

ELŻBIETA BARTNIKOWSKA, MIECZYŚLAW W. OBIEDZIŃSKI

NIENASYCONE KWASY TŁUSZCZOWE Z RODZINY OMEGA-3.
CZ. I. STRUKTURA, ŹRÓDŁA, OZNACZANIE, PRZEMIANY W
ORGANIZMIE

UNSATURATED FATTY ACIDS OMEGA-3.
PART I. STRUCTURE, SOURCES, DETERMINATION, METABOLISM

Instytut Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego,
Dział Monitoringu Żywności i Ochrony Środowiska,
02-532 Warszawa, ul. Rakowiecka 36,
Kierownik: prof. dr hab. M.W. Obiedziński

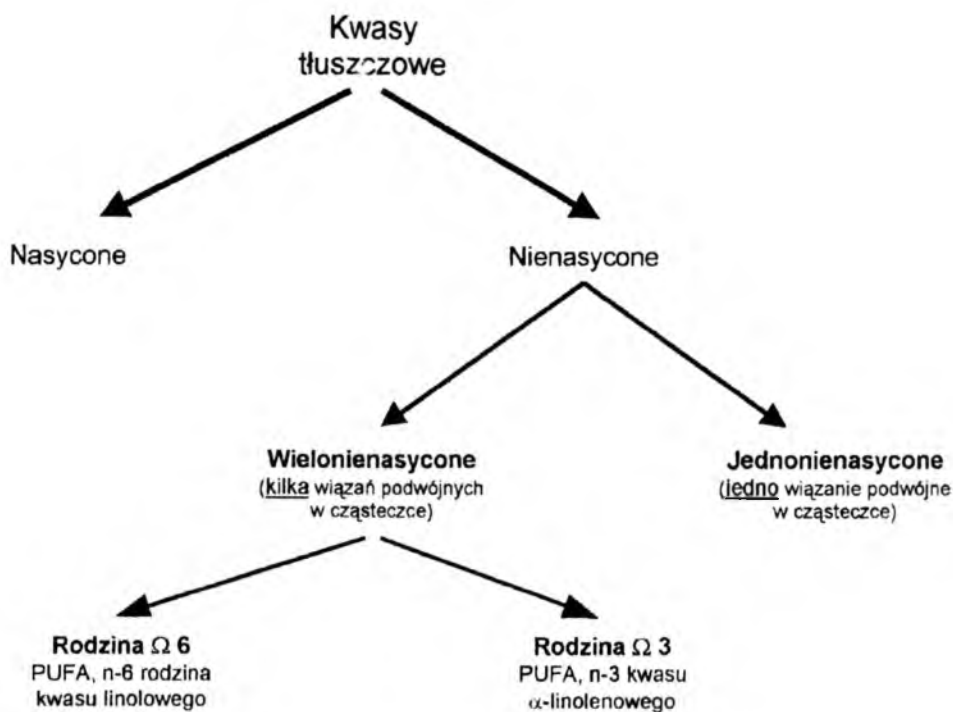
Podano strukturę, źródła, oznaczanie oraz przemiany wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA, n-3) zachodzące w organizmie

WSTĘP

Już ponad 60 lat temu Burr i Burr [15] wykazali, że u szczurów karmionych dietą beztłuszczową następowało zahamowanie wzrostu i reprodukcji oraz rozwijały się choroby nerek, stłuszczenie wątroby, zapalenie skóry i nekroza ogona. Jak podaje Holman [15] pierwszą próbę zbadania, czy długoterminowe spożywanie ubogotłuszczowej diety może być powodem *dermatitis* u ludzi przeprowadził sam na sobie Brown w roku 1937. W tym doświadczeniu jednakże nie udało się dowieść, żeby u osoby dorosłej spożywanie bardzo ubogotłuszczowej diety przez 1 miesiąc prowadziło do wystąpienia zapalenia skóry.

Podział kwasów tłuszczowych przedstawiono na ryc. 1.

