

Agnieszka Białek, Andrzej Tokarz, Przemysław Wagner

WPŁYW PODAŻY W DIECIE OGRZEWANYCH I NIEOGRZEWANYCH OLEJÓW ROŚLINNYCH NA ZAWARTOŚĆ KWASU ŻWACZOWEGO (*cis*-9, *trans*-11 CLA) I PROFIL KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W SUROWICY SZCZURÓW.

Cz. II.

Katedra i Zakład Bromatologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik: prof. nadzw. dr hab. *A. Tokarz*

W pracy zbadano wpływ podaży w diecie olejów roślinnych poddanych działaniu wysokiej temperatury na profil kwasów tłuszczowych w surowicy krwi szczurów ze szczególnym uwzględnieniem sprzężonych dienów kwasu linolowego. Stwierdzono negatywny wpływ procesu ogrzewania na zawartość CLA w surowicy.

Hasła kluczowe: sprzężone dieny kwasu linolowego (CLA), kwas żwaczowy, kwasy tłuszczowe, peroksydacja.

Key words: conjugated linoleic acid (CLA), rumenic acid, fatty acids, peroxidation.

Nabycie umiejętności rozniecania ognia było jednym z najważniejszych osiągnięć z punktu widzenia sposobu odżywiania się człowieka. Dzięki obróbce termicznej uzyskano lepszą przyswajalność wielu składników odżywczych oraz możliwość wyeliminowania wielu zagrożeń bakteryjnych. Z drugiej jednak strony stosowanie ogrzewania prowadzi do strat w poziomach wielu cennych witamin oraz niekorzystnych zmian jakości zdrowotnej tłuszczów (1). Podczas utleniania zwłaszcza wielonienasyconych kwasów tłuszczowych zostaje oderwany atom wodoru od atomu węgla znajdującego się pomiędzy dwoma wiązaniami podwójnymi a powstałe w ten sposób rodniki alkilowe są stabilizowane m.in. poprzez przemieszczenie się wiązania podwójnego, co prowadzi do powstania układu wiązań sprzężonych. Długotrwałe ogrzewanie powoduje powstanie nadtlenków, hydronadtlenków, epoksydów oraz produktów polimeryzacji i cyklizacji kwasów tłuszczowych, które mogą uszkadzać struktury komórek, działać mutagennie i kancerogennie (2). W wyniku zmian związanych z peroksydacją lipidów dochodzi także do zmian właściwości sensorycznych i odżywczych tłuszczu. Sprzężone dieny kwasu linolowego (CLA – ang. Conjugated Linoleic Acid) są grupą izomerów kwasu linolowego w łańcuchu węglowym, w których występują właśnie sprzężone wiązania. Kwasy te mogą powstawać na drodze wolnorodnikowej oksydacji kwasu linolowego (3), ale ich głównym naturalnym źródłem w diecie są mleko i jego przetwory oraz mięso zwierząt poligastycznych, gdzie zawarte CLA powstają w wyniku działania enzymów bak-

terii symbiotycznych oraz aktywności enzymu Δ^9 – desaturazy (4). Wykazano dla tej grupy związków wielokierunkowe działania prozdrowotne, np. przeciwnowotworowe, przeciwmiażdżycowe, redukujące masę tkanki tłuszczowej, poprawiające przyrost masy mięśniowej, stymulujące wzrost organizmu (m.in. poprzez przyrost masy kostnej) itd. (5).

Celem przeprowadzonych badań było porównanie profilu kwasów tłuszczowych w surowicy krwi szczurów, których dietę wzbogacano w ogrzewane lub nieogrzewane oleje roślinne. Szczególną uwagę poświęcono zawartości sprzężonych dienów kwasu linolowego.

