzebowanie na ochronę tychże kwasów. Tak wysoka zawartość kwasów tłuszczowych podatnych na utlenianie powoduje, iż żółtko jaja jest szczególnie narażone na procesy zmieniające jego walory smakowe [Jiang i in., 1992].

Akdemir [2012] do konserwacji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w żółtku jaja użył liofilizatu z pomidorów podawanego z paszą. Liofilizat zawierał naturalne antyoksydanty, tj. likopen, β -karoten, γ -karoten, czy luteina. Dodatek do paszy stanowił 0 g, 5 g lub 10 g na 1 kg paszy. Badanie trwało 90 dni, a od każdej grupy żywieniowej pozyskano 12 losowo wybranych jaj. Do analizy żółtka użyto wysokowydajnej chromatografii cieczowej (HPLC). Kury żywione paszą z dodatkiem liofilizatu z pomidorów (przy dodatku zarówno 0, 5, jak i 10 g na 1 kg paszy) osiągały wyższe wyniki użytkowości nieśnej (większa liczba jaj, wyższa waga jaj, niższy FCR). Zaobserwowano wzrost ilości poszczególnych składników dodatku (karotenoidy, luteina likopen) w żółtku oraz spadek koncentracji MDA z 0,198 g/kg w grupie kontrolnej do 0,150 g/kg i 0,121 g/kg dla kolejno dodatku liofilizatu w ilości 5 g i 10 g na kilogram paszy.

Antyoksydacyjna skuteczność ekstraktu z rozmarynu została zakwestionowana pracą Galobarta i in. [2001]. W badaniu tym, pasza została wzbogacona o olej lniany (co podniosło ilość PUFA w dawce pokarmowej dla niosek) oraz o naturalny antyoksydant w postaci ekstraktu z rozmarynu (ER). Dla porównania, podał nioskom również octan α -tokoferolu (OT). Stworzono sześć grup doświadczalnych: grupa kontrolna (I), 500 mg ER (II), 1000 mg ER (III), 200 mg OT (IV), 200 mg OT + 500 mg ER (V) oraz 200 mg OT + 1000 mg ER (VI). Poziom oksydacji tłuszczu określono za pomocą pomiaru LHP (lipid hydroperoxide) oraz metodą TBA. Oksydacja tłuszczu była inicjowana przez żelazo (FeSO_4). Zaobserwowano inhibicję peroksydacji lipidów żółtka jaj od kur niosek karmionych paszą z dodatkiem octanu α -tokoferolu (gr. IV, V, VI). Dodatek rozmarynu nie wpłynął w istotny sposób na poziom utleniania. Stwierdzono brak wpływu dodatków na profil kwasów tłuszczowych żółtka po dodaniu FeSO_4 .

Wpływ naturalnego antyoksydantu na użytkowość nieśną oraz jakość jaj badano również u przepiórki japońskiej (*Coturnix coturnix japonica*). Sahin i in. [2010] zbadali wpływ trzech diet: nie zawierającej resweratrolu, zawierającej 200 mg/kg oraz 400 mg/kg resweratrolu w paszy. Ekstrakt zawierający resweratrol pozyskano z rdestowca

ostrokończystego (*Polygonum cuspidatum*). Zebrane jaja poddano przechowywaniu w -80°C , po czym przeprowadzono analizę żółtka jaj przy użyciu wysokowydajnej chromatografii cieczowej (HPLC). Poziom oksydacji badano za pośrednictwem stężenia MDA. Sprawdzone również zawartość witaminy E i α -tokoferolu. Analiza HPLC wykazała liniowy spadek zawartości MDA w żółtku jaj przepiórek karmionych paszą z dodatkiem resweratrolu (dodatek w postaci 400 mg/kg antyoksydantu, spowodował wytworzenie ponad 25% mniej MDA). Nie zaobserwowano natomiast wpływu resweratrolu w diecie na zawartość witaminy E oraz α -tokoferolu w żółtku jaja.

Zapobieganie utlenianiu tłuszczu zwierzęcego i oleju roślinnego

Badania Michalczyk i Banaś [2014] wskazują na pozytywne działanie naturalnych antyoksydantów na trwałość smalcu wieprzowego. Próby smalcu o wadze 100g przechowywano przez 90 dni w temperaturze 20°C . W celu inhibicji procesu peroksydacji lipidów, zastosowano dodatek ekstraktu z szalwii (*Salvia officinalis*), hyzopu (*Hyssopus officinalis*), bazylii (*Ocimum basilicum*), tymianku (*Thymus vulgaris*), rozmarynu (*Rosmarinus officinalis*), kolendry (*Coriandrum sativum*), majeranku (*Origanum majorana*) i oregano (*Origanum vulgare*) w stężeniu 0,1%. W świeżym i przechowywanym smalcu wykonano oznaczenie liczby nadtlenkowej (PV) oraz wskaźnika TBARS. Próby zbadano po 0, 30, 60 oraz 90 dniach. Już po 30 dniach przechowywania, dwa z ośmiu ekstraktów wykazały działanie antyoksydacyjne (niższy niż w próbie kontrolnej wzrost wskaźnika PV oraz TBARS), a były to tymianek i oregano. Ponadto, wpływ ten rósł w kolejnych dniach. Podobne właściwości antyoksydacyjne mogą być ugruntowane zawartością substancji czynnych, bowiem w przypadku tymianku oraz oregano, głównymi substancjami działającymi antyoksydacyjnie są karwakrol i tymol. Pozostałe ekstrakty nie wykazały właściwości antyoksydacyjnych, natomiast ekstrakt z hyzopu wpłynął na smalec prooksydacyjnie. Wynik ten może wskazywać na nieprecyzyjność, jaką charakteryzuje się metoda TBARS. Kwas 2-tiobarbiturowy tworzy addukty barwne z bilirubiną, kwasem sjałowym, produktami degradacji cukrów oraz innymi aldehydami [Janero, 1990]. Prooksydacyjnego działania hryzopu nie potwierdzają badania Gumusa i in. [2016]. Przeprowadził on badania sprawdzające właściwości antyoksydacyjne roślin leczniczych, w których hyzop wykazał stosunkowo słabe działanie antyoksydacyjne, porównywalne do działania lawendy.

Aydeniz i Yilmaz [2016] zbadali wpływ naturalnych antyoksydantów na olej z orzechów arachidowych. Do ochrony tłuszczu przed utlenianiem użyto ekstraktów z zielonej herbaty (GTE), likopenu (LYE), resweratrolu (RSV), γ -oryzanolu (PGO) oraz - dla porównania - syntetyczne antyoksydanty: BHA i BHT. Olej był przez 7 dni używany do smażenia ciasta. Ciasto było poddane ocenie sensorycznej. Pojemność antyoksydacyjna była mierzona metodą ABTS, a wynik podano jako ekwiwalent Troloxu[®]. Najwyższą pojemność oksydacyjną zaobserwowano w przypadku oleju z PGO, następnie kolejno GTE, LYE i RSV. Zaobserwowano znaczne ograniczenie ilości wolnych kwasów tłuszczowych (FFA) po podaniu dodatku w postaci antyoksydantu. Poza grupą kontrolną, wszystkie z prób osiągnęły wynik niższy niż 2g/100g oleju, co jest wyznacznikiem przydatności spożywczej oleju. Podczas smażenia zaobserwowano spadek ilości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) w oleju. Mniejszy spadek ilości PUFA odnotowano w oleju z dodatkiem antyoksydantów. Dodatek ekstraktów nie miał wpływu na ilość oleju zaabsorbowanego przez ciasto. Ocena sensoryczna ciasta smażonego na oleju z naturalnymi antyoksydantami była wyższa niż w przypadku ciasta smażonego na oleju z BHA i BHT.

Podsumowanie

Jak pokazuje wiele badań, możliwe jest zastąpienie syntetycznych antyoksydantów naturalnymi, bez uszczerbku na jakości przechowywanego produktu. Należy również pamiętać, że zaleceniem Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), BHA i BHT (najczęściej spotykane w przechowywaniu syntetyczne antyoksydanty) zaleca się stosować w ilości do 0,03 mg/kg mc. oraz 0,05 mg/kg mc [www.inchem.org]. Jest to stosunkowo mała ilość i zapewnienie bezpieczeństwa konsumentom może uniemożliwić dostateczne zabezpieczenie tłuszczu przed utlenieniem. Naturalne antyoksydanty w większych stężeniach wg. FAO nie niosą ze sobą zagrożenia. Ekstrakt z rozmarynu może stanowić dodatek w ilości 50 mg/kg oleju roślinnego lub 150 mg/kg świeżego/pieczonego mięsa [Srinivasan, 2016].

Zabezpieczenie tłuszczu zawartego w mięsie przed jęłczeniem, powinno rozpoczynać się już podczas karmienia zwierząt, ponieważ może to wpłynąć pozytywnie na uzyskany produkt. Podawanie zwierzętom naturalnych antyoksydantów, połączone

z dodatkowym zabezpieczeniem nimi mięsa już gotowego jako produktu, powinno efektywnie ograniczyć reakcje utleniania [Loetscher i in., 2013]

Chcąc zabezpieczyć żywność przy użyciu naturalnych antyoksydantów przed reakcjami peroksydacji, należy pamiętać o ich synergicznym działaniu. Niższe dawki wielu różnych ekstraktów spowodują "zmiatanie" rodników różnego typu [Nieto i in., 2011; Bertolino i in., 2010].

Literatura

- Abou-Arab E. A., Abu-Salem F. M. (2010). Effect of natural antioxidants on the stability of ostrich meat during storage. *Grasas y Aceites* 61(1), 102-108.
- Aguirrezaabal M. M., Mateo J., Dominguez M. C., Zumalacarregui J.M. (2000). The effect of paprika, garlic and salt on rancidity in dry sausages. *Meat Science*, 54, 77-81.
- Akdemir F., Orhan C., Sahin N., Sahin K., Hayirli A. (2012). Tomato powder in laying hen diets: effects on concentrations of yolk carotenoids and lipid peroxidation. *Br Poult Sci.* 53(5), 675-80.
- Al-Hijazeen M. (2017). Effect of direct adding oregano essential oil (*Origanum syriacum* L.) on quality and stability of chicken meat patties. *Food Science and Technology Epub* IX, 04, 17.
- American Egg Board (2006). Egg product reference guide.
- Aydeniz B., Yilmaz E. (2016) Performance of Different Natural Antioxidant Compounds in Frying Oils. *Food Technology and Biotechnology*, 54 (1), 21-30.
- Bakalivanova T., Kaloyanov N. (2012). Effect of taxifolin, rosemary and synthetic antioxidants treatment on the poultry meat lipid peroxidation. *Comptes rendus de l'Academie bulgare des sciences: sciences mathematiques et naturelles* 65(2), 161-168.
- Bertolino F. A., Stege P. W., Salinas E., Messina G. A., Raba J. (2010) Electrochemical Study of the Antioxidant Activity and the Synergic Effect of Selenium with Natural and Synthetic Antioxidants. *Analytical Letters*, 43, 1–13
- Butković V., Klasinc L., Bors W. (2004). Kinetic Study of Flavonoid Reactions with Stable Radicals. *J. Agric. Food Chem.* 52(10), 2816–2820.
- Dorman H. J. D., Peltoketo A., Hiltunen R., Tikkanen M. J. (2003). Characterisation of the antioxidant properties of deodourised aqueous extracts from selected Lamiaceae

- herbs. *Food Chemistry* 83(2), 255-262.
- Fernandez-Lopez J., Zhi N., Aleson-Carbonell L., Pérez-Alvarez J. A., Kuri V. (2004). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Sci.* 69(3), 371-80.
- Galobart J., Barroeta A. C., Baucells M. D., Codony R., Ternes W. (2001). Effect of Dietary Supplementation with Rosemary Extract and α -Tocopheryl Acetate on Lipid Oxidation in Eggs Enriched with ω 3-Fatty Acids. *Poult Sci.* 80(4), 460-7.
- Gawęcki J. (2010). *Żywnienie człowieka: Podstawy nauki o żywieniu*. Warszawa, Wydawnictwo Naukowe PWN.
- Gawel S., Wardas M., Niedworok E., Wardas P. (1960). Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiad Lek.* 57(9-10), 453-5.
- Giannenas I., Karamoutsios A., Bartzanas T., Tsinas A., Tzora A., Skoufos I. (2016) Oregano and sage essential oils improve antioxidant status of raw and cooked breast and thigh chicken meat: In vivo investigation of antioxidant constituents of oregano and sage on chicken breast and thigh meat. *Agro Food Industry Hi Tech.* 27(4), 24-27.
- Gumus T., Demirci A. S., Sonuc M. N., Demirok N. T., Tulukcu E., Gulcu M., (2016). Investigation of antimicrobial and antioxidant activities of essential oils extracted from medicinal plants. *Journal of Food Safety and Food Quality* 67, 1, 1–28.
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v042je23.htm> [dostęp: 10.04.18]
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v042je24.htm> [dostęp: 10.04.18]
- Janero D. R., (1990). Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med.* 9 (6): 515–40.
- Jiang, Z., D.U. Ahn, L. Ladner and J.S. Sim. (1992). Influence of feeding full-fat flaxseed and sunflower seeds on internal and sensory qualities of eggs. *Poult. Sci.* 71, 378-382.
- Kong F., Singh R. P. (2011). *Advances in instrumental methods to determine food quality deterioration*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Food and Beverage Stability and Shelf Life, 381-404.
- Larsson K., Harrysson H., Havenaar R., Alminger M., Undeland I. (2016). Formation of malondialdehyde (MDA), 4-hydroxy-2-hexenal (HHE) and 4-hydroxy-2-nonenal (HNE) in fish and fish oil during dynamic gastrointestinal in vitro digestion. *Food*

- Funct. 7(2), 1176-1187.
- Laubli M. W., Bruttel P. A. (1986). Determination of the Oxidative Stability of Fats and Oils: Comparison between the Active Oxygen Method (AOCS Cd 12-57) and the Rancimat Method. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 63 (6), 792–795.
- Lee S., Decker E. A., Faustman C., Mancini R. A. (2005). The effect of antioxidant combinations on color and lipid oxidation in n-3 oil fortified ground beef patties. *Meat Sci.* 70, 683–389.
- Loetscher Y., Kreuzer M., Messikommer R. E. (2013). Oxidative stability of the meat of broilers supplemented with rosemary leaves, rosehip fruits, chokeberry pomace, and entire nettle, and effects on performance and meat quality. *Poultry Science*, 92, 2938–2948
- Michalczyk M., Banaś J. (2014). Wpływ olejków eterycznych z wybranych roślin przyprawowych na stabilność oksydacyjną przechowywanego smalcu wieprzowego. *Żywność Nauka Technologia Jakość* 21(2), 110-122
- Nieto G., Huvaere K., Skibsted L. H. (2011) Antioxidant activity of rosemary and thyme by-products and synergism with added antioxidant in a liposome system. *European Food Research and Technology* 233, 11–18
- Sahin K., Akdemir F., Orhan C., Tuzcu M., Hayirli A., Sahin N. (2010) Effects of dietary resveratrol supplementation on egg production and antioxidant status. *Poult Sci.* 89 (6), 1190-1198.
- Schwarz K., Ternes W. (1992). Antioxidative constituents of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis*. I. Determination of phenolic diterpenes with antioxidative activity amongst tocopherols using HPLC. *Z Lebensm Unters Forsch* 195(2), 95-8
- Shahidi F., Zhong Y. (2005). Antioxidants: Regulatory Status. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Part 1. Edible Oil & Fat Products: Chemistry, Properties, and Health Effects.*
- Shavandi A., Bekhit A. E. A., Saeedi P., Izadifar Z., Bekhit A. A., Khademhosseini A (2018). Polyphenol uses in Biomaterials Engineering. *Biomaterials* 167, 91-106.
- Srinivasan J. R. (2016). Rosemary extract. 82nd JECFA - Chemical and Technical Assessment (CTA), © FAO.
- Vercellotti J. R., Angelo A. J., Spanier A. M. (1992). Lipid Oxidation in Foods An Overview. Symposium on lipid oxidation in foods-an overview. *ACS Symposium Series* 500 (1), 1–11.

- Wroniak M., Łubian M. (2008). Ocena stabilności oksydacyjnej olejów rzepakowego i słonecznikowego tłoczonych na zimno z dodatkiem ekstraktu z oregano w teście Rancimat i termostatowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 4 (59), 80-89.
- Zhang Y., Smuts J. P., Dodbiba E., Rangarajan R., Lang J. C., Armstrong D. W. (2012). Degradation study of carnosic acid, carnosol, rosmarinic acid, and rosemary extract (*Rosmarinus officinalis* L.) assessed using HPLC. *J Agric Food Chem*, 60(36), 9305-9314.
- Zhao D. Q., Han C. X., Ge J. T., Tao J. (2012). Isolation of a UDP-glucose: Flavonoid 5-O-glucosyltransferase gene and expression analysis of anthocyanin biosynthetic genes in herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall.) *Electronic Journal of Biotechnology*, (15)6.