W prowadzonych od połowy lat 50-tych badaniach doświadczalnych na zwierzętach oraz obserwacjach klinicznych u ludzi udowodniono, że przyczyną wystąpienia i rozwoju zapalenia skóry i innych chorób jest brak w diecie nienasyconych kwasów tłuszczowych, w cząsteczkach których są dwa lub więcej wiązań podwójnych. Obserwacje u niemowląt i dzieci, odżywianych sztucznie mieszankami opartymi na odtłuszczonym mleku krowim oraz parenteralnie – mieszankami beztłuszczowymi wykazały, że w przypadkach braku albo niedoboru w diecie PUFA z rodzin n-6 i n-3 zmniejszają się przyrosty masy ciała, występują zmiany skórne (zgrubienie, suchość i łuszczenie się skóry), oraz powstają i rozwijają się zmiany degeneracyjne w nerkach, płucach i w wątrobie; zwiększa się ponadto przemiana materii oraz zaburzeniu ulega równowaga wodna w organizmie, jak również zmniejsza się odporność na choroby zakaźne [3, 14, 24, 29]. Wyniki badań biochemicznych wykazały zaś, że w puli kwasów tłuszczowych osocza istotnie zmniejsza się udział PUFA z rodzin n-6 i n-3.



Ryc. 1. Podział kwasów tłuszczowych.
The classification of fatty acids

Kliniczne objawy równoczesnego niedoboru PUFA z rodzin n-6 i n-3 w organizmie zmniejszają się, a nawet ustępują po zastosowaniu diety, w której 2% (lub więcej) zapotrzebowania energetycznego pokrywa kwas linolowy (PUFA, n-6). Kliniczne objawy niedoboru w organizmie jedynie PUFA, n-3 są bardziej subtelne. Obejmują one zmiany skórne odporne na suplementację diety kwasem linolowym, zaburzenia w prawidłowości widzenia oraz neuropatię obwodową (Tabela I).

Kwas stearynowy (C18:0) w organizmie człowieka i zwierząt może ulec desaturacji do kwasu oleinowego (C18:1, n-9). Jednakże organizm człowieka i zwierzęcia nie jest w stanie syntetyzować ani kwasu linolowego (C18:2, n-6) ani kwasu α -linolenowego (C18:3, n-3). Aby więc zapewnić prawidłowy rozwój i zdrowie, konieczne jest dostarczanie tych macierzystych form wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z pożywieniem i dlatego nazwano je niezbędnymi nienasyconymi kwasami tłuszczowymi (NNKT). W szczególnych przypadkach kwas dokozaheksaenowy (C22:6, n-3) i kwas γ -linolenowy (C18:3, n-6) oraz arachidonowy (C20:4, n-6) mogą być również uważane za niezbędne [13].

Konieczność dostarczania macierzystych form PUFA z rodziny n-6 i n-3 z pożywieniem wynika z tego, że pełnią one w organizmie wiele bardzo ważnych

Tabela 1. Charakterystyka kliniczna i biochemiczna niedoborów wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny n-6 i n-3
Clinical and biochemical characteristics of deficiencies of polyunsaturated fatty acids ω 6 and ω 3

Niedobory wielonienasyconych kwasów tłuszczowych	Objawy kliniczne	Wskaźniki biochemiczne
Z rodziny n-6	Zahamowanie wzrostu i reprodukcji, choroby skóry, stłuszczenie wątroby, nadmierne pragnienie	Zmniejszone stężenie w osoczu kwasu C18:2, n-6 i kwasu C20:4, n-6; zwiększone stężenie w osoczu kwasu C20:3, n-9 tylko w przypadku zmniejszenia stężenia kwasów z rodziny n-3
Z rodziny n-3	Prawidłowy wzrost i reprodukcja, brak objawów skórnych, ograniczona zdolność uczenia się, zaburzenia widzenia, nieprawidłowości w elektroretinogramie, nadmierne pragnienie	Zmniejszone stężenie w osoczu kwasu C18:3 i kwasu C22:6 oraz zwiększone stężenie w osoczu kwasu C22:4, n-6 i kwasu C22:5, n-6; zwiększone stężenie w osoczu kwasu C20:3, n-9 tylko w przypadku równoczesnego zmniejszenia stężenia kwasów z rodziny n-6

