

*Grażyna Cichosz, Hanna Czczot¹⁾, Adam Ambroziak,
Marika Magdalena Bielecka*

WPLYW PRZECHOWYWANIA NA PROFIL KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W MLEKOZASTĘPCZYCH PREPARATACH DO ŻYWIENIA NIEMOWLĄT*)

Katedra Mleczarstwa i Zarządzania Jakością,
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
Kierownik: prof. dr hab. *B. Staniewski*

¹⁾ Katedra i Zakład Biochemii I Wydziału Lekarskiego,
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik: prof. dr hab. *A. Barańczyk-Kuźma*

W pracy przedstawiono wyniki badań nt. profilu kwasów tłuszczowych w mlekozastępczych preparatach do początkowego żywienia niemowląt oraz ich zmian w trakcie przechowywania. Spadek zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (zawsze większy w przypadku kwasu α -linolenowego n-3 niż linolowego n-6) oraz wysoki poziom wtórnych produktów oksydacji lipidów (reagujących z p-anizydyną) świadczy o niskiej stabilności oksydacyjnej badanych preparatów.

Hasła kluczowe: mlekozastępcze preparaty do żywienia niemowląt, wielonienasycone kwasy tłuszczowe, wtórne produkty oksydacji lipidów.

Key words: infant formulas, polyunsaturated fatty acids, secondary products of lipid oxidation.

Mlekozastępcze preparaty do żywienia początkowego niemowląt to produkty wysokotłuszczowe (od 21,0 do 27,7 g/100 g proszku), zawierające nasycone, jedno- i wielonienasycone kwasy tłuszczowe (KT). W ich produkcji wykorzystywane są najtańsze oleje roślinne. Olej palmowy stosowany jest jako źródło kwasu palmitynowego, rzepakowy jako źródło kwasu oleinowego, z kolei sojowy, kukurydziany i słonecznikowy jako źródło KT wielonienasyconych. Natomiast olej kokosowy jest dobrym źródłem KT średniołańcuchowych nasyconych (MCT) (1).

Zastosowanie mieszaniny olejów roślinnych umożliwia uzyskanie w mlekozastępczych preparatach profilu KT zbliżonego do pokarmu kobiecego. Również poprzez zmieszanie tłuszczu mlekowego z olejami możliwe jest uzyskanie profilu KT zbliżonego do pokarmu kobiecego, co jednak nie zapewnia długiego okresu przydatności do spożycia. Tłuszcz mlekowy dosyć łatwo hydrolizuje z uwolnieniem kwasu masłowego, który odznacza się bardzo niskim progiem wyczuwalności przez zmysły

*) Badania sfinansowano ze środków Funduszu Promocji Mleka poprzez Krajowy Związek Spółdzielni Mleczarskich, Związek Rewizyjny w Warszawie.

człowieka (rzędu 1–2 ppm). Co prawda kwas masłowy nie stanowi zagrożenia dla zdrowia, ale nie jest akceptowalny sensorycznie. Natomiast utlenione oleje roślinne, ze względu na bardzo wysoki próg wyczuwalności, nie są identyfikowane przez zmysł węchu człowieka, mimo że stanowią ewidentne zagrożenie dla zdrowia.

W mlekozastępczych preparatach do żywienia niemowląt obecne są, pochodzące z olejów roślinnych, kwasy: linolowy n-6 oraz α -linolenowy n-3. W organizmie dziecka mogą z nich powstawać długołańcuchowe wielonienasycone KT. Niestety, endogenna synteza długołańcuchowych pochodnych, tj. kwasu arachidonowego (AA) (n-6) oraz eikozapentaenowego (EPA) i dokozaheksaenowego (DHA) (n-3), ze względu na niedojrzałość systemów enzymatycznych: desaturaz i elongaz, nie zawsze jest możliwa. Dlatego Dyrektywa UE, dotycząca składu preparatów do żywienia niemowląt, dopuszcza suplementację długołańcuchowych WNKT, szczególnie określając ich ilości oraz proporcje w stosunku do całkowitej zawartości tłuszczu. Źródłem EPA i DHA (n-3) w preparatach są najczęściej tłuszcze ryb i ssaków morskich oraz frakcjonowane lipidy żółtka jaja (1, 2).