Livestock's products as a potential source of n-3 fatty acids: the benefits and risks related to an enrichment of animal diet in polyunsaturated fatty acids and antioxidants

Kamil Sierzant

Department of Animal Nutrition and Feed Science, Wrocław University of Environmental and Life Sciences

Sierzant K: kamil.sierzant@upwr.edu.pl

Abstract

The manuscript presents selected nutritional strategies for an enrichment of animal products in polyunsaturated n-3 fatty acids and their impact on the shelf-life of animal food products. The use of antioxidants and plants polyphenols as a factor limiting oxidation of feed and animal food fats is also discussed.

Keywords: n-3 fatty acids, livestock products, peroxidation, antioxidants, polyphenols

Introduction

In the last decades there has been a significant development of food science and human nutrition contributing new research areas including nutraceuticals and "functional foods". A concept of foods having a physiological effect on the human organism was first defined and described in Japan within the program Foods for Specified Health Use (FOSHU) in the year 1991 [Shimizu, 2003]. This concept was intended to increase manufacturing of food products providing not only essential nutrients, but also affecting in an improvement state of public health. In 1998 The European Commission Concerted Action on Functional Food Science in Europe (FUFOSE) developed the formal definition of "functional foods", which assumes, that "A food can be regarded as a "functional" if it is satisfactorily demonstrated to affect beneficially one or more target functions in the body, beyond adequate nutritional effects, in a way that is relevant to either an improved state of health and well-being and/or reduction of risk of disease". Functional foods "must demonstrate

their effects in amounts that can normally be expected to be consumed in a diet", without supplementation of pills [FUFOSE, 1999].

The increased healthiness quality of "functional foods" is determined due to the presence of appropriate proportions of selected bioactive substances (for example n-3 fatty acids, vitamins, antioxidants, etc.), which stimulates the desired mileage of metabolic pathways. Therefore, classification of functional foods can be made in respect of the physiological effects in the organism, as foods decreasing the risk of cardiovascular, neoplastic and obesity diseases, or as foods improving selected functions: i.e.: intestinal physiology, behavioral and psychological functions or defense against for example reactive oxygen species [FUFOSE, 1999].

N-3 fatty acids: the functional food ingredient

Long chain n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA's) are the focus of many investigations since their increased consumption has been linked to prevention several chronic diseases, such cardiovascular disease (CVD) [Schmidt et al., 2011; Mozaffarian and Wu, 2011], diabetes [de Santa Olalla et al., 2009], rheumatoid arthritis [Fortin et al., 1995] and cancer [Williams et al., 2011; Leitzmann et al., 2004; Sawada et al., 2012; Algamas-Dimantov et al., 2014]. The particular interest has been taken on the physiologically active (i.e. functional) alpha-linolenic (ALA), eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) acids, because they promote physiological mechanisms that improve endothelial and arterial integrity [WHO, 2003]. Recently dietary recommendations of World Health Organization [WHO, 2003] assume an optimal balance of intake n-6 FA and n-3 FA from 4/1 to 5/1 with 5-8% and 1-2% of daily energy intake, respectively. It was stated, that a property combination of both n-6 and n-3 FA in a diet is associated with the lowest level of inflammation processes and an inverse relation between intake of EPA + DHA and levels of inflammatory cytokines (sTNF-R1, sTNF-R2, CRP), a novel risk factor for CVD [Pischon et al., 2003]. The main cardio-protective effect of n-3 FA appears to be due to a reduction the proinflammatory properties of n-6 FA dependent on the balance of prostaglandins [FUFOSE, 1999]. Moreover, n-3 PUFAs stimulates suppression of certain genes crucial for proinflammatory processes and increases expression of genes involved in lipid homeostasis [Deckelbaum et al., 2006].

Eaton et al. [1998] has estimated the value of n-6/n-3 ratio of the Paleolithic human diet on 1/0.79. However, with the development of civilization, a human diet has been changed diametrically, and only in the last 100 year an intake of fats containing n-3 essential FA decreased by approximately 80% [Simopoulos, 2006]. Currently, the ratio of n-6/n 3 ranges from 4/1 in Japan [Sugano and Hirahara, 2000], where consumption of fish, seafood and vegetable oils is relatively high, by the 15-16/1-2 in United Kingdom and Northern Europe [Sanders, 2000] and up to 10.6-16.7/1 in the United States [Kris-Etherton et al., 2000; Eaton et al., 1998] where fast food is particularly popular. The reduced intake of essential PUFAs as well as oversupply of n-6 FA are the important factors in promoting the pathogenesis of civilization diseases, including CVD, cancer and autoimmune diseases [Simopoulos, 2004].

Methods to increase of acid n-3 content in livestock products

The main dietary sources of n-3 FA are fish and other seafood, plant oils (i.e. linseed and rapeseed oils) and commercially available fish oil capsules [Zhou et al., 2014]. However, the consumption of fish in Central Europe is relatively low and traditional unhealthy nutritional habits are difficult to change within a population [Wojtasik et al., 2012]. A further problem may be connected with the decline in the world fish supply and heavy metal pollution in seas and oceans. All these factors will systematically limit seafood as the sources of n-3 PUFA's, along with a further increase in human population in a long term [Naylor et al., 2000].

For these reasons, numerous strategies (Tab. 1) have been pursued to increase the level of these biologically functional fatty acids in animal products. For instance, an enrichment of semi-skimmed milk with n-3 PUFA's allowed to increase DHA and EPA from nondetectable levels to 0.13 and 0.2 g in 500 mL, respectively [Kitessa et al., 2004]. A similar improving of the DHA and EPA with a health beneficial n-6/n-3 balance in a level of 2.31 was achieved after supplementation of dairy cows with rumen-protected tuna oil. The atherosclerotic index of this kind of milk was reduced by about 17% and this was possible without an adverse effect on milk yield, milk composition or sensory characteristics [Carrero et al., 2004].

Eggs from laying hens can be another potential source of n-3 PUSAs in the human diet, and the modification of yolk fatty acids profile through feeding hens with different

fats has been reported previously. Ceylan et al. [2011] obtained the n-3 enriched eggs by inclusion the 1.5 and 3% fish (FO), linseed (LO) and rapeseed (RO) oils instead of the sunflower oil (SO). The authors noted a significant improvement in n-6/n-3 ratio, from 8.51 in SO diet, up to 4.12, 3.32 and 6.01 in FO, LO and RO diet, respectively.

In pork meat, which is typically low in n-3 PUFA's, the dietary manipulation with oils composition provides to obtain the meat characterized by a lower amount of saturated fats and with the balance of n-6/n-3 FA on the level 3.51–2.57 [Wojtasik et al., 2012; Jaturashita et al., 2002]. Other strategies involves generation of cloned transgenic pigs with *Caenorhabditis elegans* (fat-1) or *Caenorhabditis briggsae* (cbr-fat-1) n-3 desaturase, that are able to produce n-3 fatty acids in pig tissues from their n-6 analogs.

The meat of transgenic pigs can be up to 6-fold higher on the n-3 FA than the wild-type individuals fed the same diet (the n-6/n3 proportion about 1.12–1.69), with a 23-fold increase of EPA, 11-fold increase of DHA and 43% reduction of the total n-6 FA [Lai et al., 2006; Zhou et al., 2014].

Poultry meat also provides a considerable amount of PUFA's (in comparison with other types/sources of meat), and is relatively low in saturated fats [Rule et al., 2002; de Almeida et al., 2006]. Likewise, the ability to manipulate of FA composition in broiler carcasses is relatively easy to achieve, and a replacement of sunflower or soybean oils in the feed mixture with rapeseed, linseed and fish oils can improve the n-6/n-3 FA proportion in the pectoral and thigh muscles from approximately 10 [Kralik et al., 2012, de Almeida, 2006] up to 2–3.3 [Cerina and Vitina, 2011; Haug et al., 2011; Kralik et al., 2012].

Table 1. Differences in n-6/n-3 FA ratio of some livestock products depending on the modifying factor

Treatment (modifying factor)	Average control n-6/n-3 ratio	Average modified n-6/n-3 ratio	References
Milk			
Rumen protected tuna oil	3.31	2.31	Kitessa et al., 2004
Eggs			
4% linseed oil enriched diet	U.D.	1.78	Cortinas et al., 2003
4% fish oil enriched diet	U.D.	1.86	
1.5% and 3% fish oil enriched diet, 1.5% and 3% linseed oil enriched diet, 1.5% and 3% rapeseed oil enriched diet,	8.17 / 8.85 (1.5% / 3% sunflower oil diet)	4.70 and 3.53 4.19 and 2.45 7.40 and 4.63	Ceylan et al., 2011
3% fish oil (50 : 50 blend of fish- and linseed oil / sunflower oil)	1.51 / 24.6	1.16	King et al., 2012
Pork meat			
crb-fat-1 transgenic pigs	11.78	1.12	Zhou et al., 2014
h-fat-1 transgenic pigs	8.52	1.69	Lai et al., 2006
1% tuna oil	6.57 (0% oil in the diet)	3.25	Jaturasitha et al. 2002
2% tuna oil		2.98	
3% tuna oil		2.57	
1% rapeseed + 2% fish oil + 0.5 lard	U.D.	4.45 MLD and 9.00 ST	Wojtasik et al., 2012
2.5% rapeseed + 1% linseed diet	U.D.	3.81 MLD and 6.18 ST	
2.5 linseed + 1.5% fish diet	U.D.	3.51 MLD and 3.99 ST	
Poultry meat			
2% soybean + 1% + rapeseed + 1% linseed oil (4.0% soybean oil diet)	4.3	3.3 DM	Cerina and Vitina, 2011
4% rapeseed + 1% linseed oil	U.D.	2.0	Haug et al., 2011
2.75% sunflower + 2% linseed + 0.25% PBE1 oil	10.85 WM; 12.14 DM (5% sunflower oil diet)	2.86 WM and 3.29 DM	Kralik et al., 2012
2.75% sunflower + 2% linseed + 0.25% PBE2 oil		3.05 WM and 3.50 DM	
2.5% sunflower + 2% linseed + 0.5% PBE1 oil		2.99 WM and 3.33 DM	
2.5% sunflower + 2% linseed + 0.5% PBE2 oil		2.67 WM and 3.27 DM	
3% linseed oil		4.89 WM and 5.10 DM	
2.9% linseed + 0.1% PBE1 oil	6.28 WM; 7.38 DM (3% soybean oil diet)	4.66 WM and 4.76 DM	
2.9% linseed + 0.1% PBE2 oil		4.48 WM and 4.57 DM	

U.D. – unavailable data: the same oils rich in n-3 PUFAs were used within all groups; MDL – *Musculus longissimus dorsi*; ST – subcutaneous fat, DM – dark chicken meat, WM – white chicken meat, PBE1 – oils enriched with EPA, PBE2 – oils enriched with DHA.

Peroxidation as the crucial impediment in enhancing of livestock's products on PUFA's

Although the ability to manipulation of FA composition of livestock products allows to obtain food providing increased amounts of n-3 PUFA's, this enhanced with n-3 FA nutritional products may be more susceptible to lipid autooxidation process. Peroxidation is a free radical process oxidation of PUFA's, leading to formation of a wide range of secondary products, like aldehydes, alcohols, ketones, peroxides or hydrocarbons. In the case of food and feed, the secondary products of autolipoperoxidation drastically reduce their sensory (i.e. warmed-over flavor) characteristics and safety. Products of fats oxidation can also change the native structure of digestive enzymes (pepsin, trypsin), leading to decrease of their activity [Hęś and Korczak, 2007]. Some of these compounds are also toxic for animals and humans, and can demonstrate cancerogenic (malonic dialdehyde) and atherogenic (oxysterols) properties [Staprans et. al., 1998; Zhang et al., 2002].

Malonic dialdehyde (MDA) is the main and the most studied the end product of peroxidation, frequently used as an indicator substance of FA oxidation associated with an increased generation of reactive oxygen species, both in biological systems as well as in foods or feed. For example, the determination of MDA concentration in meat products may allow to evaluate the following sequence of sensitivity different types of meats in the order related to the results obtained by Tichivangana and Morissey [1985], i.e.: fish > poultry (turkeys) > poultry (broiler) > pork > beef > mutton. This susceptibility is closely related to a number of unsaturated bonds of FA in the individual meat fat, which increases in a geometric progression with an increase in a number of unsaturated bonds in FA [Cichosz and Czczot, 2011].

Also, MDA levels in eggs obtained from hens receiving fish oil increases about 1.7 – 2.0 times in relation to eggs from hens fed diets containing oils from sunflower or tallow [King et al., 2012]. The enhanced susceptibility to oxidation resulting in developing a spontaneous oxidized flavor (SOF) was observed also in the PUFA's enriched milk [Timmons et al., 2011].

Although an increase of n-3 PUFA's content in livestock products can affects their oxidative stability and shelf-life negatively, the significant problem with n-3 supplementation of animal diet beginning at the stage of feed production and their storage. Previous investigation performed in a controlled reactive ascorbic acid : Fe TBARS

system showed, that oxidative stability of feed mixtures for broiler chickens containing linseed oil are up to 5.7-timer more sensitive to oxidation process, than the same mixtures containing identical concentration of rapeseed oil, and above 23-fold in relation to addition of coconut oil [Sierzant et al., 2018]. The storage temperature also has the significant impact on the feed mixtures lipid susceptibility to peroxidation. The formation of MDA in the feed samples supplemented with unprotected rapeseed oil and stored for 7 days at about 20°C and 30°C was increased about 36% and 70%, relative to the samples stored at chilling conditions (3-7°C) [Sierzant et al., 2017].

Another problem with the susceptibility of feed lipids to oxidation processes is related with freshness of the lipids themselves and the components used for feedingstuffs formulation. The determination of lower MDA levels in feed samples after about 6-8-week of storage indicated a progressive depletion of stock resources of PUFA's undergoing peroxidation process, and/or suggested a possible occurrence of further reactions of the MDA formed during the storage with other feed components or/and a termination the autoxidation (Fig. 1 and Fig. 2a-b). Because the similar behavior in samples was observed in the previous experiment, the lower levels of MDA obtained during the long term storage of feeds rich in PUFA's using the TBARS-assay should be considered as a "false negative", which limits or even excludes the use of the TBARS method in a specific long term scenarios. This fact should be taken into account, because animal diet containing incorrectly stored components (oxidized fats) can be also an important stress factor [Eraslan et al., 2005], resulting for example in an increase of TBARS values in muscles of broiler chickens or higher mortality in comparison to animals fed with feed containing a fresh oil [Anjum et al., 2004]. In pigs fed with diet containing thermally oxidized lipids [Liu et al., 2014] or rancid rice bran [Chae and Lee, 2002], the affected performance indices and/or higher TBARS and peroxide values (POV) in the meat were noted. The reduced performance during supplementation of oxidized oil was also observed in laying hens [Yue et al., 2011, Saki et al., 2016].

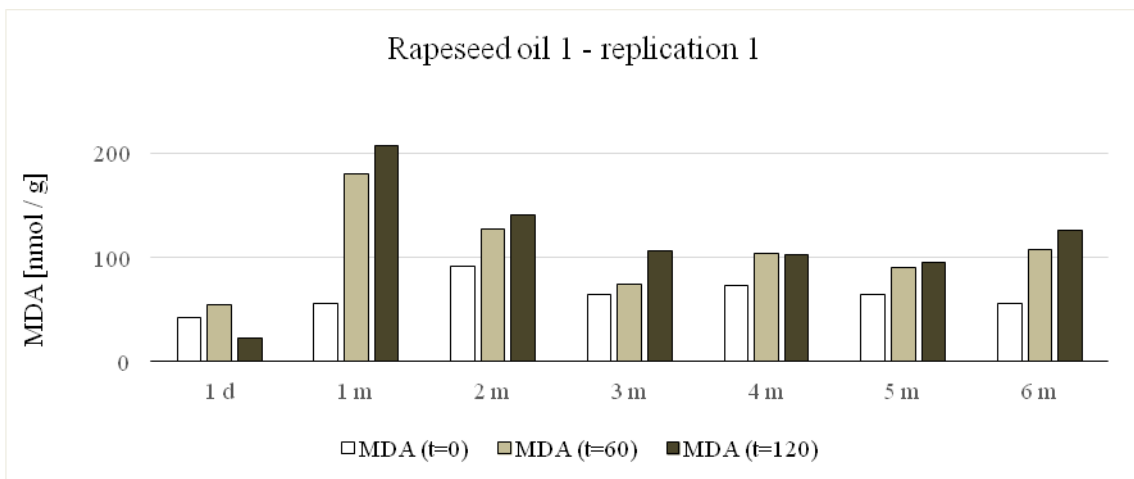


Figure 1. Concentrations of MDA in feed samples contained 5.8% of rapeseed oil 1 during long term storage at room temperature (20-25°C).