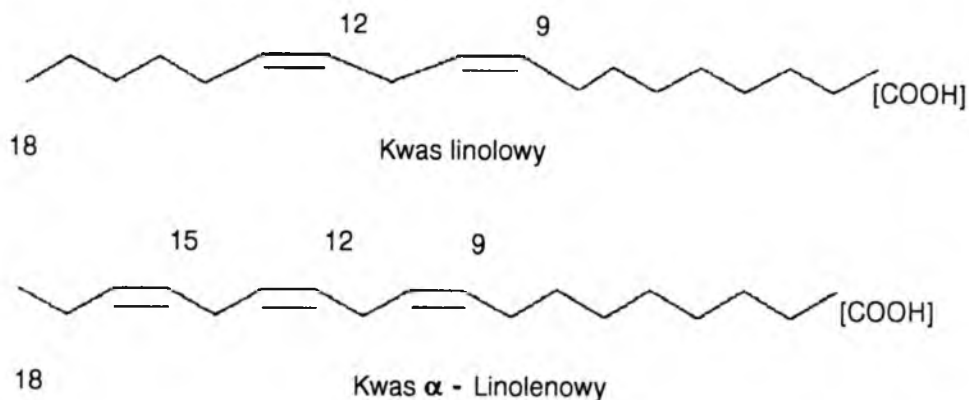
funkcji. Kwasy należące do rodziny n-6 mogą być w organizmie tylko częściowo zastępowane przez kwasy należące do rodziny n-3, i odwrotnie.

Nienasycone kwasy tłuszczowe występujące w organizmie człowieka dzielimy na trzy rodziny określane jako *omega-3* (n-3), *omega-6* (n-6) i *omega-9* (n-9) w zależności od położenia pierwszego wiązania podwójnego, licząc od grupy metylenowej. Dla określenia struktury nienasyconych kwasów tłuszczowych podaje się zwykle skrócony opis cyfrowy, w którym pierwsza liczba określa ile atomów węgla jest w łańcuchu węglowodorowym kwasu, cyfra po dwukropku określa liczbę wiązań podwójnych w łańcuchu, a ostatnia cyfra po literze n określa pozycję podwójnego wiązania, licząc od grupy metylenowej (Ryc. 2).

W celu bardziej precyzyjnego określenia budowy wielonienasyconych kwasów tłuszczowych stosuje się dodatkową numerację po znaku Δ , określającą położenie wiązań podwójnych, licząc od grupy karboksylowej, np. zapis C18:3, n-3 (Δ 9, 12, 15) oznacza kwas α -linolenowy; zapis C20:5, n-3 (Δ 5, 8, 11, 14, 17) – kwas eikozapentaenowy (EPA); a – C22:6, n-3 (Δ 4, 7, 10, 13, 16, 19) – kwas dokozaheksaenowy (DHA).

Według materiałów z konferencji “Highly unsaturated fatty acids in nutrition and disease prevention”, która odbyła się w Barcelonie w 1996 r., kamieniami milowymi w badaniach nad PUFA, n-3 były następujące odkrycia [1]:

- 1918 r. Aron przedstawił hipotezę, że tłuszcz jest niezbędnym składnikiem diety dla zapewnienia prawidłowego rozwoju i zachowania zdrowia rosnących zwierząt.
- 1927 r. Evans i Burr wykazali, że niedostateczne pokrycie zapotrzebowania na tłuszcze zakłóca prawidłowy rozwój i reprodukcję zwierząt doświadczalnych.



Ryc. 2. Struktura nienasyconych kwasów tłuszczowych z rodzin n-3 i n-6.
The structure of polyunsaturated fatty acids ω 6 and ω 3

- 1929 r. *Burr i Burr* wykazali, że podaż kwasu linolowego na poziomie 1–2% zapotrzebowania energetycznego powoduje cofnięcie klinicznych objawów niedoboru NNKT u szczurów karmionych dietą beztłuszczową.
- 1935 r. *Von Euler* wykrył, że w organizmie występują 20-węglowe związki, które nazwał prostaglandynami.
- 1935 r. *Rabinovitch* stwierdził, że miażdżycy nie występuje u Eskimosów zamieszkujących na obszarach w pobliżu bieguna północnego.
- 1953 r. *Keys* wykazał, że poprzez zamianę tłuszczu nasyconego w diecie tłuszczami nienasyconymi można zmniejszyć stężenie lipidów w osoczu krwi.
- 1959 r. *Schaefer*, w badaniach sekcyjnych stwierdził, że u Eskimosów zmarłych w wieku powyżej 60 lat nie występują zmiany miażdżycowe.
- 1964 r. *Bergstrom* i wsp. stwierdzili, że kwas arachidonowy jest prekursorem prostaglandyn.
- 1971–78 r. *Bang i Dyerberg* w badaniach epidemiologicznych u Eskimosów z Grenlandii stwierdzili, że w tej populacji stężenie lipidów w osoczu jest znacznie mniejsze niż u Europejczyków; występowanie objawów klinicznych miażdżycy – niewielkie oraz czas krwawienia – przedłużony. Badacze ci uważali, że stwierdzane objawy kliniczne i biochemiczne są wynikiem wysokiego spożycia kwasu eikozapentaenowego (EPA).
- 1976 r. *Moncada, Vein* i wsp. wykryli prostacyklinę, która przeciwdziała agregacji płytek krwi. W dalszych badaniach autorzy ci stwierdzili, że EPA wywiera działanie antyagregacyjne, i przypuszczali, że EPA wpływa na wytwarzanie prostacykliny.
- 1981 r. W badaniach “Western Electric Study” przeprowadzonych w USA wykazano, że ryzyko zawału mięśnia sercowego jest związane z wartościami profilu tłuszczowego diety tj. zależy od wielkości spożycia cholesterolu pokarmowego oraz kwasów tłuszczowych nasyconych i wielonienasyconych.