Wielonienasycone KT są wyjątkowo podatne na utlenianie; proces oksydacji następuje w postępie geometrycznym proporcjonalnie do ich zawartości oraz ilości wiązań nienasyconych. Szczególnie podatny na utlenianie jest kwas α -linolenowy n-3, w mniejszym stopniu kwas linolowy n-6. Z licznych danych literaturowych wiadomo, że powstające z nadtlenuków, wtórne produkty oksydacji lipidów (aldehydy, ketony, związki karboksylowe, estry, alkohole) odznaczają się działaniem mutagenym i kancerogennym (3-6). Stwierdzono również wpływ ogrzewania olejów na powstawanie KT izomerii *trans*. Mimo to, w ocenie bezpieczeństwa zdrowotnego preparatów do żywienia niemowląt uwzględnia się tylko jeden (w dodatku nietrwały) parametr jakim jest liczba nadtlenukowa. Producenci preparatów, zapewniając aż 2-letni okres ich przydatności do spożycia, ignorują zagrożenia wynikające z obecności wtórnych produktów oksydacji wielonienasyconych KT (4).

Norma PN-A-86908:2000 dotycząca olejów nie definiuje poziomu jakichkolwiek szkodliwych dla zdrowia wtórnych produktów oksydacji lipidów (7). Obróbka termiczna podczas rafinacji olejów roślinnych (bielenie w temp. 175–225°C i dezodoryzacja w temp. 240–270°C) prowadzi, w sposób nieuchronny, do powstawania pierwotnych i wtórnych produktów utlenienia WNKT. Dodatkowo, podczas produkcji preparatów do żywienia niemowląt, lipidy narażone są na utlenianie w trakcie homogenizacji (temp. ok. 70°C), suszenia rozpyłowego (produkt w końcowej fazie osiąga temp. 70–80°C), aglomeracji i dosuszania (temp. 55°C). Ponadto, utlenianiu lipidów sprzyja pakowanie gotowych preparatów w atmosferze powietrza (8).

Jako żywność specjalnego przeznaczenia, mlekozastępcze preparaty – zwłaszcza do początkowego żywienia niemowląt – powinny zawierać taki poziom antyoksydantów, który skutecznie zapobiegałby utlenianiu nienasyconych kwasów tłuszczowych. Z tego względu stabilność oksydacyjna preparatów do żywienia niemowląt jest najważniejszym parametrem ich bezpieczeństwa zdrowotnego.

MATERIAŁ I METODY

Przedmiotem badań były mlekozastępcze preparaty do żywienia początkowego niemowląt (od urodzenia do 6 miesięcy). Z kilkunastu dostępnych na polskim ryn-

ku preparatów wybrano najczęściej reklamowane w środkach masowego przekazu i kupowane przez rodziców. Zakupiono preparaty przed upływem 12–16 miesięcy od terminu ich przydatności do spożycia, następnie przechowywano w oryginalnych, hermetycznie zamkniętych, opakowaniach (zgodnie z zaleceniami producentów). Łącznie przebadano 6 różnych produktów: od producenta A – jeden preparat (A1), producenta B – dwa (B1 i B2) i producenta C – trzy (C1, C2 i C3). Badania przeprowadzono jednocześnie dla wszystkich preparatów w 6 powtórzeniach (n-6), natychmiast po otwarciu hermetycznie zamkniętych opakowań.

Wyodrębnienie tłuszczu z materiału badawczego, w celu wykonania analiz profilu kwasów tłuszczowych (KT) przeprowadzono w oparciu o zmodyfikowaną metodykę *Toledo* i *Andren* (9).

Analizę estrów metylowych KT wykonano metodą chromatografii gazowej (Agilent Technologies), zgodnie z PN-EN ISO 5508 (10). Stosowano detektor płomienio-jonizacyjny oraz kolumnę kapilarną CP-Sil 88 o wymiarach 50 m × 0,25 mm i.o. × 0,20 μm. Rozdział prowadzono w następujących warunkach: temp. dozownika – 250°C (podział strumienia: 50:1), kolumny – 180°C; detektora – 250°C; jako gaz nośny zastosowano hel. Kwasy tłuszczowe identyfikowano na podstawie czasów retencji w odniesieniu do czasów retencji odpowiednich wzorców (za pomocą programu ChemStation, Agilent).

Ocenę składu KT w mlekozastępczych preparatach do żywienia początkowego niemowląt (A1, B1 i B2 oraz C1, C2 i C3) prowadzono w okresie ich przydatności do spożycia: po zakupieniu i po 12 miesiącach przechowywania (w warunkach zgodnych z zaleceniami producenta).