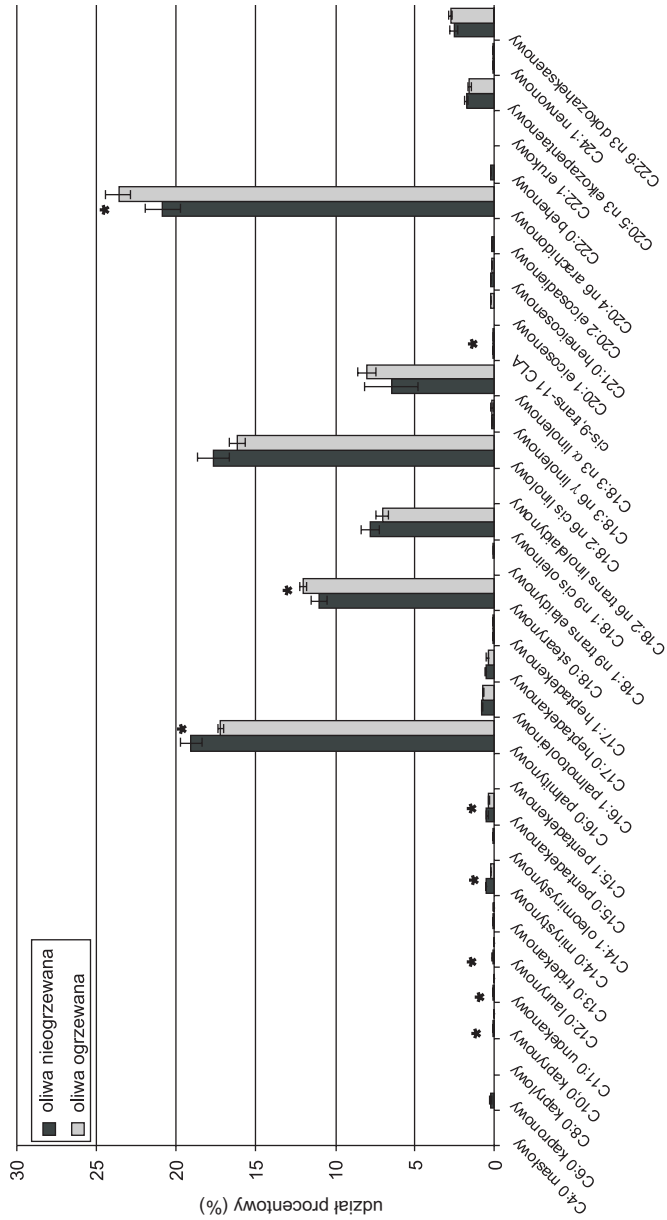
MATERIAŁ I METODY

Badania, dla których uzyskano akceptację Komisji Etycznej ds. badań na zwierzętach Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, prowadzono na samcach szczurów *Wistar*. Zwierzęta pochodziły ze zwierzętarni Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. M. Mossakowskiego PAN w Warszawie. Zostały one podzielone na 2 grupy, z których jedna otrzymywała od 70 dnia życia za pomocą sondy dożołądkowej olej roślinny, odpowiednio rzepakowy, słonecznikowy lub oliwę, nieogrzewany w ilości 0,4 ml, zaś druga grupa otrzymywała analogiczne oleje ogrzewane w temperaturze 200°C przez 10 min.

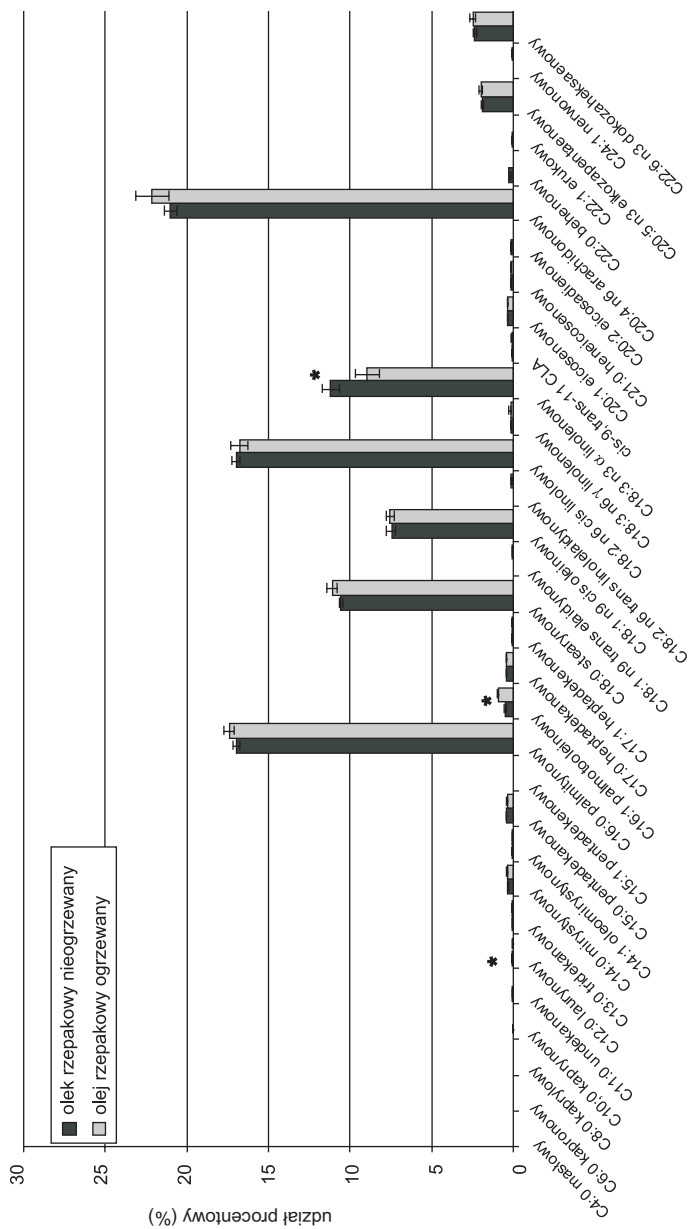
Profil kwasów tłuszczowych oznaczono w surowicy krwi, którą pozyskano poprzez odwirowanie świeżo pobranej krwi przy 3000 obr/min przez 10 min i przechowywano do momentu badania w temperaturze -60°C. Każdą analizę przygotowano w trzech równoległych powtórzeniach. Profil kwasów tłuszczowych oznaczono, po uprzednim przeprowadzeniu ich w estry metylowe, zgodnie z procedurą zaproponowaną przez *Bondia-Pons* i współpr. (6), metodą chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną stosując kolumnę Rtx – 2330 (40 m × 0,18 mm, 0,1 μm grubość filmu). Warunki analizy chromatograficznej zaprezentowano w cz. I. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą programu Statistica 8.0 PL (StatSoft Polska).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