- 1982 r. *Holman* i wsp. w obserwacjach klinicznych 6-letniej dziewczynki, która spożywała dietę niedoborową w PUFA, n-3 stwierdzili, że niedobór kwasu α -linolowego odpowiada za występujące u niej zaburzenia w prawidłowości widzenia oraz rozwoju mózgu.
- 1985 r. *Kromhout* i wsp. opisali odwrotną (ujemną) zależność między spożyciem ryb i umieralnością z powodu zawału mięśnia sercowego stwierdzaną w 20 lat później.
- 1989 r. *Burr* i wsp. opisali, że u osób, które przeżyły zawał mięśnia sercowego, i które spożywały 200–400 g tłustych ryb/tydzień, po 2 latach umieralność z powodu choroby serca była o 29% mniejsza aniżeli u osób, które po przebyciu zawału serca nie włączyły produktów rybnych do swojej diety.
- 1990 r. *Uauy* i wsp. wykazali, że długołańcuchowe, bardziej nienasycone kwasy tłuszczowe z rodziny n-3 są niezbędne dla prawidłowego rozwoju siatkówki u wcześniaków.
- 1992 r. *Farquharson* i wsp. stwierdzili, że u niemowląt karmionych sztucznie, poziom DHA w mózgu był istotnie mniejszy aniżeli u niemowląt karmionych mlekiem matki.

ŹRÓDŁA WIELONIASYCONYCH KWAŚÓW TŁUSZCZOWYCH Z RODZINY N-3

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe syntetyzowane są przede wszystkim w roślinach. Substratem dla syntezy kwasów tłuszczowych jest grupa acetylowa związana z CoA, którą cechuje znaczna energia transferu ze względu na makroenergetyczny charakter wiązania tioestrowego. W komórkach roślinnych acetylo CoA może powstawać w wyniku:

- bezpośredniej syntezy z octanu i HS-CoA z udziałem ATP i enzymu – syntetazy acetylo CoA,
- rozpadu cytrynianu do szczawiooctanu i acetylo CoA,
- przemian cukrów w procesie glikolizy, tj. dokładnie w reakcji oksydacyjnej dekarboksylacji pirogronianu.

W latach 60-tych ustalono, że formą reaktywną produktów pośrednich w syntezie kwasów tłuszczowych jest tioester nie z CoA, lecz z białkiem przenoszącym acyle – ACP (acyl carrier protein). ACP wchodzi w skład kompleksu enzymów syntetazy kwasów tłuszczowych, gdzie pełni funkcję przenośnika produktów pośrednich.

W plastydach komórek roślinnych z acetylo CoA przy udziale dekarboksylazy wytwarzany jest malonylo CoA. W komórkach roślinnych syntetazy kwasów tłuszczowych wyspecjalizowane są w kondensacji 8 lub 9 reszt malonylowych, czyli w syntezie łańcuchów węglowodorowych o 16 do 18 atomach węgla; przy czym jednak w komórkach roślinnych mogą być wytwarzane również kwasy tłuszczowe nawet o 30 atomach węgla w łańcuchu. Wydłużanie łańcucha kwasów tłuszczowych może przebiegać według dwóch mechanizmów:

- mitochondrialnego, w którym wykorzystywane są jednostki dwuwęglowe acetylo-S-CoA,

oraz

– mikrosomalnego, w którym wykorzystywany jest malonylo CoA.