Natomiast ocenę zawartości wtórnych produktów utleniania KT powstających z rozpadu nadtlenu badano w oparciu o próbę anizydnową (11). Jest to jedna z najlepszych, pewnych i powtarzalnych oraz powszechnie stosowanych metod, polegająca na spektrofotometrycznym oznaczeniu produktów reakcji α- i β-aldehydów (głównie 2-alkenów oraz 2,4 alkenoidów) z *p*-anizydną (12). Ocenę zawartości wtórnych produktów oksydacji w mlekozastępczych preparatach do żywienia początkowego (A1, B1 i B2 oraz C1, C2 i C3) prowadzono w okresie ich przydatności do spożycia: po zakupieniu, 3, 6, 9 i 12 miesiącach przechowywania.

Odczynniki użyte w badaniach: chloroform, lodowaty kwas octowy, *p*-anizydną oraz izooktan pochodziły z firmy POCH (Polskie Odczynniki Chemiczne), natomiast standardy kwasów tłuszczowych zakupiono w firmie Sigma-Aldrich.

Analiza statystyczna

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej z zastosowaniem programu STATISTICA 10. W ocenie istotności statystycznej różnic między średnimi przyjęto poziom istotności $p \leq 0,05$ i zastosowano odpowiednie testy.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Skład kwasów tłuszczowych (KT) w mlekozastępczych preparatach do żywienia niemowląt był zróżnicowany. Różnice dotyczyły przede wszystkim zawartości KT średniołańcuchowych (C6-C12), które w preparatach od producenta B obecne były w śladowych ilościach. Natomiast w pozostałych preparatach (A1, C1, C2 i C3) ich

Tab e l a I. Skład kwasów tłuszczowych (KT) w mlekozastępczych preparatach do żywienia początkowego niemowląt przed przechowywaniem (% sumy kwasów)
 Tab l e I. Proportions of fatty acids (FA) in breast-milk substitutes before storage (% of total acids)

Kwasy tłuszczowe	Mlekozastępcze preparaty do żywienia początkowego niemowląt					
	A1	B1	B2	C1	C2	C3
C4:0	0,040 ^a ±0,000	nw ^b	0,048 ^c ±0,004	0,042 ^a ±0,004	0,040 ^a ±0,000	nw ^b
C6:0	0,196 ^a ±0,005	nw ^b	0,038 ^c ±0,004	0,192 ^a ±0,004	0,184 ^d ±0,009	0,172 ^e ±0,004
C8:0	2,140 ^a ±0,000	nw ^b	0,040 ^c ±0,000	1,930 ^d ±0,000	1,944 ^e ±0,005	2,062 ^f ±0,004
C10:0	1,630 ^a ±0,000	0,066 ^b ±0,005	0,068 ^b ±0,004	1,440 ^c ±0,000	1,490 ^d ±0,000	1,570 ^e ±0,000
C12:0	5,576 ^a ±0,015	0,264 ^b ±0,005	0,218 ^c ±0,004	3,142 ^d ±0,040	3,640 ^e ±0,040	4,426 ^f ±0,026
C14:0	3,804 ^a ±0,071	0,952 ^b ±0,011	1,014 ^c ±0,013	3,260 ^d ±0,058	3,510 ^e ±0,014	4,772 ^f ±0,027
C15:0	0,052 ^a ±0,004	0,084 ^b ±0,005	0,068 ^c ±0,004	0,062 ^c ±0,004	0,062 ^c ±0,004	0,052 ^a ±0,004
C16:0	12,180 ^a ±0,164	24,680 ^b ±0,060	26,460 ^c ±0,089	17,600 ^d ±0,424	15,274 ^e ±0,042	12,988 ^f ±0,011
C16:1	0,176 ^a ±0,013	0,246 ^b ±0,011	0,270 ^c ±0,000	0,212 ^d ±0,004	0,220 ^{de} ±0,007	0,228 ^e ±0,004
C17:0	0,068 ^a ±0,004	0,106 ^b ±0,005	0,110 ^b ±0,000	0,082 ^c ±0,004	0,078 ^c ±0,004	0,088 ^d ±0,004
C17:1	0,032 ^a ±0,004	0,038 ^a ±0,004	0,047 ^b ±0,004	0,032 ^a ±0,004	0,034 ^a ±0,005	0,036 ^a ±0,005
C18:0	3,316 ^a ±0,019	3,982 ^b ±0,018	3,996 ^b ±0,009	3,654 ^c ±0,363	3,306 ^a ±0,009	3,310 ^a ±0,019
C18:1	44,194 ^a ±0,445	45,958 ^b ±0,046	42,344 ^c ±0,036	44,514 ^a ±0,048	44,530 ^a ±0,409	45,846 ^b ±0,030
C18:2	19,064 ^a ±0,139	16,356 ^b ±0,051	17,714 ^c ±0,104	18,164 ^d ±0,273	18,558 ^e ±0,509	17,960 ^{cd} ±0,219
ΣKT trans	0,134 ^a ±0,011	0,128 ^a ±0,004	0,080 ^a ±0,000	0,060 ^a ±0,000	0,068 ^a ±0,004	0,116 ^a ±0,159
C20:0	0,316 ^a ±0,005	0,376 ^b ±0,009	0,374 ^b ±0,009	0,314 ^a ±0,005	0,308 ^a ±0,004	0,306 ^a ±0,009
C20:1	0,406 ^a ±0,005	0,057 ^b ±0,004	0,500 ^c ±0,007	0,094 ^b ±0,005	0,420 ^a ±0,045	0,440 ^a ±0,055
C18:3	4,710 ^a ±0,051	4,762 ^b ±0,008	4,320 ^c ±0,031	4,320 ^c ±0,007	4,440 ^d ±0,031	5,220 ^e ±0,016
C22:0	0,156 ^a ±0,005	0,180 ^b ±0,007	0,176 ^b ±0,005	0,176 ^b ±0,005	0,184 ^b ±0,009	0,146 ^d ±0,005
C20:4	nw ^a	0,174 ^b ±0,009	0,176 ^b ±0,005	0,227 ^c ±0,004	0,237 ^d ±0,004	0,216 ^c ±0,005
C22:6	nw ^a	0,168 ^b ±0,018	0,170 ^b ±0,007	0,230 ^c ±0,007	0,231 ^c ±0,007	0,232 ^c ±0,008