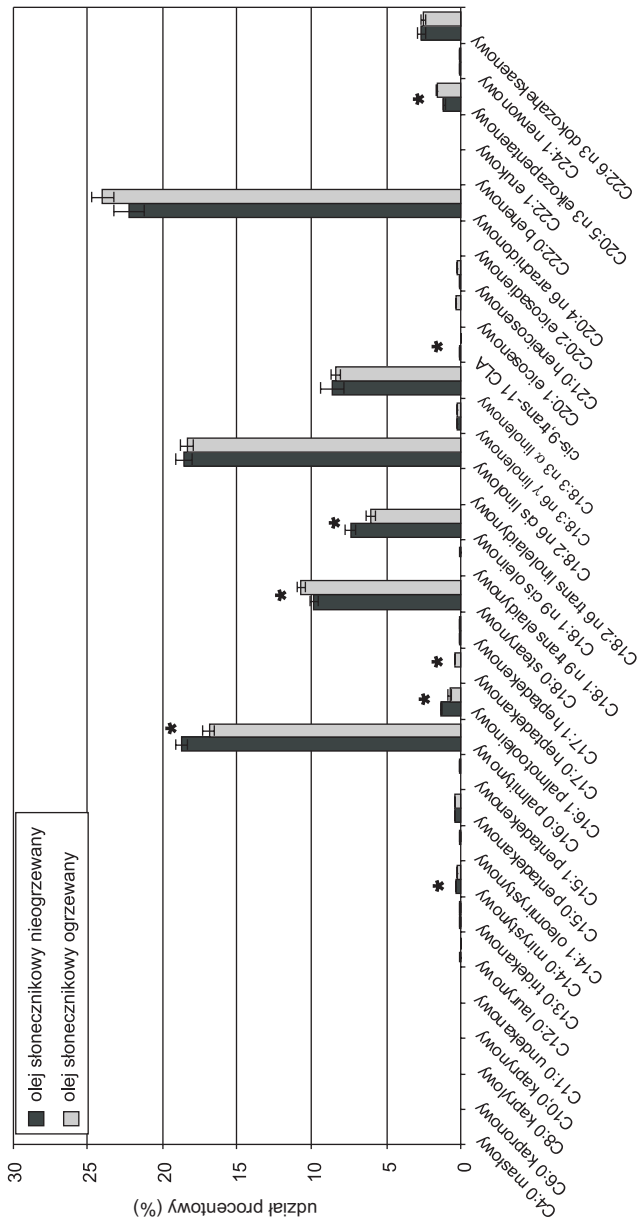
Spośród oznaczonych kwasów tłuszczowych główny udział w puli kwasów tłuszczowych obecnych w surowicy krwi we wszystkich badanych grupach miały kwasy: C20:4 n-6 arachidonowy, C16:0 palmitynowy, C18:2 n-6 linolowy, C18:0 stearynowy, C18:1 n-9 (*cis*) oleinowy i C18:3 n-3 α-linolenowy, choć ich procentowy udział różnił się, niekiedy istotnie pomiędzy grupami (ryc. 1, 2, 3). Niezależnie jednak od stosowanej suplementacji podstawowym kwasem tłuszczowym, którego obecność stwierdzano w surowicy był kwas arachidonowy (>20%). Uzyskane przez nas wyniki różnią się od uzyskiwanych przez innych autorów, w pracach których zarówno w surowicy szczurów, jak i w surowicy ludzkiej głównym oznaczanym kwasem tłuszczowym był kwas linolowy, zaś kwas arachidonowy stanowił od ok. 7 do ok. 14% wszystkich kwasów tłuszczowych (6, 7). Jest to spowodowa-