Wprowadzanie podwójnych wiązań do łańcucha kwasu tłuszczowego wymaga udziału tlenu i zredukowanych nukleotydów nikotynoamido-adeninowych. Enzymy katalizujące tę reakcję (desaturazy) działają zgodnie z mechanizmem typowym dla oksygenaz mieszanych. Są one powiązane z błonami cytoplazmatycznymi. Eliminacja dwóch atomów wodoru przy wytwarzaniu wiązania podwójnego zachodzi ze ścisłą stereospecyficznością. W przeniesieniu elektronów na cząsteczkę tlenu (O₂) bierze udział flavoproteina oraz ferredoksyna. W przypadku powstawania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych eliminacja wodorów odbywa się kolejno; w czasie tego procesu kwasy tłuszczowe pozostają związane z ACP. Wytworzony kwas oleinowy (C18:1, n-9) przekształcany jest w kwas linolowy (C18:2, n-6) w retikulum endoplazmatycznym. Z kolei w chloroplastach kwas linolowy ulega przekształceniu w kwas α -linolenowy (C18:3, n-3).

Oleje zawarte w ziarnach roślin zbożowych bogate są w kwas linolowy (C18:2, n-6), zaś w skład puli kwasów tłuszczowych olejów z warzyw zielonych wchodzi znacznie więcej kwasu α -linolenowego (C18:3, n-3). W puli kwasów tłuszczowych oleju z siemienia lnianego, oleju rzepakowego (canola) oraz oleju sojowego jest odpowiednio około 57, 8 i 7% kwasu α -linolenowego. Oleje roślinne praktycznie nie zawierają długołańcuchowych PUFA, n-3.

W tabeli II podano procentowy udział najważniejszych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w wybranych olejach roślinnych i rybich wg *Drozdowskiego* [7].

Tabela II. Procentowy udział najważniejszych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w wybranych olejach roślinnych i rybich wg *Drozdowskiego* [7]
The percentage of the most important polyunsaturated fatty acids in selected vegetable and fish oils according to *Drozdowski* [7]

Rodzaj oleju	Procentowy udział kwasu w puli kwasów tłuszczowych			
	C18:2, n-6	C18:3, n-3	C20:5, n-3	C22:6, n-3
Oliwa z oliwek	4-15	0,3-0,7	-	-
Olej sojowy	48-58	8-10	-	-
Olej słonecznikowy	20-75	0,2-0,7	-	-
Olej rzepakowy OO	18-30	6-14	-	-
Olej śledziowy	0,9-2,0	0,4-4,0	10-14	4-11

PUFA, n-3 pochodzenia morskiego są syntetyzowane przez eutroficzne bakterie, mikroalgi i protozoa, wchodzące w skład fito- i zooplanktonu morskiego. Algi morskie zdolne są nie tylko do przekształcania kwasu linolowego w kwas α -linolenowy, ale i do wytwarzania długołańcuchowych PUFA, n-3: kwasu eikozapentaenowego – EPA (C20:5, n-3) i dokosaheksaenowego – DHA (C22:6, n-3). Plankton, krewetki, ryby, foki i wieloryby oraz produkty z nich wytwarzane są kolejnymi ogniwami łańcucha dostarczania długołańcuchowych PUFA, n-3 do organizmu człowieka. Oleje rybne, szczególnie z ryb żyjących w zimnych akwenach są najbogatszym naturalnym źródłem PUFA, n-3.

Oleje rybne – to głównie produkty uboczne w przetwórstwie rybnym; pozyskiwane są one z niektórych narządów ryb, np. wątroby. Oleje rybne przeznaczone dla celów spożywczych muszą być dobrze oczyszczone, szczególnie z pozostałości metali i innych skażeń środowiska, a następnie odszlamowane, wybielone i odwonione.

Światowa produkcja oleju rybiego wynosi ok. 1500 ton rocznie, a największym jego producentem są USA, Norwegia, Chile i Peru. Olej z sardynek, śledzia – menhandena oraz anchovy jest najlepszym źródłem PUFA, n-3.

Glony i plankton roślinny syntetyzują DHA i inne długołańcuchowe PUFA, n-3, stąd też tłuszcz rybi jest bogaty w te kwasy, chociaż ich zawartość zmienia się w szerokich granicach w zależności od gatunku ryb, ich wielkości, jak również od miejsca połowu i pory roku; przy czym w największych ilościach występują one w rybach z zimnych akwenów. Oleje z menhandena oraz sardynek zawierają znacznie więcej EPA niż DHA, podczas gdy w innych, np. oleju z anchovy, proporcja tych kwasów jest prawie jednakowa. Zawartość PUFA, n-3 w oleju rybnym, nawet wśród tych samych gatunków ryb zależy od miejsca i pory połowu. Kwas dokozaheksaenowy (DHA) najprawdopodobniej reguluje lepkość krwi, stąd też jego zawartość w rybach żyjących w zimnych akwenach o temperaturze 0-4°C jest większa.