Wyniki przedstawiono jako średnią arytmetyczną +/- SD (n = 6) z 6 niezależnych oznaczeń dla każdego preparatu
 a-f – różnice statystycznie istotne pomiędzy zawartością kwasów tłuszczowych w poszczególnych preparatach (p < 0,05)
 nw – nie wykryto

sumaryczna zawartość wynosiła odpowiednio: 9,54; 6,70; 7,25 oraz 8,23%. Największe zróżnicowanie dotyczyło zawartości kwasu laurynowego, który w preparatach B1 i B2 obecny był w ilościach kilkunastokrotnie mniejszych niż w pozostałych preparatach. Preparaty B1 i B2 odznaczały się najwyższą zawartością kwasu palmitynowego C16 (tab. I).

Różnice w zawartości KT nienasyconych w będących przedmiotem badań preparatach z reguły były statystycznie istotne. Zawartość kwasu oleinowego, n-9 (C18:1) mieściła się w zakresie 42,34–45,96%, natomiast linolowego n-6 (C18:2) w zakresie 16,36–19,06%. Nieco większe zróżnicowanie (4,32–5,22%) stwierdzono w przypadku kwasu linolenowego n-3 (C18:3). We wszystkich badanych preparatach stwierdzono obecność niewielkich ilości (0,06–0,13%) KT izomerii *trans* (tab. I).

Stwierdzone różnice w składzie KT nasyconych, jedno- i wielonienasyconych, w badanych preparatach, wynikają z zastosowania w nich tłuszczu z różnych źródeł. Zgodnie z deklaracją producenta preparat A1 zawierał wyłącznie tłuszcze roślinne. W preparatach od producenta B, oprócz olejów roślinnych, obecne były: tłuszcz z żółtka jaja (bogaty w fosfolipidy i cholesterol) oraz olej z ryb. Natomiast preparaty od producenta C zawierały oleje roślinne oraz olej z ryb. Wysoka zawartość średniołańcuchowych nasyconych KT w preparatach od producenta A i C była najprawdopodobniej konsekwencją zastosowania w ich produkcji oleju kokosowego. Oprócz witamin rozpuszczalnych w tłuszczach poszczególne preparaty zawierały antyoksydanty, pochodzące z żółtka jaja lub tłuszczów rybnych, co może tłumaczyć zróżnicowanie ich stabilności oksydacyjnej.

W trakcie 12 miesięcy przechowywania mlekozastępczych preparatów nie stwierdzono zmian zawartości KT nasyconych i jednonienasyconych, co potwierdza ich wysoką stabilność oksydacyjną. Stwierdzono natomiast znaczny spadek zawartości KT wielonienasyconych. Niezależnie od zróżnicowania składu frakcji lipidowej, każdorazowo spadek zawartości kwasu α -linolenowego n-3 był większy niż kwasu linolowego n-6. Największe straty kwasu α -linolenowego – aż o 61% – miały miejsce w trakcie przechowywania preparatu C3. W preparatach B1, B2 i C2 zawartość kwasu α -linolenowego w trakcie przechowywania zmalała odpowiednio o: 41, 46 i 55%. Stosunkowo mniejsze straty kwasu α -linolenowego dotyczyły preparatu A1 i C1 (odpowiednio 18 i 17%) (tab. II).