Ryc. 1. Porównanie profilu kwasów tłuszczowych w surowicy szczurów suplementowanych oliwą ogrzewaną i nieogrzewaną.
 Fig. 1. Comparison of fatty acids profile in serum of rats supplemented with heated and non-heated olive oil.



Ryc. 2. Porównanie profilu kwasów tłuszczowych w surowicy szczurów suplementowanych olejem rzepakowym ogrzewanym i nieogrzewanym.
 Fig. 2. Comparison of fatty acids profile in serum of rats supplemented with heated and non-heated rape oil.



Ryc. 3. Porównanie profilu kwasów tłuszczowych w surowicy szczurów suplementowanych olejem słonecznikowym ogrzewanym i nieogrzewanym.

Fig. 3. Comparison of fatty acids profile in serum of rats supplemented with heated and non-heated sunflower oil.

ne prawdopodobnie dużym spożyciem kwasu linolowego we wszystkich grupach dietetycznych. Kwas linolowy, który należy do grupy niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych, musi być dostarczany w diecie. Stanowi on substrat do produkcji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych rodziny n-6, spośród których niezwykle istotne znaczenie ma kwas arachidonowy, gdyż powstające na drodze jego przemian eikozanoidy przyczyniają się m.in. do proliferacji komórek nowotworowych, stymulują zmiany miażdżycowe oraz pogłębiają reakcje alergiczne (8). We wszystkich analizowanych grupach kwas linolowy stanowił podstawowy składnik diety, gdyż jego zawartość w tłuszczu wyizolowanym z paszy Labofeed H wynosiła ok. 37%, a zastosowana suplementacja, np. olejem słonecznikowym dodatkowo zwiększała jego udział w diecie (do ponad 47%) co razem stymulowało syntezę kwasu arachidonowego (dane zawarte w cz. I). Również zastosowanie obróbki termicznej wpływa na poziomy tego kwasu w surowicy. We wszystkich grupach spożywających ogrzewane oleje średnie zawartości kwasu arachidonowego były wyższe w stosunku do grup spożywających oleje nieogrzewane, choć jedynie w grupie otrzymującej oliwę różnice te były istotne statystycznie. We wszystkich analizowanych układach dietetycznych oznaczono znacznie wyższe poziomy kwasu α -linolenowego niż w analogicznych badaniach (6, 7). W grupach suplementowanych olejem rzepakowym wynosiły one aż ok. 10%. Było to, podobnie jak w przypadku kwasu linolowego, wynikiem jego dużej zawartości w paszy. Nasze przypuszczenia potwierdzają oznaczenia dotyczące zawartości głównego metabolitu tego kwasu w surowicy, tj. kwasu eikozapentaenowego, który miał znacznie większy udział w całkowitej puli kwasów tłuszczowych w surowicy niż wykazali to cytowani wcześniej autorzy.

We wszystkich analizowanych układach dietetycznych obserwowano negatywny wpływ procesu ogrzewania na zawartość jedno- i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w surowicy, co może wskazywać na nasilenie procesów peroksydacyjnych. Jednocześnie obserwowano wzrost udziału procentowego kwasów nasyconych w całkowitej puli kwasów tłuszczowych w surowicy (ryc. 1, 2, 3).