Badania kliniczne wykazały, że wzbogacenie diety w PUFA, n-3 daje korzystne efekty w leczeniu występujących powszechnie w krajach zachodnich chorób układu krążenia. Dawka PUFA, n-3 dająca korzystne efekty terapeutyczne wynosi ok. 1,2 grama na dobę, przy czym proporcja kwasu arachidonowego do sumy EPA i DHA powinna wynosić około 5 [12].

Ekstrakcja PUFA, n-3 z olejów rybnych, czy tusz ryb jest bardzo kosztowna. Podobnie kosztowna jest metoda ekstrakcji PUFA, n-3 z zooplanktonu, głównie z kryla. Często więc pokrycie kosztów terapii PUFA, n-3 przekracza możliwości finansowe chorych. Dlatego poszukuje się wciąż nowych źródeł i technologii pozyskiwania PUFA, n-3 dla zastosowania ich w celach terapeutycznych.

Prowadzone obecnie badania koncentrują się głównie na:

- wyborze i produkcji biosyntetyzatora PUFA, n-3,
- wyborze i hodowli biokoncentratora PUFA, n-3, lepszego aniżeli ryby,
- pozyskiwanie PUFA, n-3 nie tylko w formie triglicerydów, ale i innych związków lipidowych związanych ze strukturami błon komórkowych.

Glony syntetyzujące duże ilości PUFA, n-3 należą do różnych gatunków, głównie *Cryptocodium condii*, *Porphyridium cruentum*, *Phaeractylum tricorutum*. W warunkach hodowli sztucznej produkowane jest ok. 20 mg biomasy algowej/1 litr/dobę, tj. ok 3 mg PUFA, n-3/1 litr/dobę [25].

Fracja lipidowa pochodząca z biomasy algowej może być jednakże skażona zarówno metabolitami bakteryjnymi, jak i produktami metabolicznymi wytwarzanymi przez algi hodowane w warunkach sztucznych, które w organizmie człowieka wywierają działania toksyczne. Dlatego frakcja lipidowa uzyskiwana z biomasy algowej powinna być dokładnie oczyszczona i poddana uprzednio badaniom toksykologicznym.

W heterotropowej produkcji długołańcuchowych PUFA z rodziny n-3 wykorzystywane są mikroorganizmy bogate w te kwasy, które są izolowane z przewodu pokarmowego ryb i namnażane przy użyciu konwencjonalnych pożywek, takich samych jak dla produkcji antybiotyków [25].

PUFA, n-3 pozyskiwane metodami ekstrakcyjnymi z olejów rybich występują głównie w postaci triglicerydów. Nowe metody umożliwiają pozyskiwanie PUFA, n-3 również w innych formach [25]:

- soli wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, np. soli arginiowych, dobrze tolerowanych, o wysokiej biodostępności, i dodatkowo dostarczających argininę,
- estrów etylowych,
- modyfikowanych triglicerydów,
- pochodnych lecytyny i izolecytyny.

Obecnie prowadzone są prace nad udoskonaleniem nowych technologii otrzymywania PUFA, n-3 oraz oceny kliniczne działania PUFA, n-3 uzyskanych przy pomocy nowych procedur. Przed opublikowaniem wyników tych badań trudno jest przewidzieć, czy znajdą one większe zastosowanie aniżeli PUFA, n-3 w formie triglicerydów, uzyskiwane metodami tradycyjnymi.