W znacznie mniejszym stopniu w trakcie przechowywania malała zawartość kwasu linolowego n-6. Jego straty w preparatach od producenta C były podobne i wynosiły odpowiednio C1 – 12, C2 – 16 i C3 – 19%; natomiast w preparatach B1 i B2 straty były znacznie niższe (odpowiednio 6,1 i 2,8%). Największy spadek (o 21%) zawartości kwasu linolowego n-6 stwierdzono w preparacie A1. Z kolei, zawartość kwasu eikozapentenowego (EPA) zmalała podczas 12 miesięcy przechowywania do ilości śladowych. Podobnie zawartość kwasu dokozaheksaenowego (DHA) w preparacie B1 i C2 zmalała do ilości śladowych; natomiast w preparatach C3, B2 oraz C1 spadek zawartości DHA był mniejszy i wynosił odpowiednio: 13, 17 oraz 26% (tab. II). Spadek zawartości wielonienasyconych KT podczas 12 miesięcy przechowywania preparatów do żywienia niemowląt (w oryginalnych, hermetycznie zamkniętych opakowaniach) wskazuje na nieskuteczną osłonę antyoksydacyjną.

Skutkiem utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych jest powstawanie nadtlenków i wodoronadtlenków lipidowych, z których następnie powstają tzw. wtórne

Table II. Porównanie zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w mlekozastępczych preparatach do żywienia początkowego niemowląt przed i po przechowywaniu (% sumy kwasów)

Table II. Comparison of contents of fatty acids (FA) in breast-milk substitutes before and after storage (% of total acids)

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe	Przechowywanie	Preparaty do żywienia niemowląt					
		A1	B1	B2	C1	C2	C3
C18:2 linołowy n-6	przed	19,06 ^{aA} ± 0,14	16,36 ^{aB} ± 0,05	17,71 ^{aC} ± 0,10	18,16 ^{aD} ± 0,27	18,56 ^{aE} ± 0,51	17,96 ^{aCD} ± 0,22
	po	14,96 ^{bA} ± 0,03	16,26 ^{bB} ± 0,01	17,34 ^{bC} ± 0,01	15,87 ^{bD} ± 0,20	15,50 ^{bE} ± 0,28	14,41 ^{bE} ± 0,11
C18:3 α-linolenowy n-3	przed	4,71 ^{aA} ± 0,05	4,76 ^{aB} ± 0,01	4,32 ^{aC} ± 0,03	4,32 ^{aC} ± 0,01	4,44 ^{aD} ± 0,03	5,22 ^{aE} ± 0,02
	po	3,82 ^{bA} ± 0,17	2,79 ^{bB} ± 0,04	2,29 ^{bC} ± 0,02	3,55 ^{bD} ± 0,01	1,97 ^{bE} ± 0,03	1,99 ^{bE} ± 0,02
C20:5 EPA n-3	przed	nW ^{aA}	0,17 ^{aB} ± 0,01	0,18 ^{aB} ± 0,01	0,23 ^{aC} ± 0,00	0,24 ^{aD} ± 0,00	0,22 ^{aE} ± 0,01
	po	nW ^{aA}	0,03 ^{bB} ± 0,00	0,02 ^{bC} ± 0,00	nW ^{bA}	nW ^{bA}	nW ^{bA}
C22:6 DHA n-3	przed	nW ^{aA}	0,17 ^{aB} ± 0,02	0,17 ^{aB} ± 0,01	0,23 ^{aC} ± 0,01	0,23 ^{aC} ± 0,01	0,23 ^{aC} ± 0,01
	po	nW ^{aA}	0,03 ^{bAB} ± 0,00	0,14 ^{bB} ± 0,01	0,17 ^{bB} ± 0,01	nW ^{bA}	0,20 ^{aB} ± 0,09

Wyniki przedstawiono jako średnią arytmetyczną +/- odchylenie standardowe z 6 niezależnych oznaczeń (n=6) dla każdego preparatu