We wszystkich badanych grupach dietetycznych stwierdzono obecność kwasu *cis*-9, *trans*-11 CLA w surowicy. Procentowy udział tego kwasu w całkowitej puli kwasów tłuszczowych była niewielki jednak wyraźnie zróżnicowany i wynosił od $0,04 \pm 0,01\%$ w grupie suplementowanej ogrzewanym olejem słonecznikowym do $0,12 \pm 0,001\%$ w grupie suplementowanej nieogrzewanym olejem rzepakowym. We wszystkich analizowanych układach dietetycznych surowica szczurów spożywających oleje ogrzewane charakteryzowała się niższymi poziomami kwasu żwaczowego w porównaniu do grup, których dieta była wzbogacana w oleje nie poddane obróbce termicznej. W grupach spożywających oliwę i olej słonecznikowy różnice te były istotne statystycznie (prawdopodobieństwa testowe wynosiły odpowiednio $p = 0,000067$ w przypadku oliwy i $p = 0,000001$ w przypadku oleju słonecznikowego). Pojawienie się sprzężonych dienów jest dowodem rozpoczynającego się procesu peroksydacji lipidów (9). Uzyskane przez nas wyniki nie odzwierciedlają jednak faktu nasilenia tych przemian. Oznaczanie poziomów sprzężonych dienów, w tym CLA, nie powinno być zdaniem niektórych stosowane jako wskaźnik zachodzących procesów peroksydacji lipidów (10), co potwierdzają uzyskane przez nas wyniki.

WNIOSKI

1. Suplementacja diety ogrzewanymi olejami roślinnymi prowadzi do spadku poziomów nienasyconych kwasów tłuszczowych i wzrostu udziału nasyconych kwasów tłuszczowych w surowicy krwi.

2. Proces ogrzewania negatywnie wpływa na zawartość sprzężonych dienów kwasu linolowego w surowicy krwi.

A. Białek, A. Tokarz, A. Wiśniowska

EFFECTS OF HEATED AND NON-HEATED VEGETABLE OILS DIETARY SUPPLY ON RUMENIC ACID (*CIS*-9, *TRANS*-11 CLA) AND FATTY ACIDS PROFILE IN RATS' SERUM. PART II.

Abstract

Conjugated Linoleic Acids have many beneficial activities e.g. anticancerogenic, antiatherogenic, and antiobesity.

The aim of our study was to estimate the impact of olive oil, sunflower oil and rape oil (heated and non-heated) supply in diet of rats on fatty acids profile in their serum, especially on rumenic acid content.

An increased consumption of heated oils decreased *cis*-9, *trans*-11 CLA concentration and increased arachidonic acid amount. It also negative influenced unsaturated fatty acids content in rats' serum.

Diet supplementation with heated vegetable oils can modify rumenic acid and other fatty acids concentration in serum.

PIŚMIENICTWO

1. Gertig H., Przysławski J.: Bromatologia, PZW. – 2. Bartosz G.: Druga twarz tlenu, PWN Warszawa, 2003. – 3. Bartnikowska E., Obiedziński M.W., Grześkiewicz S.: Sprzężone dieny kwasu linolowego – niedawno wykryte związki o działaniu antykancerogennym występujące w mleku i jego przetworach, Przegląd Mleczarski, 1999; 3: 86-92. – 4. Tanaka K.: Occurrence of conjugated linoleic acid in ruminant products and its physiological functions. Animal Science Journal, 2005; 76, 291-303. – 5. Bhattacharya A., Banu J., Rahman M., Causey J., Fernandes G.: Biological effects of conjugated Linoleic acids in health and disease. Journal of Nutritional Biochemistry, 2006; 17: 789-810. – 6. Bondia-Pons I., Molto-Puigmarti C., Castellote A. I., Lopez-Sabater M. C.: Determination of conjugated Linoleic acid in human plasma by gas chromatography, Journal of Chromatography A, 2007; 1157: 422-429. – 7. Zlatanos S.N., Laskaridis K., Sagredos A.: Conjugated linoleic acid content of human plasma. Lipids in Health and Disease, 2008; 7: 34, <http://www.lipidworld.com/content/7/1/34>. – 8. Jelińska M.: Kwasy tłuszczowe – czynniki modyfikujące procesy nowotworowe, Biul. Wydz. Farm WUM, 2005, 1. – 9. Lutnicki K., Szpringer E., Marciniak A.: Zaburzenia równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej u szczurów wywołane działaniem etanolu. Medycyna Wet, 2006; 62(6): 683-685. – 10. Halliwell B., Chirico S.: Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. Am J Clin Nutr, 1993; 57: 715-724.

Adres: 02-097 Warszawa, ul. Banacha 1.