Explanations: the time t=0, t=60 or t=120 (min) means an incubation time in the ascorbic acid: iron oxidation system. The time of the storage is gives in days ("d") or in months ("m").

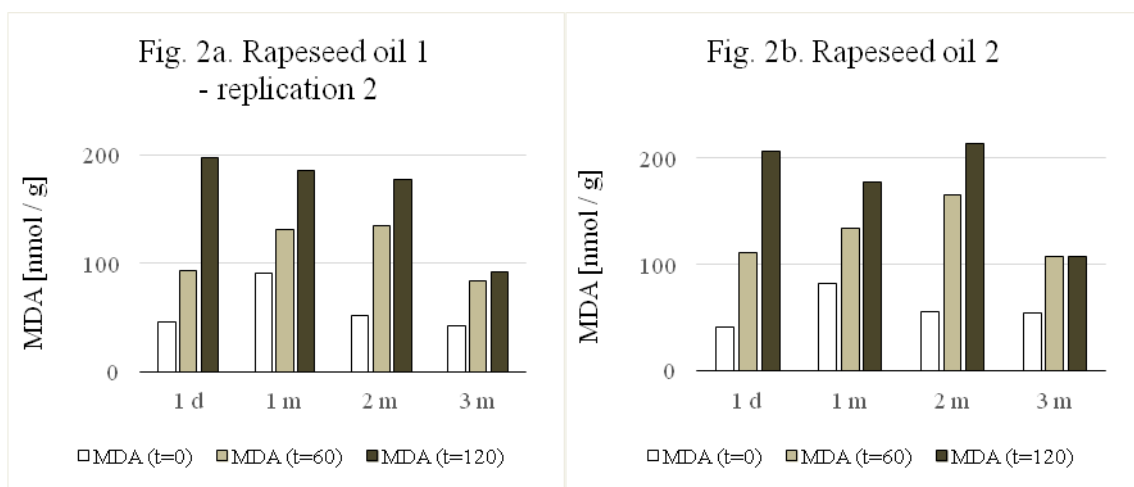


Figure 2a-b. Concentrations of MDA in feed samples contained 5.8% of rapeseed oil 1 and rapeseed oil 2 during long term storage at room temperature (20-25°C).

Explanations: the time t=0, t=60 or t=120 (min) means an incubation time in the ascorbic acid: iron oxidation system. The time of the storage is gives in days ("d") or in months ("m").

Antioxidant substances as a factor limiting peroxidation process of PUFA's

Despite some indications that even 25% fresh oil could be replaced by oxidized oil without any adverse effect on a performance of laying hens [Saki et al., 2016], the use of

antioxidants as food and feed preservatives is the most common and efficient practice allowing for extension their shelf-life and safety. Antioxidants are a group of chemical compounds that present in low concentrations compared to the oxidized substance, inhibit or delay their oxidation. The effectiveness of compounds with antioxidant activity is conditioned from many mechanisms. However, the inhibition of peroxidation process by antioxidant results primarily from their ability to neutralize of free radicals (the so called. "scavenging") or a reaction with their secondary products, which consequently stops, breaks or delay the oxidation process or its initiation stage.

In general, many substances can be distinguished as the antioxidant agents, including the natural (tocopherols, carotenoids, ascorbic acid, polyphenolic compounds, etc.), or in many cases more effective (especially at higher temperatures), but synthetic substances. However, even the fact, that an application of small amounts of synthetic antioxidants (like commonly used butylated hydroxytoluene – BHT, butylated hydroxyanisole – BHA or etoksyquin – EQ) is still one of the most effective ways to protect food and feed products against the rancidity, the utilization of these substances in animal feeding and especially directed for a food production is controversial, because to their potential carcinogenic properties [Chen et al., 1992; Lanigan and Yamarik, 2002]. Other strategies include the use of natural antioxidant vitamins or its derivatives, and it has been demonstrated that supplementation of vitamin E directly to animal feed has been showed to reduce the susceptibility to oxidative changes in beef [Mitsumoto et al., 1993], sheep [Rivas-Cañedo et al., 2013], pork [Phillips et al., 2001] and in poultry meat [Guo et al., 2001; Cortinas et al., 2005; Zouari et al., 2010].

In turn, the valuable sources of natural antioxidants having a potential applicability in animal nutrition are plant polyphenols, and also their extracts (plant extracts rich in polyphenols - PERP) derived from leaves, roots, fruits and barks. Because these compounds have an ideal chemical structure to "scavenge" free radicals, they can demonstrate in many cases higher antioxidant capacity (e.g. cyanidin, malvidin) than vitamins C and E [Rice-Evans et al., 1996]. Moreover, the antioxidant properties or plant polyphenols can be enhanced by their participation in the reaction as a chelating agent for transition metal ions (i.e. Fe^{2+} , Cu), by reductions the ROS by delivery of an electron or a hydrogen atom or interaction, or by interacting with the lipids of biological membranes [Sierżant et al., 2012]. This additional mechanisms can prevent both against an initiation of Fenton's reaction

(which generates a highly reactive hydroxyl radical), a reduction of reactive oxygen species (ROS) formed *in statu nascendi*, or by blocking the free radicals attack on the surface of lipid membrane.

Polyphenols in animal feed: an ideal remedy for lipid peroxidation?

The high efficiency of inhibition the lipoperoxidation of fats and relatively simplicity of application of PERP to the livestock diet (added directly to feed oils or drinking water), resulted in an growing interest regarding the practical use this kind of antioxidant sources in a livestock nutrition over the last decades. Numerous authors demonstrated the high usability of phytogetic additives containing polyphenols obtained from grape pomace concentrate [Brenes et al. 2008], herb mixtures (white mulberry – *Morus alba* L., honeysuckle – *Lonicera flos*, Chinese goldthreath – *Coptis chinensis*) [Jang et al., 2008], tea catechins [Tang et al., 2001] or extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) [Šperňáková et al., 2007], as a factor limiting the rancidity of poultry meat lipids. Similar inhibitory effect of the extracts of rosemary, grape seed, *Cistus ladanifer* or essential oil of oregano (*Origanum vulgare*) on muscle lipid oxidation of lamb meat was reported by Jerónimo et al. [2012] and Simitzis et al. [2008]. The own results has also confirmed the valence of rosemary (RO) and black currant extracts (BC) as dietary additives which may increase the oxidative stability of dark frozen (*biceps femoris*) chicken meat [Sierżant, 2013]. The application of RO to broiler diet containing rapeseed oil significantly decreased the MDA concentrations in *biceps femoris* muscles after 90 days of freezing, while BC showed the protective action against muscle lipids oxidation of both in frozen (-18°C, 90 days) and in the samples stored in chilling (3-4°C, 5 days) conditions. In contrast, the analyzes performed in *biceps femoris* muscles (after one day of chilling) obtained from birds receiving the BC extract additive for two last weeks of rearing uncovered increased MDA values with a tendency (P = 0.051) to enhanced visibility of this effect only when the higher concertation of BC was used. Although this controversial result is difficult to explain, it may be in a some extent a reflection of a "dual nature" properties of selected antioxidant compounds, which in some specific conditions may act as prooxidant agents.

The phenomenon of prooxidative action is well documented for numerous natural antioxidants, including ascorbic acid [Casalino et al, 1996], β -carotene [Palozza et al., 2003], whether α -tocopherol [Chapman et al., 2009] or also some flavonoids. The prooxidant

properties have been also observed for some blackcurrant polyphenols, such as cyanidin, delphinidin, malvidin, pelargonidin or peonidin, and also their glucosides [Fukumoto and Mazza, 2000]. A suggestion that polyphenols (and possible other kind of antioxidants) used in animal nutrition may promote the process of meat lipid oxidation was discussed by Du et al. [2002], whose noted a significant ($P < 0.05$) increase of TBARS values (thiobarbituric acid reactive substances) in thigh muscles of broilers fed diet supplemented with sorghum tannins. The authors have suggested that polyphenols deposited in muscle tissue of chickens may maintain the non heme iron in a reduced form, which could lead to the initiation of the Fenton's reaction increasing the intensity of muscle lipids peroxidation. Other possible explanation the "prooxidant paradox" caused by dietary polyphenols was given by Liu et al. [2009]. The research team reported a significant increase of MDA content in muscles of rabbits fed diet enriched with 1% of a tannin rich chestnut extract. According to this paper the muscles of rabbits treated with 1% chestnut extract had higher iron content in comparison to control. This could cause (according to the authors) a stronger interaction between the non heme iron ions (due to their chelating properties) and chestnut tannins, deposited in the meat. The effect of such interactions could be a depletion of available amount of phenolic compounds (or other antioxidants) in muscles and paradoxically contributed to the significant increase of lipid oxidation compared to muscles of rabbits fed with a lower dose of the extract in feed – 0.5%.

Another example of potential prooxidant action of polyphenolic additives was observed in feed samples containing commercial extracts from green tea (GT) and grape seed (GS), stored at different thermal conditions. Although, the protective effect of the GT and GS extracts against lipid autooxidation of feed fats (5.8% of rapeseed oil) was reported after 7 d of storage the samples [Sierżant et al, 2017], the extension of this time to 30 d revealed a visible, but statistically still not significant higher levels of a TBARS indicator in relation to the control feed, prepared without an addition of the tested phytogetic additives (Fig. 3a-b).

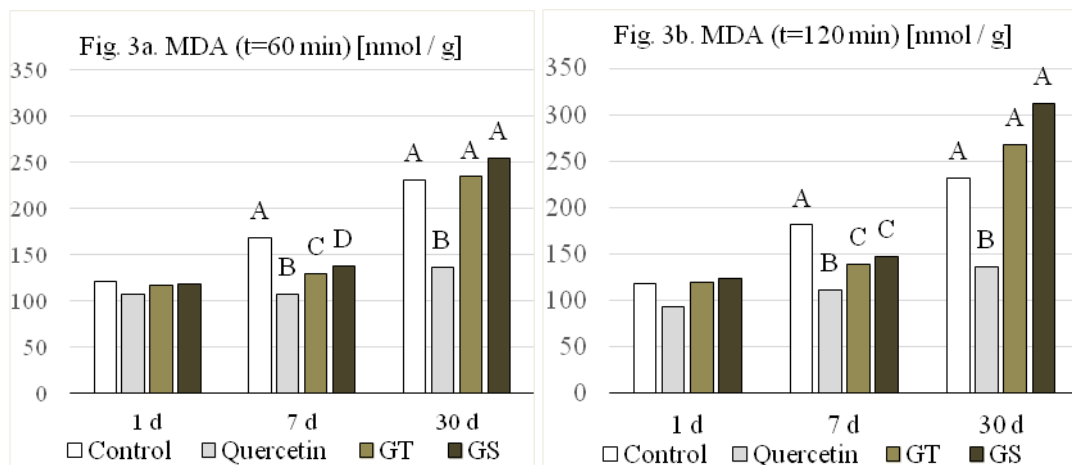


Figure 3a-b. Concentrations of MDA in feed samples contained 5.8% of rapeseed oil and contained various sources of polyphenolic antioxidants.

Explanations: the time $t=60$ min or $t=120$ min means an incubation time in the ascorbic acid: iron oxidation system; A, B – for P values < 0.01 . The time of the storage is gives in days (“d”).

The similar effect was, however, not observed when the pure polyphenol quercetin (Q) was used as an antioxidant. Furthermore, this flavonol was able to maintain TBARS values of the stored samples at elevated temperature (about 30°C) below the control feed samples ($P < 0.05$) stored at chilling conditions ($3\text{-}5^{\circ}\text{C}$) (Fig. 4a-b) and despite the use the 1.15 – 1.76 fold lower concentration of this compound, compared to GT and GS extracts. The observed coincident in the obtained antioxidant efficiency of different polyphenols sources could be conditioned both from a specific chemical structure determining disproportionately higher efficiency of quercetin at in some selected scenarios [Sierżant et al., 2012], as well as the uneven composition of plant extracts themselves. Plant extracts, as products with a different degree of purification, can be also sources of other compounds like crude protein, crude fat or crude ash (Tab. 2). Especially, the mineral part of the extracts could contain some trace amounts of transition metals, which are responsible for initiating the mechanisms allowing to stimulate of peroxidation. In comparison with standard used model methods based on the determination of antiradical activity only, it can be concluded, that these procedures do not always reflect the real antioxidant capacity and the real potential of certain phytogetic additives.

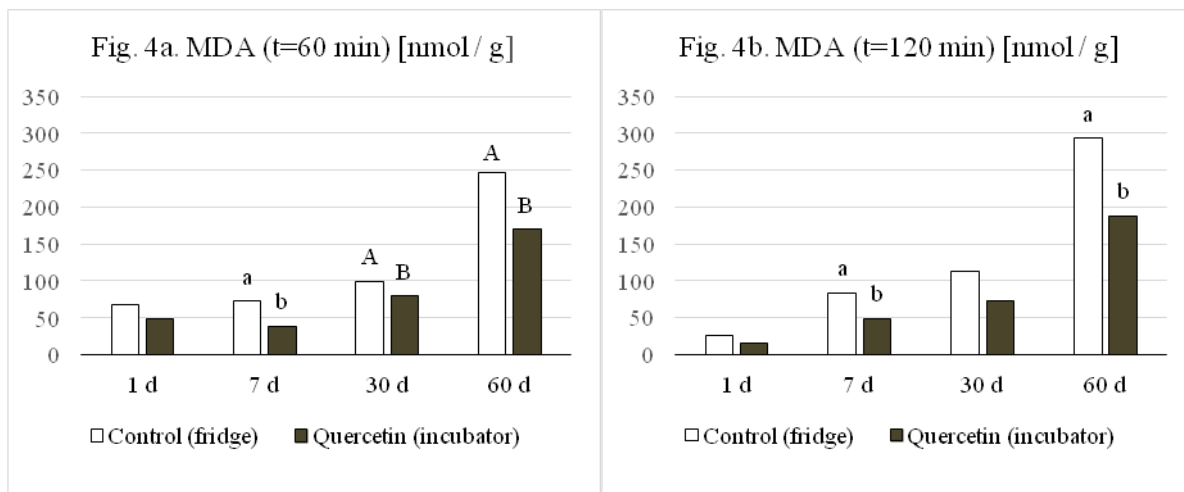


Figure 4a-b. Antioxidant properties of quercetin used as the antioxidant in the tested feed mixtures.

Explanations: the time t=60 min or t=120 min means an incubation time in the ascorbic acid: iron oxidation system. A, B – for P values < 0.01; a, b – for P values < 0.05. The time of the storage is given in days (“d”).

Table 2. Basic chemical compositions of tested GT and GS plant extracts rich in polyphenols.

Extract	Dry matter [%]	Crude ash [%]	Crude protein [%]	Crude fiber [%]	Crude fat (ether extract) [%]
Green tea (GT)	88.99	0.13	1.41	1.04	0.25
Grape seed (GS)	95.77	0.10	4.54	0.64	0.17

This can mean, in turn, that the use of selected polyphenols sources as feed additives requires a considerable caution and other ways for optimization their concentration. The development of a calibration path for the optimal use of natural sources of antioxidants in animal diet containing fats rich in n-3 FA (and PUFA’s in general) is, however, an important part of research works realized in the Department of Animal Nutrition and Feed Science of Wrocław University of Environmental and Life Sciences (the first usable and modular version of “the patch” was completed in the 2017).

Summary

In summary it should be emphasized, that an enrichment of livestock’s diet in essential n-3 fatty acids is an important and efficient nutritional strategy in order to provide high quality food of animal origin, allowing to an alignment of biologically active

ingredients deficiencies in the diet of Western societies. Despite the side effect of the changing PUFA's profile on the shelf-life of feed and food products, the use of effective antioxidants ingredients may allow to limit some deterioration processes related to enhanced lipid oxidation susceptibility of n-3 PUFA's. However, an application of natural sources of antioxidants, especially containing plant polyphenols requires special attention and verification of their potential prooxidant properties, possible to reveal at certain conditions.