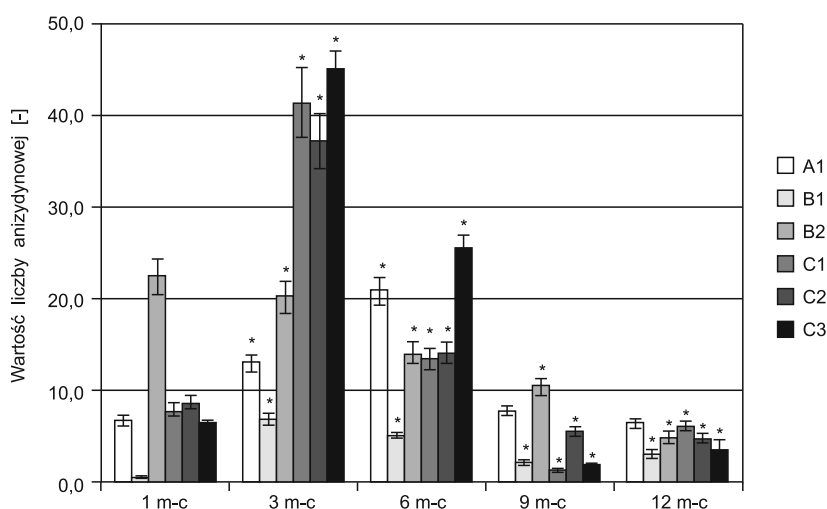
a-b – różnice statystycznie istotne pomiędzy zawartością WNKI w preparatach przed i po przechowywaniu (p<0,05)

A-F – różnice statystycznie istotne pomiędzy zawartością WNKI w poszczególnych preparatach (p<0,05)

nw – nie wykryto

produkty oksydacji. Zmiany zawartości wtórnych produktów oksydacji lipidów zawartych w mlekozastępczych preparatach do żywienia początkowego niemowląt, do których zaliczamy α - oraz β -alkenale, nienasycone aldehydy i ketony, określano za pomocą liczby anizydynowej.

Uzyskane wyniki świadczą o zróżnicowanej dynamice powstawania wtórnych produktów oksydacji (ryc. 1). Badane preparaty w znacznym stopniu różniły się pod względem liczby anizydynowej; po 1 m-cu przechowywania w preparacie B2 zawartość wtórnych produktów oksydacji była ponad 7-krotnie wyższa niż w preparatach A1, C1, C2 i C3. Zaobserwowane różnice były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$). Natomiast preparat B1 charakteryzował się najniższą liczbą anizydynową, niezależnie od czasu przechowywania (ryc. 1).



Ryc. 1. Zmiany liczby anizydynowej podczas przechowywania mlekozastępczych preparatów do żywienia początkowego niemowląt.

* różnice statystycznie istotne w stosunku do 1 miesiąca przechowywania preparatów ($p \leq 0,05$)

Fig. 1. Changes in anisidine value during storage of breast-milk substitutes.

Po 3 miesiącach przechowywania stwierdzono wyraźny, w niektórych preparatach aż 8–20-krotny, wzrost liczby anizydynowej, co jest wynikiem przekształceń wcześniej nagromadzonych nadtlenuków i wodoronadtlenków. Natomiast w trakcie dalszego przechowywania wykazano spadek zawartości wtórnych produktów, podobnie do zaobserwowanych we wcześniejszych badaniach (13) zmian zawartości nadtlenuków – pierwotnych produktów oksydacji lipidów. Świadczy to o niskiej stabilności zarówno pierwotnych, jak też wtórnych produktów oksydacji lipidów.

Potwierdzeniem powstawania wtórnych produktów oksydacji w trakcie przechowywania (zwłaszcza w ostatnim etapie) mlekozastępczych preparatów jest również, wykazany w naszych wcześniejszych badaniach, wyraźny wzrost zawartości związków reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS). Poziom TBARS w badanych preparatach po 12 m-cach przechowywania był średnio o 55% wyższy niż po

1, 3, 6 i 9 m-cach (13). Najwyższe stężenie TBARS w preparatach B1 i B2 wynika z większych ilości jedno- i wielonienasyconych KT (m.in. kwasu linolowego n-6 i α -linolenowego n-3), przy niższej zawartości KT nasyconych w porównaniu do preparatów C1–C3 (tab. I).

Ze względu na wysoką reaktywność, wtórne produkty oksydacji (aldehydy oraz ketony) mogą wchodzić w reakcje z grupami funkcyjnymi białek zawartych w mlekozastępczych preparatach do żywienia niemowląt. Wpływa to na spadek wartości odżywczej białek, a ponadto zmniejszoną rozpuszczalność i pogorszenie jakości sensorycznej (przebarwienia, nietypowe związki smakowo-zapachowe).