Już w roku 1934 *Cruickshank* zaobserwował, że poprzez zmiany w składzie diety drobiu można zmieniać skład puli kwasów tłuszczowych jaj i tuszek drobiowych [18]. Bardzo spektakularne przykłady, w jaki sposób skład diety wpływa na skład puli kwasów tłuszczowych ryb i jaj kurzych przedstawił w obszernej pracy przeglądowej *Simopoulos* [28]. Z zestawienia tego wynika np., że w puli kwasów tłuszczowych pstrąga żyjącego w warunkach naturalnych PUFA, n-3 stanowią średnio 30%, a PUFA, n-6 – średnio 3%; zaś w puli kwasów tłuszczowych pstrąga hodowanego w warunkach sztucznych PUFA, n-3 stanowią średnio 20%, a PUFA, n-6 – średnio 9%. W skład puli kwasów tłuszczowych węgorza żyjącego w warunkach naturalnych wchodzi 14% PUFA, n-3 i 3% PUFA, n-6, zaś w puli kwasów tłuszczowych węgorza hodowanego PUFA, n-3 stanowią 12%, a PUFA, n-6 – 6% [28]. Ten sam autor porównał również zawartość poszczególnych kwasów tłuszczowych w żółtkach jaj kurzych pochodzących z produkcji "przemysłowej", powszechnie dostępnych na rynku w USA oraz pochodzących z indywidualnych gospodarstw rolniczych w Grecji. Z zestawienia tego wynika, że np. zawartość PUFA, n-3 w żółtkach jaj dostępnych na rynku w USA wynosi średnio 1,73 mg/g żółtka, zaś w żółtkach jaj dostępnych na rynku w Grecji – 17,66 mg/g żółtka [28].

Poprzez zmiany w składzie paszy drobiu można uzyskiwać jaja nie tylko o zwiększonej zawartości PUFA, n-3, ale i zwiększonej zawartości wit. A, β -karotenu, wit. D i E oraz niektórych składników mineralnych, np. jodu i żelaza. Obecnie na rynkach krajów zachodnich, głównie USA i Japonii, dostępne są jaja wzbogacone w PUFA, n-3, wit. D i E oraz żelazo i jod. Z badań ankietowych dotyczących preferencji konsumentów w USA wynika, że większość respondentów (ponad 70%) gotowa jest zapłacić znacznie drożej za jaja wzbogacone w PUFA, n-3, i zakupić ten produkt [21].

Jaja i tuszki drobiowe wzbogacone w PUFA, n-3 można uzyskać poprzez karmienie ptaków paszą wzbogaconą w te kwasy. Źródłem PUFA, n-3 mogą być nasiona roślin oleistych (siemienia lnianego, rzepaku dwuzerowego "00"), oleje roślinne, mączka rybna albo oleje rybne. *Ferrier* i wsp. [10] stwierdzili, że po dodaniu do paszy kur niosek 10 lub 20% rozdrobnionego siemienia lnianego, zawartość kwasu α -linolenowego wynosiła odpowiednio 261 i 527 mg/jajo, a kwasu dokozaheksaenowego – 81 i 87 mg/jajo. W grupie kur karmionych paszą bez dodatku siemienia zawartość kwasu α -linolenowego sięgała średnio 28 mg/jajo, a DHA – 51 mg/jajo.

Zbyt duży udział nasion oleistych w diecie drobiu zmniejsza wykorzystanie paszy. Dlatego poleca się, aby dodatek do paszy bogatego źródła PUFA, n-3, np. siemienia lnianego nie przekraczał 8%; ześrutowanego ziarna rzepaku – 5%; mączki rybnej – 4%; a oleju rybiego – 1,5%. W przypadku większego dodatku do paszy któregokolwiek z tych źródeł PUFA, n-3 mogą pojawić się niepożądane efekty uboczne, jak np. zmniejszona nieśność niosek lub zmniejszenie przyrostów masy ciała brojlerów [18].

W celu zabezpieczenia wielonienasyconych kwasów tłuszczowych przed utlenieniem, zarówno w czasie przechowywania paszy, jak i w organizmie ptaków oraz w czasie przechowywania jaj i tuszek, pasza wzbogacona w PUFA, n-3 powinna być również wzbogacana w przeciwutleniacze. *Kulasek* i wsp. [18] podają, że tego typu pasza powinna zawierać ok. 200 mg octanu tokoferolu/kg paszy.