References

- Algamas-Dimantov A., Yehuda-Shnaidman E., Hertz R., Peri I., Bar-Tana J., Schwartz B. (2014). Prevention of diabetes-promoted colorectal cancer by (n-3) polyunsaturated fatty acids and (n-3) PUFA mimetic. *Oncotarget* 5, 9851-9863.
- Anjum MI., Mirza IH., Khan AG., Azim A. (2004). Effect of fresh versus oxidized soybean oil on growth performance, organs weights and meat quality of broiler chicks. *Pakistan Veterinary Journal* 24, 174-178.
- Brenes A., Viveros A., Goñi I., Crenteno C., Sáyago-Averdy SG., Arija I., Saura-Calixto F. (2008). Effect of grape pomace concentrate and vitamin E on digestibility of polyphenols and antioxidant activity in chickens. *Poultry Science* 87, 307-316.
- Carrero JJ., Baro L., Fonolla J., González-Santiago M., Martínez-Férez A., Castillo R., Jiménez J., Boza JJ., López-Huertas E. (2004). Cardiovascular effects of milk enriched with omega-3 polyunsaturated fatty acids, oleic acid, folic acid, and vitamins E and B6 in volunteers with mild hyperlipidemia. *Nutrition* 20, 521-527.
- Casalino E., Sblano C., Landriscina C. (1996). A possible mechanism for initiation of lipid peroxidation by ascorbate in rat liver microsomes. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 28, 137-149.
- Cerina S., Krastina V., Vitina I. (2011). Production and expenses of enriched composition broiler chicken meat in Latvia. *Agronomy Research* 9, 383-388.
- Ceylan N., Ciftçi I., Mızrak C., Kahraman Z., Efil H. (2011). Influence of different dietary oil sources on performance and fatty acid profile of egg yolk in laying hens. *Journal of Animal and Feed Sciences* 20, 71-83.
- Chae BJ., Lee SK. (2002). Rancid rice bran affects growth performance and pork quality in finishing pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 15, 94-101.

- Chapman TM., Kim HJ., Min DB. (2009). Prooxidant activity of oxidized α -tocopherol in vegetable oils. *Journal of Food Science* 74, 536-542.
- Chen Ch., Pearson AM., Gray JI. (1992). Effects of synthetic antioxidants (BHA, BHT and PG) on the mutagenicity of IQ-like compounds. *Food Chemistry* 43, 177-183.
- Cichosz G., Czczot H. (2011). Stabilność oksydacyjna tłuszczów jadalnych – konsekwencje zdrowotne. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 44, 50-60.
- Cortinas L., Barroeta A., Villaverde C., Galobart J., Guardiola F., Baucells MD. (2005). Influence of the dietary polyunsaturated level on chicken meat quality: lipid oxidation. *Poultry Science* 84, 48-55.
- Cortinas L., Galobart J., Barroeta A.C., Baucells MD., Grashorn M. (2003). Change in α -tocopherol contents, lipid oxidation and fatty acid profile in eggs enriched with linolenic acid or very long-chain ω 3 polyunsaturated fatty acids after different processing methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83, 820-829.
- De Almeida JC., Perassolo MS., Camargo JL., Bragagnolo N., Gross JL. (2006). Fatty acid composition and cholesterol content of beef and chicken meat in Southern Brazil. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 42, 109-117.
- De Santa Olalla LM., Sánchez-Muniz FJ., Vaquero MP. (2009). N-3 fatty acids in glucose metabolism and insulin sensitivity, *Nutricion Hospitalaria* 24, 113-127.
- Deckelbaum RJ., Worgall TS., Seo T. (2006). N-3 Fatty acids and gene expression. *The American Journal of Clinical Nutrition* 83(suppl), 1520-1525.
- Eaton SB., Eaton SB., Sinclair AJ., Cordain L., Mann NJ. (1998). Dietary intake of long-chain polyunsaturated fatty acids during the paleolithic. The return of n-3 fatty acids into the food supply. I. land-based animal food products and their health effects. *World Review of Nutrition and Dietetics* 83, 12-23.
- Eraslan G., Akdoğan M., Yarsan E., Şahındokuyucu F., Eşsiz D., Altıntaş L. (2005). The effects of aflatoxins on oxidative stress in broiler chickens. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 29, 701-707.
- Fortin PR., Lew RA., Liang MH., Wright EA., Beckett LA., Chalmers TTC., Sperlin RI. (1995). Validation of a meta-analysis: the effects of fish oil in rheumatoid arthritis. *Journal of Clinical Epidemiology* 48, 1379-1390.
- Fukumoto L., Mazza G. (2000). Assessing antioxidant and pro-oxidant activity of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 3597-3604.

- Guo Y., Tang Q., Jianmin Y., Zhirong J. (2001). Effects of supplementation with vitamin E on the performance and the tissue peroxidation of broiler chicks and the stability of thigh meat against oxidative deterioration. *Animal Feed Science and Technology* 89, 165-173.
- Haug A., Christophersen O.A., Sogn T. (2011). Chicken meat rich in selenium and omega-3 fatty acids. *The Open Agriculture Journal* 5, 30-36.
- Hęś M., Korczak J. (2007). Wpływ produktów utleniania lipidów na wartość odżywcza białka. *Nauka Przyroda Technologie* 1, 1-15.
- Jang A., Liu XD., Shin MH., Lee BD., Lee SK., Lee JH., Jo C. (2008). Antioxidative potential of raw breast meat from broiler chicks fed a dietary medicinal herb extract mix. *Poultry Science* 87, 2382-2389.
- Jaturasitha S., Wudthithumkanaporn Y., Rurksasen P., Kreuzer M. (2002). Enrichment of pork with omega-3 fatty acids by tuna oil supplements: effects on performance as well as sensory, nutritional and processing properties of pork. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 15, 1622-1633.
- Jerónimo E., Alfaia CM., Alves SP., Dentinho MT., Prates JA., Vasta V., Santos-Silva J., Bessa RJ. (2012). Effect of dietary grape seed extract and *Cistus ladanifer* L. in combination with vegetable oil supplementation on lamb meat quality. *Meat Science* 92, 841-847.
- King EJ., Hugo A., de Witt FH., van der Merwe HJ., Fair MD. (2012). Effect of dietary fat source on fatty acid profile and lipid oxidation of eggs. *South African Journal of Animal Science* 42, 503-506.
- Kitessa SM., Gulati SK., Simos GC., Ashes JR., Scott TW., Fleck E., Wynn PC. (2004). Supplementation of grazing dairy cows with rumen-protected tuna oil enriches milk fat with n-3 fatty acids without affecting milk production or sensory characteristics. *British Journal of Nutrition* 91, 271-277.
- Kralik G., Primorac L., Kralik Z., Hrehor B. (2012). Effect of dietary fat sources on the fatty acid composition and sensory characteristics of chicken meat. *Journal of Food Science and Engineering* 2, 667-673.
- Kris-Etherton PM., Taylor DS., Yu-Poth S., Huth P., Moriarty K., Fishell V., Hargrove RL, Zhao G., Etherton TD. (2000). Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71, 179-188.

- Lai L., Kang JX., Li R., Wang J., Witt WT., Yong HY., Hao Y., Wax DM., Murphy CN., Rieke A., Samuel M., Linville ML., Korte SW., Evans RW., Starzl TE., Prather RS, Da Y. (2006). Generation of cloned transgenic pigs rich in omega-3 fatty acids. *Nature Biotechnology* 24, 435-436.
- Lanigan RS., Yamarik TA. (2002). Final report on the safety assessment of BHT. *International Journal of Toxicology* 21, 19-94.
- Leitzmann MF., Stampfer MJ., Michaud DS., Augustsson K., Colditz GC., Willett WC., Giovannucci EL. (2004). Dietary intake of n-3 and n-6 fatty acids and the risk of prostate cancer. *The American Journal of Clinical Nutrition* 80, 204-216.
- Liu HW., Gai F., Gasco L., Brugiapaglia A., Lussiana C., Guo KJ., Tong JM., Zoccarato I. (2009). Effects of chestnut tannins on carcass characteristics, meat quality, lipid oxidation and fatty acid composition of rabbits. *Meat Science* 83, 678-683.
- Liu P., Chen C., Kerr BJ., Weber TE., Johnston LJ., Shurson GC. (2014). Influence of thermally oxidized vegetable oils and animal fats on growth performance, liver gene expression, and liver and serum cholesterol and triglycerides in young pigs. *Journal of Animal Science* 92, 2960-2970.
- Du M., Cherian G., Stitt PA., Ahn DU. (2002) Effect of dietary sorghum cultivars on the storage stability of broiler breast and thigh meat, *Poultry Science* 81, 1385-1391.
- Mitsumoto M., Arnold RN., Schaefer DM., Cassens RG. (1993). Dietary versus postmortem supplementation of vitamin E on pigment and lipid stability in ground beef. *Journal of Animal Science* 71, 1812-1816.
- Mozaffarian D., Wu JHY. (2011). Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease : effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. *Journal of the American College of Cardiology* 58, 2047-2067.
- Naylor RL., Goldberg RJ., Primavera JH., Kautsky N., Beveridge MCM., Clay J., Folke C., Lubchencol J., Mooney H., Troell M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* 405, 1017-1024.
- Palozza P., Serini S., Di Nicuolo F., Piccioni E., Calviello G. (2003). Prooxidant effects of β -carotene in cultured cells. *Molecular Aspects of Medicine* 24, 353-362.
- Phillips AL., Faustman C., Lynch MP., Govoni KE., Hoagland TA., Zinn SA. (2001). Effect of dietary α -tocopherol supplementation on color and lipid stability in pork. *Meat Science*, 58, 389-393.

- Pischon T., Hankinson SE., Hotamisligil GS., Rifai N., Willett WC., Rimm EB. (2003). Habitual dietary intake of n-3 and n-6 fatty acids in relation to inflammatory markers among us men and women. *Circulation*. 108, 155-160.
- Rice-Evans CA., Miller NJ., Paganga G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolics acids. *Free Radical Biology and Medicine* 20, 933-956.
- Rivas-Cañedo A., Apeleo E., Muiño I., Pérez C., Lauzurica S., Pérez-Santaescolástica C., Díaz MT., Cañeque V., de la Fuente J. (2013). Effect of dietary supplementation with either red wine extract or vitamin E on the volatile profile of lamb meat fed with omega-3 sources. *Meat Science* 93, 178-186.
- Rule DC., Broughton KS., Shellito SM., Maiorano G. (2002). Comparison of muscle fatty acid profiles and cholesterol concentrations of bison, beef cattle, elk, and chicken. *Journal of Animal Science* 80, 1202-1211.
- Saki AA., Aliarabi H., Cheraghi P., Mirzaie Goudarzi S., Ahmadi A. (2016). Effects of various levels of oxidized oil on performance, egg quality, and some blood metabolites in laying hens. *Poultry Science Journal* 4, 13-18.
- Sanders TAB. (2000). Polyunsaturated fatty acids in the food chain in Europe. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71, 176–178.
- Sawada N., Inoue M., Iwasaki M., Sasazuki S., Shimazu T., Yamaji T., Takachi R., Tanaka Y., Mizokami M., Tsugane S., The Japan Public Health Center–Based Prospective Study Group (2012). Consumption of n-3 fatty acids and fish reduces risk of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 142, 1468-1475.
- Schmidt, EB., Rasmussen LH., Rasmussen JG., Joensen AM., Madsen MB., Christensen JH. (2006). Fish, marine n-3 polyunsaturated fatty acids and coronary heart disease: A minireview with focus on clinical trial data. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 75, 191-195.
- Scientific Concepts of Functional Foods in Europe (1999). *British Journal of Nutrition* 81, 1-27.
- Shimizu T. (2003). Health claims on functional foods: the Japanese regulations and an international comparison. *Nutrition Research Reviews* 16, 241-252.
- Sierzant K. (2013). Additives of natural polyphenolic extracts to the broiler chickens diet and their effect on oxidative stability of meat and selected production parameters, PhD dissertation, 1-137.

- Sierzant K., Burek A., Pogoda-Sewerniak K., Chorążyczewska A., Słowińska A., Hikawczuk T., Szuba-Trznadel A., Orda J. (2017). Effect of addition of natural sources of antioxidants and different temperatures of storage on the oxidative stability of mixtures for broiler chickens. XLVI Scientific Session of Group of Animal Nutrition of The Committee on Animal Sciences and Aquaculture Polish Academy of Sciences. Lublin June 21-23.2017, 153-154.
- Sierzant K., Pyrkosz-Biardzka K., Gabrielska J. (2012). Właściwości przeciwutleniające naturalnych ekstraktów polifenolowych z wybranych roślin w układach modelowych. ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość, 85, 41-53.
- Sierzant K., Wiliczekiewicz A., Piksa E., Półbrat T., Hikawczuk T. (2018). The effect of application of different fat sources on the oxidative stability of feed mixtures for poultry during short term storage. XLVI Scientific Session of Group of Animal Nutrition KNZiA PAN Krakow, 27-29 June.2018.
- Simitzis PE., Deligeorgis SG., Bizelis JA., Dardamani A., Theodosiou I., Fegeros K. (2008). Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. Meat Science 79, 217-223.
- Simopoulos AP. (2004). Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio and chronic diseases. Food Reviews International 20, 77-90.
- Simopoulos AP. (2006). Evolutionary aspects of diet, the omega-6/omega-3 ratio and genetic variation: nutritional implications for chronic diseases. Biomedicine and Pharmacotherapy 60, 502-507.
- Šperňáková D., Máté D., Róžaňska H., Kováč G. (2007). Effects of dietary rosemary extract and α -tocopherol on the performance of chickens, meat quality, and lipid oxidation in meat stored under chilling conditions. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy 51, 585-589.
- Staprans I., Pan Xian-Mang, Rapp JH., Grunfeld C., Feingold KR. (1998). Oxidized cholesterol in the diet accelerates the development of atherosclerosis in LDL receptor - and apolipoprotein E-deficient Mice. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 20, 708-714.
- Sugano, M., Hirahara, F. (2000). Polyunsaturated fatty acids in the food chain in Japan. The American Journal of Clinical Nutrition 71, 189-196.

- Tang SZ., Kerry JP., Sheehan D., Buckley DJ., Morrissey PA. (2001). Antioxidative effect of dietary tea catechins on lipid oxidation of long-term frozen stored chicken meat. *Meat Science* 57, 331-336.
- Tichivangana JZ., Morrissey PA. (1985). Metmyoglobin and inorganic metals as pro-oxidants in raw and cooked muscle systems. *Meat Science* 15, 107-116.
- Timmons JS., Weiss WP., Palmquist DL., Harper WJ. (2011). Relationships among dietary roasted soybeans, milk components, and spontaneous oxidized flavor of milk. *Journal of Dairy Science* 84, 2440-2449.
- WHO Technical Report Series (2003). Diet, Nutrition And The Prevention Of Chronic Diseases.
- Williams CD., Whitley BM., Hoyo C., Grant DJ., Iraggi JD., Newman KA., Gerber L., Taylor LA., McKeever MG., Freedland SJ. (2011). A high ratio of dietary n-6/n-3 polyunsaturated fatty acids is associated with increased risk of prostate cancer. *Nutrition Research* 31, 1-8.
- Wojtasik M., Raj S., Skiba G., Weremko D., Czauderna M. (2012). The effects of diets enriched in omega-3 fatty acids on carcass characteristics and the fatty acid profile of intramuscular and subcutaneous fat in pigs. *Journal of Animal and Feed Sciences* 21, 635-647.
- Yue HY., Wang J., Qi XL., Ji F., Liu MF., Wu SG., Zhang HJ., Qi GH. (2011) Effects of dietary oxidized oil on laying performance, lipid metabolism, and apolipoprotein gene expression in laying hens. *Poultry Science* 90, 1728-1736.
- Zhang Y., Chen SY., Hsu T., Santella RM. (2002). Immunohistochemical detection of malonedialdehyde-DNA adducts in human oral mucosa cells. *Carcinogenesis* 23, 207-211.
- Zhou Y., Lin Y., Wu X., Feng C., Long C., Xiong F., Wang N., Pan D., Chen H. (2014). The high-level accumulation of n-3 polyunsaturated fatty acids in transgenic pigs harboring the n-3 fatty acid desaturase gene from *Caenorhabditis briggsae*. *Transgenic Research* 23, 89-97.
- Zouari N., Elgharbi F., Fakhfakh N., Bacha AB., Gargouri Y., Mielel N. (2010). Effect of dietary vitamin E supplementation on lipid and colour stability of chicken thigh meat. *African Journal of Biotechnology* 9, 2276-2283.