Uzyskane wyniki świadczą nie tylko o zakresie, ale także o dynamice procesów peroksydacji. Skutkiem peroksydacji lipidów podczas przechowywania preparatów do żywienia niemowląt był spadek zawartości WNKT; zawsze większy w przypadku kwasu α -linolenowego n-3 niż linolowego n-6 (tab. II). Powstające pierwotne produkty utleniania KT (nadtlenki i wodoronadtlenki) ulegają przekształceniom do wtórnych produktów oksydacji, co potwierdza gwałtowny wzrost liczby anizydynowej po 3 m-cach przechowywania (ryc. 1). Wyraźny spadek liczby anizydynowej w końcowym etapie przechowywania badanych preparatów, podobnie jak wykazany we wcześniejszych badaniach (13) wzrost stężenia TBARS, świadczy o tym, że wtórne produkty oksydacji (aldehydy, ketony) reagują z grupami funkcyjnymi białek.

Wyniki badań dowodzą, że po upływie roku stabilność oksydacyjna lipidów wyraźnie spada, mimo że zakupiony produkt jest jeszcze w okresie przydatności do spożycia. Być może ilość, a zwłaszcza aktywność przeciwutleniaczy (np. witamin: A, D, E i C, selenu) w preparatach mlekozastępczych po tak długim okresie przechowywania jest zbyt mała, żeby skutecznie zapobiegać autooksydacji WNKT, co manifestuje się spadkiem zawartości wielonienasyconych KT oraz zmianami liczby anizydynowej.

W naszych wcześniejszych pracach wykazano wysoki poziom pierwotnych produktów oksydacji (nadtlenków), mimo że frakcja lipidowa badanych preparatów zawierała głównie KT nasycone oraz jednonienasycone; przy zawartości WNKT w ilości 20–25% (13). Różnice w poziomie nadtlenków, w kolejnych miesiącach przechowywania (1, 3, 6, 9 i 12 miesięcy), wynikały z odmiennych proporcji KT nasyconych, jedno- i wielonienasyconych, a także zawartości i aktywności antyoksydantów (głównie witamin rozpuszczalnych w tłuszczu) w poszczególnych preparatach (13). Fakt, że już po zakupieniu preparatów liczba nadtlenkowa osiągnęła wartość w przedziale 30–65 mEq O₂/kg tłuszczu świadczy o znacznym zaawansowaniu procesów oksydacji. Przekracza to kilka- a nawet kilkunastokrotnie dopuszczalne normy FAO/WHO dla rafinowanych olejów roślinnych, które zgodnie z normami wynoszą do 5,0 mEq O₂/kg tłuszczu (7). Podczas kolejnych miesięcy przechowywania preparatów do żywienia niemowląt obserwowano spadek zawartości WNKT, wahania (spadek i wzrost) liczby nadtlenkowej i powstawanie znacznych ilości wtórnych produktów utleniania (13).

Z badań innych autorów również wynika, że poziom nadtlenków jest wartością labilną, co wskazuje, że nie może być wiarygodnym wskaźnikiem oceny stopnia zaawansowania procesów utleniania nienasyconych KT, zawartych w lipidach obecnych w żywności (14, 15). Bardziej wiarygodnych danych dostarcza analiza wtórnych produktów peroksydacji lipidów (11).

Fakt, że w ocenie bezpieczeństwa zdrowotnego preparatów do żywienia niemowląt uwzględnia się tylko jeden, ponadto nietrwały parametr, jakim jest liczba nadtlenkowa świadczy o całkowitej ignorancji zagrożeń dla zdrowia najmłodszych. Tym bardziej, że cytotoksyczność i genotoksyczność wtórnych produktów oksydacji lipidów znana jest od dawna (3). Mimo, iż preparaty do żywienia niemowląt uznawane są za żywność specjalnego przeznaczenia, ich bezpieczeństwo zdrowotne jest iluzoryczne.

WNIOSKI

1. Spadek zawartości wielonienasyconych KT podczas przechowywania wskazuje, że w żadnym z badanych preparatów do żywienia początkowego niemowląt nie zastosowano skutecznej osłony antyoksydacyjnej.
2. O braku stabilności oksydacyjnej badanych preparatów mlekozastępczych świadczy wysoki poziom wtórnych produktów oksydacji, reagujących z *p*-anizydyną.
3. Zarówno zmiany w składzie kwasów tłuszczowych, jak też wysoki poziom wtórnych produktów oksydacji lipidów nie tylko nie potwierdzają bezpieczeństwa zdrowotnego badanych preparatów, ale wskazują na zagrożenie dla zdrowia niemowląt.

G. Cichosz, H. Czczot, A. Ambroziak, M. Kowalska

THE INFLUENCE OF STORAGE ON THE PROFILE OF FATTY ACIDS IN BREAST-MILK SUBSTITUTES

Summary

Breast-milk substitutes are characterised by high fat content (21,0 – 27,7 g/100 g powder); They contain saturated (FA), monounsaturated (MUFA) and polyunsaturated (PUFA) fatty acids. The PUFAs are particularly susceptible to oxidation; the process of oxidation occurs exponentially in proportion to their content and number of unsaturated bonds. Therefore, oxidative stability of breast-milk substitutes is their most important health safety parameter.

Six commercial breast-milk substitutes were evaluated in terms of their fatty acid proportions, as well as the content of secondary products of fatty acids oxidation resulting from the disintegration of peroxide (anisidine value test) during storage. After 12 months of storage, a significant decrease in polyunsaturated fatty acid contents (always greater for the n-3 α -linolenic than the n-6 linoleic acid) and high levels of secondary products of lipid oxidation (reactive with para-anisidine) were observed. These results do not merely fail to confirm that the tested breast-milk substitutes are safe, but rather indicate that they may be harmful to infants' health.

PIŚMIENNICTWO

1. *Stolarczyk A.*: Tłuszcze w mlekach dla niemowląt i w wybranych preparatach leczniczych. *Pediatr Współcz. Gastroenterol. Hepatol i Żywnie Dziecka*, 1999; 1(2/3): 155-160. – 2. European Commission. Commission Directive 2006/141/EC of 22 December 2006 on infant formulae and follow-on formulae and amending Directive 1999/21/EC. – 3. *Esterbauer H.*: Cytotoxicity and genotoxicity of lipids – oxidation products. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1993; 57/suppl.: 779-786. – 4. *Niederhofer L.J., Daniels J.S., Rauzer C.A., Greene R.E., Marnett L.J.*: Malonaldehyde, a product of lipid peroxidation is mutagenic in human cells, *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 31426-31433. – 5. *Przybyszewski W.M., Kasperczyk J., Stokłosa K., Bkhiyan A.*: Uszkodzenia DNA powodowane przez produkty peroksydacji lipidów, *Postępy Hig. Med. Dośw.*,

2005; 59: 75-81. – 6. *Rodriguez-Alcalá L.M., García-Martínez M.C., Cachón F., Marmesat S, Alonso L, Marquez-Ruiz G* i in.; Changes in the lipid composition of powdered infant formulas during long-term storage. *J. Agric. Food Chem.*, 2007; 55: 6533-6538. – 7. Norma PN-A-86908: 2000 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Rafinowane oleje roślinne. – 8. *Martysiak-Żurowska D., Stołyhwo A.*: Szkodliwe dla zdrowia izomery trienowych kwasów tłuszczowych w mleku początkowym i następnym do żywienia niemowląt. *Żywn. Nauka Technol. Jakość*, 2005; 2(43): 108-117. – 9. *Toledo P., Andren A.*: Content of beta carotene in organic milk. *J. Food Agric. Environ.*, 2003; 1, 2: 122-125. – 10. Norma PN-EN ISO 5508:1996 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce – Analiza estrów metylowych kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej.

11. *White P. J.*: Conjugated diene, anisidine value, and carbonyl value analyses. in: *Methods to Assess the Quality and Stability of Oils and Fat-Containing Foods*, 1995: 159-176. – 12. *van der Merwe G. H., du Plessis L. M., Taylor J. R. N.*: Changes in chemical quality indices during long-term storage of palm-olein oil under heated storage and transport type conditions. *J. Sci. Food Agric.*, 2003; 84: 52-58. – 13. *Czczot H., Cichosz G., Ambroziak A.*: Poziom peroksydacji lipidów w mlekozastępczych preparatach do żywienia początkowego niemowląt. *Pol. Merk Lek.*, 2015; 38(224): 93-99. – 14. *Manglano P., Lagarda M.J., Silvestre M.D., Vidal C., Clemente G., Farré R.*: Stability of the lipid fraction of milk-based infant formulas during storage. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2005; 107: 815-823. – 15. *Semeniuc C., Gus C., Rotar A.M., Sociaci S., Suharoschi R., Laslo C.*: Effect of Storage Time on the Oxidative Status of Infant Formula, *Bull. UASVM Agriculture*, 2009; 66(2): 448-452.

Adres: 10-726 Olsztyn, Plac Cieszyński 1