Zastosowanie wybranych kwasów tłuszczowych w żywieniu prosiąt i warchlaków

Anna Szuba-Trznadel, Tomasz Hikawczuk

*Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Żywienia
Zwierząt i Paszoznawstwa*

Szuba-Trznadel A.: anna.szuba-trznadel@upwr.edu.pl

Streszczenie

Przeprowadzono trzy doświadczenia z wykorzystaniem różnych kwasów tłuszczowych lub ich soli w celu ograniczenia negatywnego wpływu odłączenia prosiąt na funkcjonowanie ich układu pokarmowego. W doświadczeniu pierwszym stosowano dodatek krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (KKT), w drugim maślan sodu, w trzecim zaś średniołańcuchowe kwasy tłuszczowe (ŚKT) i porównywano je z grupą kontrolną odłączonych prosiąt. Poprawę wyników produkcyjnych zwierząt i zdrowotności w porównaniu z grupą kontrolną stwierdzono w przypadku zastosowania każdego z dodatków paszowych. Najlepsze rezultaty obserwowano po zastosowaniu ŚKT, najslabszy wpływ wykazywały natomiast KKT. Wyraźny efekt stosowanych dodatków stwierdzono w pierwszym okresie odchowu prosiąt.

Słowa kluczowe: krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, średniołańcuchowe kwasy tłuszczowe, maślan sodu, odsadzenie, wyniki produkcyjne

Wstęp

Prosięta w okresie okołoodsadzeniowym narażone są na zaburzenia czynnościowe układu pokarmowego, co objawiać się może częstszym występowaniem biegunek. Jednym ze sposobów ograniczenia tego negatywnego zjawiska jest podawanie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (KKT) lub średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych (ŚKT) w paszach.

W Polsce dużą popularność zdobyły różnego rodzaju zakwaszacze (obecnie szeroko stosowane w żywieniu świń). W praktycznym żywieniu podaje się szereg kwasów organicznych i ich soli oraz kwas fosforowy, które skutecznie poprawiają wyniki produkcyjne. Mechanizm działania zakwaszaczy wynika z niewystarczającej, szczególnie u młodych świń, sekrecji pepsyny trawiącej białko paszy. Następuje wówczas stabilizacja odczynu treści przewodu pokarmowego hamująca rozwój patogennej flory bakteryjnej.

Jak wskazują wyniki wielu przeprowadzonych badań do jednych z najbardziej skutecznych zakwaszaczy zaliczany jest kwas mrówkowy. Obawy w zastosowaniu tego dodatku istnieją ze względu na jego silne korozyjne właściwości. Z tego między innymi względu kwas mrówkowy jest stosowany w mieszaninie z innymi organicznymi kwasami wykazującymi mniejszą agresywność wobec metalowych urządzeń stanowiących wyposażenie chlewni. Warunki takie spełnia oceniany zakwaszacz, który jest mieszaniną kwasu mlekowego i mrówkowego zawieszoną na nośniku mineralnym. Wyniki wcześniejszych badań [Fuchs i Kotara, 2001] wskazywały na jego wysoką skuteczność w zakresie utrzymania dobrej zdrowotności i produktywności warchlaków na skutek zastosowania tego środka w ich odchowcie.

Ponadto, istotną funkcją KKT jest efekt odżywczy oraz regeneracyjny wywierany na nabłonek jelitowy. Korzystne działanie KKT zostało wielokrotnie potwierdzone w zapobieganiu i leczeniu stanów zapalnych występujących w obrębie przewodu pokarmowego [Lu i in., 2008; Le Gall i in., 2009; Kuczyńska i in., 2011]. KKT odgrywają niezwykle ważną rolę w regulacjach homeostazy energetycznej organizmu oraz w utrzymywaniu prawidłowej struktury, integralności i funkcji jelita grubego [Chapman i in. 1995, Castillo i in. 2006]. Poprzez stymulację wzrostu flory saprofitycznej kwasy te działają hamująco na rozwój bakterii patogennych (m.in. *E. coli* czy *Salmonella sp.*) konkurujących o miejsce kolonizacji na nabłonku jelit.

Spośród KKT bardzo silne i skuteczne działanie w tym zakresie wykazuje także kwas masłowy (określany jako maślan). Dla prawidłowego przebiegu procesów regeneracji i odnowy nabłonka błony śluzowej jelita najkorzystniejszą drogą dostarczenia kwasu masłowego jest dobrze zbilansowana dieta. Jednak czysty kwas masłowy jest szybko rozkładany w przewodzie pokarmowym, dlatego aby wykorzystać jego właściwości musi być transformowany do postaci soli (maślanu sodu lub wapnia) [Mallo i in., 2012].

Podawanie prosiętom maślanu sodu także wpływa na zwiększenie przyrostu masy ciała, zmniejszenie występowania owrzodzeń żołądka, zwiększenie liczby komórek wyścielających kosmki w jelicie krętym, wzrost wysokości kosmków, a także zwiększenie liczby komórek w kryptach oraz głębokości krypt w kątnicy [Kuczyńska i in., 2011].

Liczne badania pokazały, że ŚKT wykazywały najbardziej efektywne działanie w podnoszeniu zdrowotności przewodu pokarmowego u zwierząt. ŚKT zakwaszają treść przewodu pokarmowego, sprzyjając rozwojowi mikroflory symbiotycznej [Gedek i in., 1992; Partanen i Mroz, 1999]. Kwasy te absorbowane są bezpośrednio z jelita cienkiego do krwioobiegu, a następnie transportowane są do wątroby, gdzie podlegają β -oksydacji. W wyniku utleniania stanowią źródło energii, które jest szybko wykorzystywana przez młody organizm [Szewczyk i Hanczakowska, 2010]. Wykazują także silne działanie bakteriobójcze szczególnie wobec bakterii *E. coli* [Hejdysz i in., 2012; Skrivanowa i in., 2006; Bergsson i in., 2001]. Poprawiają ponadto konwersję paszy oraz wchłanianie składników pokarmowych w jelicie cienkim, zwiększając przy tym zdolność do regeneracji nabłonka jelita cienkiego [Różański i Drymel, 2009]. Dodatek ŚKT ogranicza redukcję długości kosmków, zwiększając wchłanianie składników pokarmowych, co przekłada się na poprawę wskaźników produkcyjnych [Marion i in., 2002]

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu zastosowania w mieszankach dodatków różnych preparatów zawierających odpowiednio KKT tj. mieszaninę kwasu mlekowego i mrówkowego (doświadczenie I) lub maślanu sodu (doświadczenie II) oraz ŚKT (doświadczenie III) na wyniki produkcyjne prosiąt i warchlaków.

Materiał i metody

Trzy niezależne doświadczenia przeprowadzono w wydzielonych pomieszczeniach na dwóch fermach trzody chlewnej, gdzie wpięto się w cykl produkcyjny ferm przy zastosowaniu wszelkich standardów zootechnicznych i weterynaryjnych stosowanych w danych obiektach. Doświadczenie I przeprowadzono w warunkach fermy wielkotowarowej zlokalizowanej w województwie opolskim, natomiast doświadczenia II i III – na fermie w województwie wielkopolskim, gdzie roczna produkcja tuczników kształtowała się na poziomie 20 000 tuczników.

W każdym badaniu materiał doświadczalny stanowiły prosięta rasy wbp x pbz. Spośród wszystkich prosiąt wydzielono grupy doświadczalne różniące się rodzajem podawanej paszy.

W przeprowadzonych doświadczeniach grupę I zawsze traktowano jako kontrolę negatywną, która nie otrzymywała w paszy żadnych dodatków. W pierwszym badaniu prosiętom z grupy II podano w mieszance 1,5% zakwaszacza (mieszaniny kwasu mlekowego i mrówkowego zawieszanej na nośniku mineralnym). W drugim eksperymencie grupa II otrzymywała w mieszankach maślan sodu (56% podwójnie buforowany na poziomie 2%). Natomiast w trzecim doświadczeniu - ŚKT (estry glicerolowe, estry średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych: C6-kaprynowy, C8-kaprylowy, C10-kaprynowy, C12-laurynowy, olejki eteryczne, saponiny) w ilości 1%.

Przy urodzeniu rejestrowano liczbę prosiąt żywo i martwo urodzonych. W drugim dniu życia określono masę ciała prosiąt i dokonano brakowania sztuk słabych oraz z wadami eliminującymi je z dalszego chowu. Takie postępowanie jest standardem stosowanym w tych fermach. Pozostałe do dalszego chowu prosięta zakolczykowano, wprowadzając różne kolory kolczyków dla każdej z grup. W tym dniu każdej sztuce podano także żelazo w formie iniekcji domięśniowej. Wszystkie zwierzęta były utrzymywane w podobnych warunkach zootechnicznych (w tym samym budynku porodówki a następnie warchlakarni). Zabiegi weterynaryjne były identyczne dla wszystkich zwierząt.

Dokarmianie prosiąt ssących w okresie laktacji rozpoczęto mieszanką typu prestarter od 10. dnia życia. Mieszanki prestarter były podawane do odsadzenia (do 28. dnia życia) a następnie kontynuowano ich skarmianie do 45. dnia życia. W trakcie przebywania prosiąt w porodówce mieszanki prestarter podawano do karmników miskowych. Co 8 godzin usuwano z nich zalegające niewyjady celem eliminacji bakteryjnego skażenia paszy.

Po przeniesieniu zwierząt do warchlakarni, od 45. dnia do 75. dnia życia, wszystkim grupom podano mieszanki typu starter zgodnie z przyjętym układem doświadczalnym. Zwierzęta pobierały mieszanki do woli z autokarmników. Jednocześnie warchlakom zapewniono stały dostęp do samoczynnych poidel z kontrolowanym przepływem wody, dostosowanym do ich potrzeb. W 19. dniu życia prosiętom podano drugą porcję żelaza w postaci iniekcji.

Wszystkie mieszanki zostały wyprodukowane w profesjonalnej wytwórni pasz. Składy mieszanek prestarter i starter były zgodne z założeniami doświadczenia. Wartość

pokarmowa mieszanek prestarter i starter odpowiadały standardom podawanym w normach NRC (1998) oraz Normach Żywienia Świń (2014).

W 28., 45. i 75. dniu określono masę ciała prosiąt. Pobranie mieszanek prestarter (do odsadzenia i po odsadzeniu) oraz starter było szczegółowo rejestrowane. Notowano także występowanie u prosiąt biegunek, brakowania oraz ich upadki. Kontrolę wyników odchowu warchlaków prowadzono do 75. dnia życia kiedy to przeklasyfikowano zwierzęta na tucz.

Analiza statystyczna

Wyniki po zestawieniu jako wartości średnie dla każdego kojca opracowano statystycznie przy zastosowaniu programu Statistica 10 (2011). W tym celu wykorzystano test t Studenta. Różnice międzygrupowe określono testem Duncana [Ruszczyc, 1979].

Wyniki i dyskusja

Doświadczenie I

Wyniki produkcyjne prosiąt i warchlaków zestawiono w tab. 1. Do odsadzenia prosiąt standardy produkcyjne i zdrowotne zwierząt były zbliżone. W dalszym okresie odchowu nastąpiło zróżnicowanie tempa wzrostu zwierząt. Zwierzęta z grupy doświadczalnej wykazywały wyższe masy ciała (w 45. oraz w 75. dniu życia) w porównaniu z grupą kontrolną ($p < 0,01$). Warchlaki grupy II były o ponad 1 kg cięższe.

W okresie od odsadzenia do 45. dnia życia zanotowano różnice międzygrupowe w zakresie przyrostów, pobrania paszy i występowania biegunek ($p < 0,01$). Przyrosty zwierząt, od 29. do 45. dnia życia, wahały się od 122 do 198 g. Różnica między grupami została określona jako wysoko istotna. Pobranie paszy, od 29. do 45. dnia życia, wahało się od 5,21 do 5,82 kg. Różnica na korzyść grupy doświadczalnej wynosiła średnio o 0,6 kg i została potwierdzona statystycznie jako wysoko istotna. Dodatek zakwaszacza wywarł korzystny efekt w postaci niższego zużycia paszy oraz niższej liczby biegunek w porównaniu z grupą kontrolną. Niższa liczba biegunek związana była z pozytywnym działaniem zakwaszacza, czyli powiązana była z obniżeniem pH w obrębie żołądka, co skutecznie przeciwdziało przepływowi bakterii patogennych do dalszych odcinków przewodu pokarmowego prosiąt [Hansen i in., 2007]. O lepszym wykorzystaniu składników pokarmowych w przewodzie pokarmowym zwierząt świadczy także niższe wykorzystanie paszy na 1 kg przyrostu masy ciała.

Tabela 1. Wyniki produkcyjne prosiąt i warchlaków (doświadczenie I)

Wyszczególnienie	Grupy doświadczalne		Wartość P
	I Kontrolna	II Zakwaszacz	
Liczba prosiąt w grupie, szt.			
- żywo urodzonych	49	46	
- w 28 dniu	47	45	
- w 45 dniu	40	43	
- w 75 dniu	38	43	
Straty, szt.			
- od 2 do 28 dnia	2	1	
- od 28 do 45 dnia	7	2	
- od 46 do 75 dnia	2	0	
- łącznie: 2 do 75 dnia	11	3	
Średnia masa ciała prosiąt, kg			
-w 2 dniu życia	1,64 ± 0,07	1,67 ± 0,08	0,847
- w 28 dniu życia	7,03 ± 0,15	7,09 ± 0,19	0,716
- w 45 dniu życia	9,10 A ± 0,24	10,45 B ± 0,31	0,000
- w 75 dniu życia	22,52 A ± 0,78	23,89 B ± 0,91	0,002
Przyrost dzienny, g			
- od 2 do 28 dnia	208 ± 21,0	208 ± 16,5	0,994
- od 29 do 45 dnia	122 A ± 16,5	198 B ± 22,5	0,000
- od 46 do 75 dnia	447 ± 55,5	448 ± 49	0,989
- od 28 do 75 dnia	330 ± 58,5	357 ± 44,5	0,347
Pobranie paszy, kg/szt.			
- do 28 dnia	0,31 ± 0,06	0,29 ± 0,05	0,568
- od 29 do 45 dnia	5,21 A ± 0,37	5,82 B ± 0,45	0,003
- od 46 do 75 dnia	25,16 ± 5,15	25,00 ± 3,85	0,992
Zużycie paszy, kg/kg m.c.			
- od 28 do 45 dnia	2,51 A ± 0,17	1,72 B ± 0,07	0,000
- od 46 do 75 dnia	1,88 ± 0,27	1,86 ± 0,29	0,876
Biegunki, liczba sztuk			
- od 28 do 45 dnia	22	8	

Wartości średnie w wierszach oznaczone a, b istotne przy $p \leq 0,05$; A, B przy $p \leq 0,01$

Podsumowując można stwierdzić, że 1,5% zakwaszacza wywarło korzystny wpływ na wyniki produkcyjne. Potwierdzają to także wyniki pracy przeglądowej Roth i Kirchgessner (1998). Autorzy analizując działanie różnych kwasów organicznych w obrębie przewodu pokarmowego odłączonych prosiąt przytoczyli badania Eckel i in. (1992), w których po zastosowaniu kwasu mrówkowego (w udziale od 0,6 do 1,2 % mieszanki) stwierdzono o ponad 20% zwiększone przyrostyienne masy ciała w stosunku do grupy kontrolnej. Ponadto, w cytowanych badaniach stwierdzono także lepsze wykorzystanie paszy (od 5,6 do 7,5%). Podobne wyniki odnotowano przy zastosowaniu kwasu sorbowego [Kirchgessner i Roth, 1995]. Dodatek tego kwasu wprowadzony do mieszanek dla odsadzonych prosiąt (na poziomie 1,8 - 2,4%) zwiększył średnie dzienne przyrosty masy ciała o ponad 20% w stosunku do prosiąt grupy kontrolnej. Odnotowano również lepsze

wykorzystanie paszy średnio o 6%. Korzystny wpływ na wyniki produkcyjne stwierdzono także po wprowadzeniu kwasu mlekowego do mieszanki na poziomie 1,6% (przyrostyienne masy ciała zwierząt z grupy doświadczalnej były wyższe o 8%). Z kolei zastosowanie kwasu propionowego w udziale 3% mieszanki paszowej negatywnie wpłynęło naienne przyrosty masy ciała odsadzonych prosiąt [Roth i Kirchgessner, 1998].

W przeprowadzonym doświadczeniu różnice międzygrupowe powstałe w okresie odsadzeniowym utrzymywały się do końca odchowu warchlaków. W 75. dniu zwierzęta z grupy I kontrolnej były istotnie lżejsze niż w grupie, gdzie stosowano oceniany zakwaszacz. Natomiast średnieienne przyrosty ich masy ciała były na podobnym poziomie, nie wykazując istotnych różnic.

Doświadczenie II

Wyniki produkcyjne prosiąt i warchlaków zestawiono w tab. 2. Średnia liczba prosiąt urodzonych w miocie była bardzo podobna i wynosiła 12,5 szt. (nie wykazując istotnego zróżnicowania między badanymi grupami - $p > 0,05$). Uzyskana liczba była wyższa niż w doświadczeniu przeprowadzonym przez Wang i in. (2014), w którym lochy otrzymujące w paszy maślan sodu urodziły średnio po 10,4 prosiąt.

Średnie masy ciała prosiąt urodzonych wynosiły od 1,61 kg do 1,66 kg, nie wykazując istotnego zróżnicowania ($p > 0,05$). Wyniki mieściły się w ogólnie przyjętych standardach dla świń ras białych. Wartości te były zbliżone do uzyskanych w doświadczeniu przeprowadzonym przez Kotunia i in. (2004). W cytowanych badaniach prosięta z grupy kontrolnej (w trzecim dniu życia) wykazywały masę ciała 1,72 kg. Natomiast w grupie doświadczalnej (otrzymującej maślan sodu) średnie masy ciała były wyższe i wynosiły średnio 2,15 kg.

W dniu odsadzenia prosiąt (w 28. dniu życia) prosięta z grupy kontrolnej osiągnęły masę ciała średnio 7,33 kg. W grupie II osobniki były cięższe (o około 0,6 kg) i ich masy ciała wynosiły średnio 7,90 kg (jednak nie potwierdzono statystycznie różnic w obrębie tego parametru). Uzyskany wynik może mieć związek z wyższym pobraniem mieszanki LK przez lochy karmiące w tej grupie.

Tabela 2. Wyniki produkcyjne prosiąt i warchlaków (doświadczenie II)

Wyszczególnienie	Grupy doświadczalne		Wartość P
	I Kontrolna	II Maślan sodu	
Liczba prosiąt w grupie, szt.			
- żywo urodzonych	120	125	
- w 28 dniu	112	122	
- w 45 dniu	105	115	
- w 75 dniu	103	114	
Straty, %			
- od 2 do 28 dnia	6,6	2,4	
- od 28 do 45 dnia	6,2	5,7	
- od 46 do 75 dnia	2,1	0,9	
- łącznie: 2 do 75 dnia	14,2	8,8	
Średnia masa ciała prosiąt, kg			
- w 2 dniu życia	1,61 ± 0,18	1,66 ± 0,23	0,924
- w 28 dniu życia	7,33 ± 0,71	7,90 ± 0,65	0,086
- w 45 dniu życia	12,50 a ± 0,83	13,65 b ± 0,76	0,005
- w 75 dniu życia	29,50 a ± 1,33	31,63 b ± 1,32	0,002
Przyrost dzienny, g			
- od 2 do 28 dnia	220 ± 51,1	240 ± 43,7	0,404
- od 29 do 45 dnia	323 ± 63,5	359 ± 61,1	0,208
- od 46 do 75 dnia	586 ± 92,5	620 ± 101,9	0,434
- od 28 do 75 dnia	472 ± 75,5	504 ± 81,9	0,361
Pobranie paszy, kg/szt.			
- do 28 dnia	0,25 ± 0,08	0,30 ± 0,07	0,128
- od 29 do 45 dnia	8,99 ± 1,11	9,60 ± 0,87	0,184
- od 46 do 75 dnia	31,45 ± 4,11	32,00 ± 3,51	0,759
Zużycie paszy, kg/kg m.c.			
- od 28 do 45 dnia	1,74 ± 0,19	1,67 ± 0,25	0,493
- od 46 do 75 dnia	1,85 ± 0,18	1,78 ± 0,22	0,401

Wartości średnie w wierszach oznaczone a, b istotne przy $p \leq 0,05$; A, B przy $p \leq 0,01$

W 45. dniu odchowu warchlaków zanotowano stosunkowo wysokie masy ciała prosiąt we wszystkich grupach. Zróżnicowanie masy ciała pomiędzy grupami określono jako istotne ($p < 0,05$). Warchlaki z grup II były średnio o 1 kg cięższe (ich masy ciała wynosiły 13,65 kg). Zwierzęta z grupy I (kontrolnej) wykazywały w tym okresie średnie masy ciała na poziomie 12,50 kg. Uzyskane wyniki odchowu warchlaków były wyższe w porównaniu do rezultatów innych badań. W doświadczeniu Weber'a i Kerr'a (2008), gdzie podawano prosiętom 0,05% maślanu sodu w mieszance, zwierzęta uzyskały masę ciała 13,4 kg dopiero w 56. dniu odchowu. Natomiast w grupach otrzymujących wyższe dawki maślanu w paszy zwierzęta wykazywały niższe masy ciała w porównaniu do wyników uzyskanych w badaniach własnych. W innych doświadczeniach zwierzęta otrzymujące maślan sodu w 40. dniu życia osiągnęły masę ciała na poziomie 12,1 kg [Le

Gall i in., 2009]. Ponadto, stwierdzono że wyłączenie z diety maślanu sodu w okresie odsadzenia skutkowało obniżeniem masy ciała warchlaków średnio o 1 kg.

Wyższe masy ciała osobników w grupie otrzymującej badany dodatek wynikały z wyższego pobrania mieszanki niż w grupie I (kontrolnej). Wynik ten może wskazywać na lepsze wykorzystanie składników pokarmowych w przewodzie pokarmowym warchlaków. Świadczy o tym także lepsze wykorzystanie pasz na 1 kg przyrostu masy ciała. W badaniach innych Autorów zostały również potwierdzone korzystne właściwości kwasu masłowego, który poprawiał strukturę nabłonka, zwiększał wysokość kosmków jelitowych, wzmacniał absorpcję składników pokarmowych, a tym samym stymulował przyrosty masy ciała prosiąt [Lu i in., 2008].

Istotne różnicowanie masy ciała zanotowano również w 75. dniu życia warchlaków ($p < 0,05$). Średnie masy ciała warchlaków z grupy I (kontrolnej) wynosiły 29,5 kg. W tym samym czasie masa ciała zwierząt z grupy II była wyższa niż w grupie I (kontrolnej). Podobne zależności w zakresie masy ciała stwierdzili inni Autorzy. Biagi i in. (2007) odnotowali, że średnie masy ciała warchlaków, otrzymujących w diecie od 1000-4000 mg/kg maślanu sodu, wyniosły 28 kg w 70. dniu życia zwierząt. Natomiast średnie dzienne przyrosty ich masy ciała były na poziomie od 493 do 528 g.

Zużycie paszy na 1 kg przyrostu masy ciała wynosiło około 1,7 kg/kg za cały okres odchowu, nie wykazując istotnego różnicowania między grupami ($p > 0,05$).

Straty zwierząt odnotowane za cały okres odchowu wynosiły średnio 14,0% w grupie I (kontrolnej). Natomiast, w grupie II kształtowały się na poziomie 8,8% i były 1,5-krotnie niższe w porównaniu z grupą kontrolną. Powszechnie uważa się, że akceptowalny poziom upadków nie powinien przekraczać 10%. Uzyskane wyniki produkcyjne wskazują na korzystny wpływ maślanu. Można stwierdzić, że zastosowany dodatek wywarł wpływ na wyższe tempo wzrostu zwierząt oraz wyraźnie obniżył straty podczas odchowu.

Po odsadzeniu prosiąt nie zanotowano w żadnej grupie biegunek. Należy to przypisać bardzo dobrej jakości mieszanek, w których duża część składników była poddana procesom ekstruzji. Dodatkowo na ograniczenie występowania biegunek wśród warchlaków w grupie doświadczalnej mógł mieć wpływ maślanu sodu. Stwierdzenie to zostało potwierdzone także w badaniach Fang'a i in. (2014). Autorzy cytowanych badań stwierdzili niższą częstość występowania biegunek w grupie zwierząt otrzymujących dodatek maślanu sodu.

Doświadczenie III

Do odsadzenia prosiąt (w 28. dniu życia) tempo wzrostu prosiąt było bardzo podobne (tab. 3). Nieco słabsze pobranie mieszanek w grupie I nie wywarło istotnego wpływu na masy ciała przy odsadzeniu. W późniejszym okresie (od 29. dnia do 45. dnia życia) nastąpiło zróżnicowanie tempa wzrostu prosiąt. Lepiej przyrastały zwierzęta z grup II (323 g dziennie) w porównaniu z grupą I, gdzie przyrost ten kształtował się na poziomie 294 g dziennie (uzyskane różnice nie zostały potwierdzone statystycznie). W 45. dniu życia uzyskano wyższą masę ciała osobników w grupie otrzymującej ŚKT, co związane było z wyższym pobraniem mieszanki w porównaniu z grupą kontrolną ($p < 0,05$). Stwierdzono także lepsze wykorzystanie paszy w grupie II, które wynosiło 1,69 kg/kg ($p > 0,05$). Reasumując zatem wyniki uzyskane między 28. a 45. dniem można stwierdzić, że poziom ŚKT wywierał istotny wpływ na procesy trawienia u prosiąt.

W późniejszym okresie (od 46. dnia do 75. dnia życia warchlaków) nastąpiło wyrównanie tempa wzrostu zwierząt we wszystkich grupach. Przyrosty zwierząt w tym okresie wahały się od 567 g do 594 g dziennie, nie wykazując istotnego zróżnicowania. Pobranie mieszanek we wszystkich grupach w przeliczeniu na 1 sztukę było bardzo podobne, wahał się od 31,5 kg do 32,2 kg.

Można zatem stwierdzić, że podawanie ŚKT w drugim okresie odchowu nie wywarło istotnego wpływu na uzyskane wyniki produkcyjne. Jednak zaszłości z pierwszej części odchowu wywarły istotny wpływ na masy końcowe warchlaków w 75. dniu życia. Masy warchlaków na zakończenie odchowu w grupie II wynosiły średnio 31,12 kg i były wyższe niż w grupie I (około 1,62 kg).

Straty prosiąt przy lochach (do 28. dnia życia) były podobne we wszystkich grupach (od 7. do 8. zwierząt w grupie). Były one spowodowane głównie przygnieceniami prosiąt przez lochy. W okresie po odsadzeniu straty warchlaków były niskie od 3 do 4 prosiąt w grupie. Były to sztuki wybrakowane nienadające się do dalszego odchowu. Od 46. dnia do 75. dnia życia strat warchlaków prawie nie odnotowano. Dwie sztuki wybrakowano ze względu na defekty anatomiczne.

Ogólne straty we wszystkich grupach do 75. dnia życia były bardzo podobne od 10 do 12 sztuk w grupie i mieściły się w powszechnie przyjętych standardach, w myśl których straty w obiektach przemysłowych szacowane są na poziomie 10%.

Tabela 3. Wyniki produkcyjne prosiąt i warchlaków (doświadczenie III)

Wyszczególnienie	Grupy doświadczalne		Wartość P
	I Kontrolna	II ŚKT	
Liczba prosiąt, szt./grupę			
- żywo urodzonych	115	114	
- w 28 dniu	107	107	
- w 45 dniu	100	103	
- w 75 dniu	98	103	
Straty, szt.			
- od 2 do 28 dnia	8	7	
- od 28 do 45 dnia	4	3	
- od 46 do 75 dnia	0	0	
- od urodzenia do 75 dnia	12	10	
Średnia masa ciała, kg			
-w 2 dniu życia	1,6 ± 0,57	1,47 ± 0,39	0,549
- w 28 dniu życia	7,50 ± 1,16	7,80 ± 1,07	0,556
- w 45 dniu życia	12,50 a ± 0,92	13,30 b ± 0,90	0,046
- w 75 dniu życia	29,50 ± 2,96	31,12 ± 0,73	0,110
Przyrost dzienny, g			
- od 2 do 28 dnia	225 ± 23,34	243 ± 26,42	0,143
- od 29 do 45 dnia	294 ± 45,66	323 ± 29,89	0,105
- od 46 do 75 dnia	567 ± 43,35	594 ± 46,23	0,191
- od 29 do 75 dnia	468 ± 68,76	496 ± 25,43	0,251
Pobranie paszy, szt. / kg			
- do 28 dnia	0,25 ± 0,05	0,30 ± 0,09	0,215
- od 29 do 45 dnia	8,71 a ± 0,70	9,30 b ± 0,49	0,045
- od 46 do 75 dnia	32,20 ± 2,19	31,50 ± 1,98	0,460
Zużycie paszy na kg m.c., kg/kg			
- od 28 do 45 dnia	1,74 ± 0,08	1,69 ± 0,09	0,207
- od 46 do 74 dnia	1,89 ± 0,29	1,80 ± 0,28	0,497
Biegunki, liczba sztuk			
- od 28 do 45 dnia	4	1	

Wartości średnie w wierszach oznaczone a, b istotne przy $p \leq 0,05$; A, B przy $p \leq 0,01$

Reasumując można stwierdzić, że straty prosiąt we wszystkich grupach wynikały głównie z powodu przygniecia, co wynikało z niedostatecznego nadzoru nad prosiętami szczególnie w godzinach nocnych. Skuteczne ograniczenie biegunek u prosiąt i warchlaków, występujące szczególnie w okresie okołoporodowym, wynikało z zastosowania dodatku ŚKT do pasz. Korzystne oddziaływanie ŚKT w obrębie światła jelit wykazali również Dierick i wsp. (2002). W badaniach tego zespołu stwierdzono 10% wzrost średnich dziennych przyrostów masy ciała prosiąt, którym do mieszanki dodano 2,5% ŚKT (źródłem ich był olej kokosowy bogaty w kwas kaprylowy). Na taką możliwość wskazują również wyniki badań przeprowadzone przez Zentek i in. (2013), w których zastosowano połączenie kwasów organicznych i ŚKT.

W naszej klasyfikacji badanych grup środków zakwaszających najlepsze rezultaty uzyskano przy zastosowaniu ŚKT, następnie maślanu i na końcu zakwaszaczy podawanych w postaci KKT. Najsilniejsze efekty pod względem produktywności i zdrowotności zwierząt, przy zastosowaniu wszystkich zakwaszaczy osiągnięto głównie w okresie okołoodsadzeniowym. Późniejsze podawanie preparatów podtrzymywało efekty uzyskane w początkowym okresie ich podawania.

Literatura

- Bergsson G., Arnfinnsson J., Steingrímson O., Thormar H. (2001). Killing of Gram-positive cocci by fatty acids and monoglycerides. *APMIS* 109, 670–678.
- Biagi G., Piva A., Moschini M., Vezzali E., Roth, FX. (2007). Performance, intestinal microflora, and wall morphology of weanling pigs fed sodium butyrate. *J. Anim. Sci.* 85, 1184–1191.
- Castillo M., Martín - Orúe SM., Roca M., Manzanilla EG., Badiola I., Perez JF., Gasa J. (2006). The response of gastrointestinal microbiota to avilamycin, butyrate and plant extracts in early-weaned pigs. *J. Anim. Sci.* 84, 2725-2734.
- Chapman MA., Grahn MF., Hutton M., Williams NS. (1995). Butyrate metabolism in the terminal ileal mucosa of patients with ulcerative colitis. *Br. J. Surg.* 82, 36-38.
- Dierick NA., Decuypere JA., Molly K., Beek EV., Vanderbeke E. (2002). The combined use of triacylglycerols (TAGs), medium chain fatty acids (MCFAs) and exogenous lipolytic enzymes as an alternative to nutritional antibiotic in piglet nutrition. II In vitro release to MCFAs in gastric cannulated and slaughtered piglets by endogenous and exogenous lipases, effects on the luminal gut flora and performance. *Livestock Prod. Sci.* 76, 1-16.
- Eckel B., Kirchgessner M., Roth FX. (1992). Zum einfluß von ameisensäure auf tägliche zunahmen, futteraufnahme, futterverwertung und verdaulichkeit. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 67, 93-100.
- Fang CL., Sun H., Wu J., Niu HH., Feng J. (2014). Effects of sodium butyrate on growth performance, hematological and immunological characteristics of weanling piglets. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 98, 680-685.

- Fuchs B., Kotara D. (2001). Tempo wzrostu i zdrowotność prosiąt żywionych mieszankami z udziałem zakwaszaczy Zitro San i środka smakowego Sucram w okresie okołoodsadzeniowym. *Trzoda Chlewna* 39, 3, 54-57.
- Gedek B., Roth FX., Kirchgessner M., Wiechler S., Bott A., Eidelsburger U. (1992). Influence of fumaric acid, hydrochloric acid, sodium formate, tylosin and toyocerin on the microflora in different segments of the gastrointestinal tract. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 68, 209-217.
- Hansen CF., Riis AL., Bresson S., Hojbjerg O., Jensen BB. (2007). Feeding organic acids enhances the barrier function against pathogenic bacteria of the piglets stomach. *Livestock Sci.* 108, 206-209.
- Hejdysz M., Wiąz M., Józefiak D., Kaczmarek S., Rutkowski A. (2012). Wpływ średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych (MCFA) na wyniki odchowu kurcząt rzeźnych. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego* 8, 3, 9-17.
- Kirchgessner M., Roth FX., Paulicks BR. (1995). Zur nutritiven wirksamkeit von Sorbinsäure in der Ferkelaufzucht. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 74, 235-242
- Kotunia A., Woliński J., Laubitz D., Jurkowska M., Romé V., Guilloteau P., Zabielski R. (2004). Effect of sodium butyrate on the small intestine development in neonatal piglets feed by artificial sow. *J. Physiol. Pharmacol.* 55, Suppl. 2, 59-68.
- Kuczyńska B., Wasilewska A., Biczysko M., Banasiewicz T., Drews M. (2011). Krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe – mechanizmy działania, potencjalne zastosowania kliniczne oraz zalecenia dietetyczne (Short chain fatty acids – mechanisms of action, potential clinical indications and nutritional indications). *Now. Lek.* 80(4), 299–304.
- Le Gall M., Gallois M., Sève B., Louveau I., Holst JJ., Oswald IP., Lallès JP., Guilloteau P. (2009). Comparative effect of orally administered sodium butyrate before or after weaning on growth and several indices of gastrointestinal biology of piglets. *Brit. J. Nutr.* 102, 1285-1296.
- Lu JJ., Zou XT., Wang YM. (2008). Effects of sodium butyrate on the growth performance, intestinal microflora and morphology of weanling pigs. *J. Anim. Feed Sci.* 17, 568-578.

- Mallo JJ., Balfagón A., Garcia MI, Honrubia P., Puyalto M. (2012). Evaluation of different protections of butyric acid aiming for release in the last part of the gastrointestinal tract of piglets. *J. Anim. Sci.* 90, 227-229.
- Marion J., Biernat M., Thomas F., Savary G., Breton Y. Le, Zabielski R., Hurou-Luron I. Le, Divisich J. Le (2002). Small intestine growth and morphometry in piglets weaned at 7 days of age. Effects of level of energy intake. *Reprod. Nutr. Dev.* 42, 339–354.
- Normy Żywienia Świń. (2014). Zalecenia żywieniowe i wartość pokarmowa pasz dla świń (red. Grela E., Skomiał J.). Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk. Jabłonna.
- NRC. (2012). Nutrient Requirements of Swine. Eleventh Revised Edition. National Academy Press. Washington, DC.
- Partanen KH., Mroz Z. (1999). Organic acids for performance enhancement in pig diets. *Nutr. Res. Rev.* 12, 117-145.
- Roth FX., Kirchgessner M. (1998). Organic acids as feed additives for young pigs: Nutritional and gastrointestinal effects. *J. Anim. Feed Sci.* 7, 25-33.
- Róžański H., Drymel W. (2009). Naturalne alternatywy dla antybiotykowych stymulatorów wzrostu i kokcydiostatyków. *Polskie Drobniarstwo* 11, 54-57.
- Ruszczyc Z. (1979). Doświadczalnictwo zootechniczne. PWRiL, Warszawa.
- Skrivanova E., Marounek M., Benda V., Brezinia P. (2006). Susceptibility of *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. and *Clostridium perfringens* to organic acids and monolaurin. *Veterinarni Medicina* 51, 81–88.
- Statistica. (2014). Data Analysis Software System. Statsoft Inc., version 12.
- Szewczyk A., Hanczakowska E. (2010). Właściwości i zastosowanie średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych (MCFA) i ich monoacylgliceroli (MCM). *Wiadomości Zootechniczne XLVIII*, 1, 21–26.
- Wang J., Yang M., Xu S., Lin Y., Che L., Fang Z., Wu D. (2014). Comparative effects of sodium butyrate and flavors on feed intake of lactating sows and growth performance of piglets. *J. Anim. Sci.* 85, 683-689.
- Weber TE., Kerr BJ. (2008). Effect of sodium butyrate on growth performance and response to lipopoly saccharide in weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 86, 2, 442-450.
- Zentek J., Ferrara F., Pieper R., Tedin L., Meyer W., Vahjen W. (2013). Effects of dietary combinations of organic acids and medium chain fatty acids on the gastrointestinal

microbial ecology and bacterial metabolites in the digestive tract of weaning piglets. *J. Anim. Sci.* 91, 3200 – 3210.

Wpływ sposobu hodowli i rodzaju karmy na jakość i zawartość kwasów tłuszczowych w rybach hodowlanych i dziko poławianych na przykładzie łososa atlantyckiego (*Salmo Solar*).

Bogumiła Urbańska, Dorota Miarka, Jolanta Kowalska

Zakład Oceny Jakości Żywności, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności

Wydział Nauk o Żywności, SGGW

Urbańska B: bogumila_urbanska@sggw.pl

Streszczenie

Zawartość składników odżywczych w rybach zależy od wielu czynników osobniczych, jak i środowiskowych. Ze względu na stały wzrost w populacji ludzkiej i korzyści zdrowotne wynikające z jedzenia ryb, zapotrzebowanie na nie znacznie rośnie. W ciągu ostatnich trzydziestu lat rozwój sektora akwakultury przyczynił się do dostarczania ryb o wysokiej jakości odżywczej w stosunkowo niskich cenach. Do składników wpływających na wysoką wartość odżywczą ryb należy tłuszcz surowy, który jest nie tylko doskonałym źródłem energii, witamin A, D, E, ale przede wszystkim kwasów tłuszczowych. Tłuszcz ryb zawiera cenne dla organizmu człowieka niezbędne wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA), omega-3 (n-3) i omega-6 (n-6), szczególnie kwasy: eikozapentaenowy (EPA) i dokozaheksaenowy (DHA), które wykazują szerokie spektrum działania na organizm człowieka. Identyfikacja efektywnych kosztowo składników pasz stała się coraz ważniejsza dla szybko rozwijającego się przemysłu łososa. W wielu badaniach łosoś atlantycki hodowlany posiadał wyższą zawartość kwasów tłuszczowych niż łosoś dziko poławiany. Prawdopodobnie zależy to od tego, czy hodowlany łosoś atlantycki otrzymywał dietę z zawartością olejów roślinnych, podczas gdy łosoś dziki jest mięsożerny i żywi się innymi rybami.

Słowa kluczowe: olej rybny, akwakultura, karma, kwasy omega-3, kwasy omega-6

Wstęp

Ryby są powszechnie uznawane za produkty charakteryzujące się właściwościami prozdrowotnymi ze względu na zawartość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z rodzin n-3 i n-6. Szczególnie kwasy EPA i DHA odgrywają istotną rolę m.in. w ochronie układu immunologicznego, zapobiegają chorobom układu krążenia, otyłości, a także wykazują działanie antydepresyjne [Woźniak i in., 2018]. Zawartość składników odżywczych w rybach zależy od wielu czynników, takich jak: gatunek, wiek czy stan fizjologiczny, ale także warunków panujących w środowisku bytowania: zasobności zbiornika wodnego w pokarm, pasz stosowanych do dokarmiania, zasolenia i temperatury wody, pory roku czy czasu odłowu [Grela i in., 2007]. Całkowita zawartość tłuszczu, w tym profil kwasów tłuszczowych, zależy od gatunku ryb, a różnice występują także między osobnikami tego samego gatunku. Rozbieżności te wynikają z oddziaływania czynników osobniczych, jak i środowiskowych. Do uwarunkowań osobniczych należą: wielkość i dojrzałość płciowa, cykl reprodukcyjny, faza rozwoju, topograficzne pochodzenie tkanek (część brzuszna lub grzbietowa) i jej rodzaj. Czynniki środowiskowe to: metoda hodowli, system żywienia, sezon, oddziaływania troficzne i środowisko życia [Kaliniak i in., 2015].

Skład kwasów tłuszczowych ryb będzie różnił się również w zależności pochodzenia słodkowodnego lub morskiego [Tocher i in., 2003] oraz czy ryby są hodowlane lub dzikie. Karma stanowi główny czynnik wpływający na skład kwasów tłuszczowych, a wraz z nim przemysł akwakultury posiada doskonałe narzędzie do korzystnej modyfikacji profili kwasów tłuszczowych ryb. Smak i inne cechy jakościowe ryb hodowlanych mogą cechować się mniejszą atrakcyjnością dla konsumentów w porównaniu do ich dzikich odpowiedników [Lundebye i in., 2017].

W ciągu ostatnich trzydziestu lat rozwój sektora akwakultury przyczynił się do dostarczania ryb o wysokiej jakości odżywczej w stosunkowo niskich cenach. To rosnące zapotrzebowanie i zmniejszanie się zasobów ryb dziko żyjących wymaga dalszego rozwoju sektora akwakultury w celu utrzymania podaży produktów żywieniowych bogatych w kwasy tłuszczowe, aminokwasy, pierwiastki śladowe i inne cenne substancje odżywcze dla diety człowieka [Lenas i in., 2011].

Uwzględniając prozdrowotne znaczenie mięsa ryb w diecie człowieka celowym wydaje się porównanie zawartości kwasów tłuszczowych w rybach hodowlanych i poławianych na dziko na przykładzie łososia atlantyckiego.

Wpływ na zdrowie

Skład chemiczny mięsa ryb zależy od wielu czynników i determinowany jest przez uwarunkowania genetyczne, płeć, preferencje żywieniowe, środowisko życia, temperaturę, czas połowu, wiek, a także fizyczne i chemiczne parametry wody. Mięśnie ryb są bardzo cennym źródłem pełnowartościowego białka (13-24%), które charakteryzuje się wysoką strawnością – nawet do 97%. Do składników wpływających na wysoką wartość odżywczą ryb należy tłuszcz surowy, który jest nie tylko doskonałym źródłem energii, witamin A, D, E, ale przede wszystkim kwasów tłuszczowych. Tłuszcz ryb zawiera cenne dla organizmu człowieka niezbędne kwasy tłuszczowe (PUFA), n-6 i n-3, szczególnie kwasy: EPA i DHA, które wykazują szerokie spektrum działania na organizm człowieka. Najkorzystniejsze proporcje kwasów n-3 do n-6 stwierdzono w tłuszczu ryb. Mięso ryb, to również bogate źródło składników mineralnych oraz witamin [Kaliniak i in., 2015]. Należy również pamiętać, że skład kwasów tłuszczowych jest różny w różnych tkankach ryb [Pan, 2013].

Ryby hodowlane

Przy mniejszej ilości dostępnej przestrzeni i zasobów wodnych na lądzie, atrakcyjnym rozwiązaniem jest uprawa żywności w oceanie. Akwakultura stanowi obecnie niemal połowę całkowitego zaopatrzenia na żywność i odsetek ten wzrasta co roku [FAO, 2012]. Akwakultura łososia atlantyckiego rozpoczęła się w Norwegii pod koniec lat sześćdziesiątych. Prace nad opracowaniem nowej paszy dla łososia atlantyckiego rozpoczęły się w 1972 r. Jednym z wniosków było to, że wyższy poziom lipidów (ok.18%) w diecie, zamiast dawnego 8-10%, zwiększyło przeżywalność i tempo wzrostu [Lim i Webster, 2002]. Kiedy w latach 90 pojawiła się nowa technologia wytłaczania olejów, zezwolono na większe włączenie dodatku tłuszczu do karmy, który dawał lepszy przyrost wagi. Obecnie wymaga się większego wykorzystania pasz pochodzenia roślinnego i paszy dla zwierząt jako składnika pasz dla ryb [Asche i in., 2011]. Hodowcy ryb mają pewną kontrolę nad czynnikami fizjologicznymi, takimi jak: wiek biologiczny i tempo wzrostu; czynnikami środowiskowymi, takimi jak temperatura, ciśnienie, przepływ i chemia; oraz czynnikami dietetycznymi, takimi jak cykl żywienia. [Haard, 1992]. Przemysł akwakultury stoi przed poważnym wyzwaniem próbując oferować konsumentom produkt końcowy, który przypomina rybę z dzikiego połowu, szczególnie w zakresie wartości odżywczej. Ryby dzikie i hodowlane różnią się zawartością składników odżywczych, sensorycznych,

chemicznych i właściwości fizycznych [Grigorakis i in., 2003], a karma jest jednym z głównych czynników, które wpływają na te właściwości [Rasmussen, 2001].

Profil kwasów tłuszczowych ryb odzwierciedlający skład kwasów tłuszczowych w ich pożywieniu potwierdził też Jensen i in. [2012]. Stwierdzili również, że w mięsie wielu gatunków ryb morskich dominują kwasy PUFA. Udział PUFA w tłuszczu tkanki mięśniowej ryb morskich jest większy niż w rybach hodowlanych i wynosi np. dla dorsza do 67,4 %. W badaniach Cahu i in. [2004] dowiedli, że skład lipidów ryb hodowlanych jest bardziej stały i mniej podatny na wahania sezonowe niż ryb dzikich, co w dużej mierze zależy od składu kwasów tłuszczowych karmy, której skład można modyfikować. Żywność pochodzenia roślinnego w coraz większym stopniu zastępuje mączkę rybną w pokarmach dla ryb i może indukować względny spadek kwasów tłuszczowych n-3 (PUFA) wyrażonych jako procent całkowitej zawartości kwasów tłuszczowych. Ryby hodowlane na ogół mają jednak wyższy całkowity poziom lipidów niż dzikie ryby. Ponadto dość wysoki poziom alfa-tokoferolu w rybach hodowlanych może teoretycznie zapewnić lepszą ochronę przed EPA i DHA przed peroksydacją. Analiza sensoryczna przeprowadzona przez przeszkolone panele konsumenckie nie ujawniła istotnych różnic między rybami dzikimi i hodowlanymi. Czas od uboju do sprzedaży konsumentowi jest łatwiejszy do sprawdzenia w przypadku ryb hodowlanych, w których zawartość potencjalnie toksycznych metali ciężkich (poważny problem zdrowotny w niektórych obszarach) jest również teoretycznie łatwiej kontrolowana. Wartość odżywcza ryb hodowlanych jest co najmniej tak samo korzystna jak u ryb dzikich, pod warunkiem, że są one hodowane w odpowiednich warunkach [Cahu i in., 2004]. Przyjmuje się, że ok 75 % wszystkich złowionych ryb jest zjadane przez ludzi, a drugie 25 % jest wykorzystywane do produkcji oleju rybnego lub mączki rybnej i wykorzystywanych jako karma dla zwierząt [Lökvist, 2014].

Pasze dla ryb są uzupełniane w lipidy, głównie poprzez dodatek oleju z ryb morskich. Okazuje się jednak, że oleje roślinne i niektóre tłuszcze zwierzęce są bardziej obfite i często tańsze niż morskie oleje rybne oraz charakteryzują się mniejszą zawartością zanieczyszczeń organicznych [Higgs i in., 2006]. Tak więc istnieje potrzeba częściowego zastąpienia oleju ze zwierząt morskich alternatywnymi lipidami roślinnymi i zwierzęcymi co może być korzystne zarówno ze względów ekonomicznych, jak i obniżenia zanieczyszczeń.

Hodowle morskie

Ryby morskie zawierają zwykle więcej tłuszczu w porównaniu z rybami słodkowodnymi [Li i in., 2011]. Fleming i in. [2011] stwierdzili, że zawartość tłuszczu u dzikiego łososa zależy od temperatury wody w czasie połowu, a także zauważył, że przebywanie dzikiego łososa w chłodniejszych wodach wpływa na większą zawartość tłuszczu w jego mięsie. W tych samych badaniach stwierdzono, że dziki łosoś różni się całkowitą zawartością tłuszczu i EPA + DHA w zależności od lokalizacji, pory roku, temperatury wody, wieku, płci i diety.

Według Olsena i in. [2013] w łososiach dojrzewających dziko, zawartość lipidów w płetwie tłuszczowej i mięśniach jest niska. W przypadku ryb morskich najwięcej tłuszczu oznaczono w tkance mięśniowej łososa atlantyckiego (12,3 %) i bałtyckiego (13,1 %), a najmniej w tkance dorsza (0,08 %), który, podobnie jak inne ryby chude, gromadzi lipidy w narządach wewnętrznych, np. w wątrobie [Muhamad i Mohamad, 2012].

Aursand i in. [2009] w badaniu odkryli, że dzikie ryby mają niskie 18:1 n-9 i niskie 18:2 n-6, podczas gdy EPA i DHA są wysokie. Inną cechą dzikich ryb był również wysoki stosunek n3 / n6. Należy jednak nie zapominać, że podczas gdy łosoś dziki żywi się na wolności planktonem i glonami bogatymi w astaksantyny, które pozytywnie działają na nasz organizm, łosoś hodowlany karmiony jest paszą.

W badaniach wybranych ryb morskich (łosoś, makrela, śledź) prowadzonych przez Białasa i in. [2001] wykazano, że wśród wielonienasyconych kwasów z rodziny n-3 we wszystkich rybach dominowały kwasy: C22:6 (kwas dokozaheksaenowy) i C20:5 (kwas eikozapentaenowy), natomiast wśród kwasów z rodziny n-6, w śledziu i łososiu dominował kwas C18:2 (kwas linolowy), a w makreli kwas C20:4 (kwas arachidonowy). Zawartość kwasów polienowych w rybach morskich i wysoki udział w nich kwasów z rodziny n-3 ma duże znaczenie żywieniowe bo stanowi główne źródło niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT), które nie mogą być syntetyzowane w organizmie człowieka i jako takie muszą być dostarczane z pożywieniem [Białas i in., 2001].

Rodzaj i skład kwasów tłuszczowych w łososiu

Mięso z łososa jest bogate w kwasy n-3, długołańcuchowe wielonienasycone kwasy tłuszczowe HUFA, w tym kwas EPA i kwas DHA o potwierdzonym działaniu przeciwmiażdżycowym, czy zmniejszającym ryzyko choroby niedokrwiennej serca [Kris-

Etherton i in., 2003]. Łosoś atlantycki ma ograniczoną fizjologiczną zdolność do wydłużania i desaturacji kwasów tłuszczowych, natomiast na profil kwasów tłuszczowych może mieć wpływ skład paszy [Liland i in., 2012]. W konsekwencji zwiększenie zawartości olejów roślinnych w paszy dla łososia prowadzi do zwiększenia ilości kwasów n-6 i zmniejszenia udziału kwasów tłuszczowych n-3 [Sprague i in., 2015]. Zmniejszenie ilości kwasów tłuszczowych n-3 w karmie dla ryb jest potencjalnie negatywne dla zdrowia ryb i dla konsumenta [Rosenlund i in., 2016]. Badania prowadzone przez Cartera i in. [2008] dotyczące stosowania zamienników tłuszczu pokazują również, że skład kwasów tłuszczowych łososia jest związany z dietą. Zaobserwowano natomiast, że 75% oleju rybnego można zmienić na olej roślinny w karmie łososia atlantyckiego, bez negatywnego wpływu na wzrost, wydajność i zdrowia tych ryb [Carter i in., 2008].

Najnowsze badania pokazują, że łosoś hodowlany jest ogólnie cięższy niż jego dziki kuzyn, z zawartością tłuszczu 12%, w porównaniu z 6% u łososia dzikiego. Co prawda dziki łosoś ma niższą całkowitą zawartość tłuszczu ale jakość tego tłuszczu jest bardziej korzystna dla zdrowia. Niestety dzikie łososie są dość drogie i trudniejsze do znalezienia przez konsumentów [Rosenlund i in., 2016]. W badaniach Lundebye i in. [2017] próbki łososia atlantyckiego pobrane w północnej Norwegii miały niższą zawartość tłuszczu (8%) niż łosoś hodowlany (14%). Również niższy poziom lipidów stwierdzono zarówno w przypadku ryb dzikich, jak i hodowlanych Atlantic Salmon, odpowiednio 6% i 12% [Jensen i in., 2012]. Nøstbakken i in. [2015] wykazali zawartość tłuszczu w hodowlanych szkockich łososiach atlantyckich o 10% wyższą niż w dzikich. W badaniu Lundebye i in. [2017] stosunek kwasów tłuszczowych n-3 do n-6 wynosił 11,4 u dzikiego łososia atlantyckiego, porównywalnego z występującym u dzikiego Pacific salmon ok. 10 [Hamilton i in., 2005]. Stosunek kwasów tłuszczowych n-3 do n-6 u hodowlanych łososi atlantyckich wyniósł 1,3, w porównaniu do 3-4 zgłoszonych przez Hamiltona i in. [2005]. Akceptacja łososia atlantyckiego jako składnika zdrowej diety wynika z wysokiej zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych n-3. Jensen i in., [2012] podali, że hodowlany łosoś atlantycki zawierał około 1 g EPA i DHA na 100 g, a całkowita ilość długołańcuchowych kwasów tłuszczowych n-3 była wyższa niż u łososia atlantyckiego. Łosoś atlantycki hodowlany stanowi dobre źródło kwasów tłuszczowych, a stosunek n-3 / n-6 wynosi ponad 1, co ma miejsce tylko w przypadku kilku grup żywności. Potwierdzono negatywny wpływ na zdrowie człowieka zmniejszenia zawartości kwasów n-3 względem

kwasów n-6. Dlatego zaleca się ograniczanie lub wyeliminowanie zwiększania kwasów n-6 w paszach ryb [Alvheimet i in., 2013]. Stwierdzono, że zastąpienie oleju rybnego różnymi olejami roślinnymi w karmie dla ryb prowadzi do obniżonego stosunku kwasów n-3 / n-6 w filetach z łososia.

Według Petterssona [2010] w olejach roślinnych występuje wysokie stężenie kwasów tłuszczowych n-6 i n-9, głównie kwasu linolowego i kwasu oleinowy (18: 1 n-9). W badaniach Lundebye i in., [2017] wykazano, że całkowita zawartość tłuszczu była znacznie wyższa u hodowlanych niż dzikich łososi. W rybach hodowlanych oznaczono także wyższą zawartość zarówno nasyconych, jak i jednonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz wyższą zawartość kwasów tłuszczowych n-6. Stosunek kwasów tłuszczowych n-3 do n-6 był znacznie niższy u hodowanych niż dzikich łososi, co wynikało z wysokiej zawartości kwasów tłuszczowych n-6. Stężenia zanieczyszczeń w łososiu atlantyckim były znacznie poniżej maksymalnych poziomów określonych w aktach prawnych Unii Europejskiej. Wykazano również, że łosoś atlantycki, zarówno hodowlany, jak i dziki jest dobrym źródłem EPA i DHA.

W badaniach Jensena i in. [2012] porównano skład 20 łososi atlantyckich hodowlanych z 20 łososiami atlantyckimi złowionymi w morzu. Zawartość tłuszczu w filecie łososia hodowlanego wynosił około 12%, czyli dwukrotnie więcej niż u dzikiego łososia. Skład kwasów tłuszczowych w łososiu hodowlanym potwierdził zasadnicze włączenie olejów roślinnych do paszy tej ryby, co skutkowało również wyższą całkowitą ilością długołańcuchowego n-3 FA obecnego w filetach łososia hodowlanego od zawartości w filetach u dzikich ryb. W badaniu Lundebye i in. [2017] wyższy poziom kwasów tłuszczowych omega-6 u łososia hodowlanego wynikał głównie z wyższej zawartości kwasu linolowego (LA), 18: 2 n-6, a także kwasu arachidonowego, (AA), 20: 4 n-6), gdzie wyższa zawartość kwasów n-3 w hodowlanych niż dzikich łososiach była ze względu na wyższą zawartość kwasu alfa-linolenowego (ALA, 18: 3 n-3). Zawartości kwasu eikozapentaenowego (EPA; 20: 5 n-3) były podobne w rybach hodowlanych i z połowów dzikich, natomiast zawartości kwasu dokozaheksaenowego (DHA; 22: 6 n-3) były znacząco niższe u łososia hodowlanego. W badaniach Lövkvist [2014] łosoś atlantycki hodowlany miał wyższą zawartość kwasu α -linolenowego niż dziki łosoś różowy. Prawdopodobnie zależało to od tego, że hodowlany łosoś atlantycki otrzymał dietę z zawartością olejów roślinnych, podczas gdy łosoś dziki jest mięsożerny i żywi się innymi rybami. Interesującym

wynikiem w badaniu Blanchet i in. [2005] było to, że niezbędne tłuszczowe kwasy α -linolenowe i linolowe były sześciokrotnie wyższe w hodowlanym łososiu atlantyckim niż łososiu dzikim.

Podsumowanie

Przemysł akwakultury stoi przed poważnym wyzwaniem próbując oferować konsumentom produkt końcowy, który przypomina rybę z dzikiego połowu, szczególnie w zakresie wartości odżywczej. Dzikie łososi mają niższą całkowitą zawartość tłuszczu, ale jakość tego tłuszczu jest bardziej korzystna dla zdrowia. Niestety, dzikie łososi są dość drogie i trudniejsze do znalezienia przez konsumentów. Akceptacja łososia atlantyckiego jako składnika zdrowej diety wynika z wysokiej zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych n-3. Należy jednak pamiętać, że skład kwasów tłuszczowych jest różny w różnych tkankach ryb.

Literatura

- Alvheim A.R., Torstensen B.E., Lin Y.H., Lillefosse H.H., Lock, E.J., Madsen L., Hibbeln J.R., Malde M.K. (2013). Dietary linoleic acid elevates endogenous 2 arachidonoylglycerol and anandamide in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and mice, and induces weight gain and inflammation in mice. *British Journal of Nutrition*, 109, 1508–11517.
- Asche F., Hardy R.W., Hemre G.I., Lall S., Olsen R.E., Tacon A.G.J., Torstensen O. (2011). Atlantic salmon (*Salmo salar*): The "Super-Chicken". *Reviews in Fishery Science*, 19(3), 257–278.
- Aursand M., Axelson D. E., Finstad B., Martinez I., Standal I.B. (2009). Identification of the farm origin of salmon by fatty acid and HR 13 C NMR profiling. *Food Chemistry*, 116(3), 766–773.
- Białas M., Pawlicka N., Jacgórzyński B., Filipek A., Domina P., Mielniczuk E., Daniewski M. (2001). Zawartość tłuszczu i skład kwasów tłuszczowych w wybranych rybach morskich. *Roczniki PZH*, 52, 4.
- Blanchet C., Dewailly E., Gingras S., Julien P., Lucs M., Morin R. (2005). Fatty Acid Composition of Wild and Farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar*) and Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Lipids*, 40(5), 529–531.

- Cahu C, Salen P, de Lorgeril M. (2004). Farmed and wild fish in the prevention of cardiovascular diseases: assessing possible differences in lipid nutritional values. *Nutrition, Meta-bolism & Cardiovascular Diseases*, 14, 34–41.
- Carter C. G., Miller M. R., Nichols P.D. (2008). n-3 Oil sources for use in aquaculture - alternatives to the unsustainable harvest of wild fish. *Nutrition Research Reviews*, 21(2), 85–96.
- FAO, (2012). *The State of the World Fisheries and Aquaculture 2012*. Food and Agriculture Organisation of the United, Rome.
- Fleming J., Harris K. , Kris-Etherton P. (2011). Challenges in estimating omega-3 fatty acid content of seafood from US nutrient databases: A salmon case study. *Journal Of Food Composition And Analysis*, 24(8), 1168–1173.
- Grela E.R., Dudek R., Kowalczyk E. (2007). Mineral content in fish meat from pond, lake or sea. *Polish Journal of Environmental Studies*, 16, 69–72.
- Grigorakis K., Taylor K.D.A., Alexis M.N. (2003). Organoleptic and volatile aroma compounds comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*): sensory differences and possible chemical basis. *Aquaculture*, 225, 109–119.
- Haard N.F. (1992). Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish. *Food Res Int.*, 25, 289–307.
- Hamilton M.C., Hites R.A., Schwager S.J., Foran J.A., Knuth B.A., Carpenter D.O. (2005). Lipid composition and contaminants in farmed and wild salmon. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 39(22), 8622–8629.
- Higgs D.A., Balfry S.K., Oakes J.D. (2006). Efficacy of an equal blend of canola oil and poultry fat as an alternate dietary lipid source for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in sea water. I: effects on growth performance, and whole body and fillet proximate and lipid composition. *Aquaculture Research*, 37, 180–191.
- Jensen I.J., Mæhre H.K., Tømmerås S., Eilertsen K.E., Olsen R.L., Elvevoll E.O. (2012). Farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) is a good source of long chain omega-3 fatty acids. *Nutrition Bulletin*, 37, 25–29.
- Kaliniak A., Florek M., Skąłeczki P. (2015). Profil kwasów tłuszczowych mięsa, ikry i wątroby ryb. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 2(99), 29–46.

- Kris-Etherton P.M., Harris W.S., Appel L.J. (2003). Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: new recommendations from the American Heart Association. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 23, 151–152.
18. Lenas D., Chatziantoniou S., Nathanailides C., Triantafillou D. (2011). Comparison of wild and farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax* L) lipid quality. *Procedia Food Science*, 1, 1139–1145.
- Li G., Sinclair A.J., Li D. (2011). Comparison of lipid content and fatty acid composition in the edible meat of wild and cultured freshwater and marine fish and shrimps from China. *J. Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 1871–1881.
- Liland N.S., Rosenlund G., Berntssen M.H.G., Brattelid T., Madsen L., Torstensen B.E. (2012). Net production of Atlantic salmon (FIFO, fish in fish out <1) with dietary plant proteins and vegetable oils. *Aquaculture Nutrition*, 19, 289–300.
- Lim C., Webster C.D. (2002). *Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture*. CABI Publishing. Available: [http://site.ebrary.com/lib/slub/docDetail.action?docID=10066743&p00=atlantic%200sa%20mon%20\(salmo%20salar\)%20aquaculture](http://site.ebrary.com/lib/slub/docDetail.action?docID=10066743&p00=atlantic%200sa%20mon%20(salmo%20salar)%20aquaculture).
- Lövkvist S. (2014). An investigation of the lipid content and lipid composition in Atlantic salmon, pink salmon and striped catfish, obtained at the local retailers in Uppsala, Sweden, <http://stud.epsilon.slu.se>.
- Lundebye A.K., Lock E.J., Rasinger J.D., Nøstbakken O.J., Hannisdal R., Karlsbakk E., Wennevik V., Madhun A.S., Madsen L., Graff I.E., Ørnsrud R. (2017). Lower levels of Persistent Organic Pollutants, metals and the marine omega 3-fatty acid DHA in farmed compared to wild Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Environmental Research*, 155, 49–59.
- Muhamad N.A., Mohamad J. (2012). Fatty acids composition of selected Malaysian fishes. *Sains Malaysiana*, 41(1), 81–94.
- Nøstbakken, O.J., Hove, H.T., Duinker, A., Lundebye, A.-K., Berntssen, M.H.G., Hannisdal, R., Lunestad, B.-T., Maage, A., Madsen, L., Torstensen, B.E., Julshamn, K. (2015). Contaminant levels in Norwegian farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) in the 13-year period from 1999 to 2011. *Environ. Int.* 74, 274–280.

- Olsen R.E., Taranger G.L. and Skilbrei O.T. (2013). Improved method for triacylglycerol-derived fatty acid profiling by various non-lethal and lethal sampling techniques in Atlantic salmon. *Aquaculture Environment Interactions* 4, 251–261.
- Pan J. (2013) Effects of Non-Fish Based Raw Materials on the Fish Muscle Quality of Salmonids. Diss. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences
- Pettersson A. (2010) Effects of replacing fish oil with vegetable oils in feed for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). Diss. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences.
- Rasmussen R.S. (2001). Quality of farmed salmonids with emphasis on proximate composition, yield, and sensory characteristics. *Aquaculture Research*, 32, 767–786.
- Rosenlund G., Torstensen B.E., Stubhaug I., Usman N., Sissener N.H. (2016). Atlantic salmon require long-chain n-3 fatty acids for optimal growth throughout the seawater period. *Journal of Nutritional Science*, 11, 5.
- Sprague M., Walton J., Campbell P.J., Strachan F., Dick, J.R., Bell, J.G. (2015). Replacement of fish oil with a DHA-rich algal meal derived from *Schizochytrium* sp. on the fatty acid and persistent organic pollutant levels in diets and flesh of Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) post-smolts. *Food Chemistry*, 185, 413–421.
- Tocher D.R. (2003). Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Review of Fish Science*, 11(2), 107–184.
- Woźniak M., Batyk I., Niewiadomski P. (2018). Zawartość podstawowych składników odżywczych oraz profil kwasów tłuszczowych w mięśniach wybranych gatunków ryb z uwzględnieniem ich pochodzenia. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 99(1), 74–78.



ISBN 978-83-951124-0-9



9 788395 112409