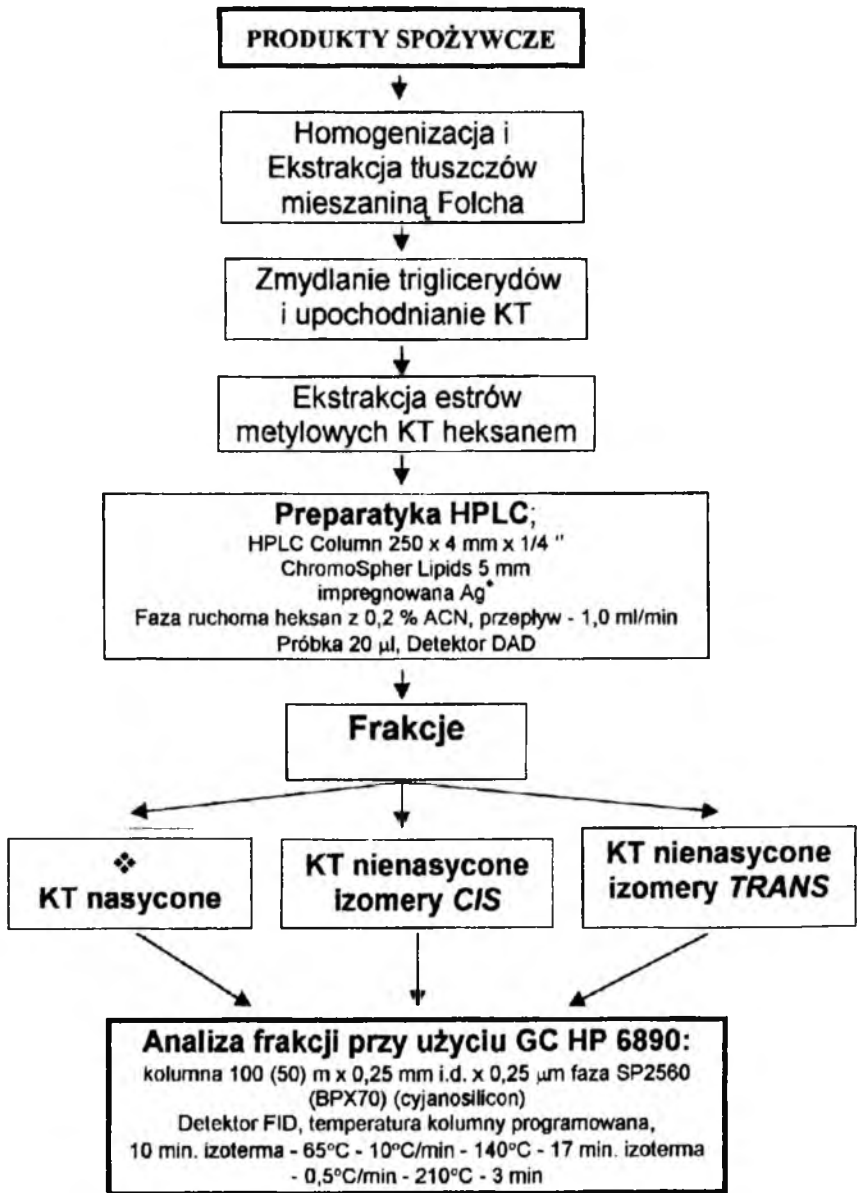
OZNACZANIE SKŁADU PULI KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W ŻYWNOŚCI

Ekstrakty tłuszczowe z produktów naturalnych stanowią mieszaninę różnorodnych klas lipidów. Zazwyczaj tłuszcze wyodrębnia się z matrycy poprzez ekstrakcję rozpuszczalnikiem organicznym. Najczęściej stosuje się mieszaninę *Folcha* (chloroform: metanol) w proporcji 2:1. Wybór techniki ekstrakcyjnej może zależeć jednakże od klasy tłuszczów będącej przedmiotem analizy. Ekstrakcja rozpuszczalnikiem organicznym ze względu na czasochłonność i koszty coraz częściej zastępowana jest ekstrakcją na fazie stałej (SPE) lub ekstrakcją cieczą w stanie nadkrytycznym, tj. dwutlenkiem węgla [8, 23, 26].

W przypadku analizy składu puli kwasów tłuszczowych konieczne jest zastosowanie metod chromatograficznych umożliwiających ich wstępny rozdział. W tym celu najczęściej stosuje się chromatografię cienkowarstwową (TLC), kolumnową wysokociśnieniową chromatografię cieczą (HPLC) lub ich połączenie. Dla wyodrębnienia frakcji o różnorodnym stopniu nasycenia stosuje się frakcjonowanie przy zastosowaniu kolumn z jonami srebra. Technika wstępnego frakcjonowania ma zastosowanie np. przy analizie izomerów *cis* i *trans* nienasyconych kwasów tłuszczowych (Ryc. 3).

Oznaczanie składu kwasów tłuszczowych przeprowadza się obecnie najczęściej poprzez analizę pochodnych metylowych kwasów tłuszczowych przy zastosowaniu wysokorozdzielczej chromatografii gazowej z kolumnami kapilarnymi (HRGC) oraz uniwersalnego detektora płomieniowo-jonizacyjnego (FID). Efektywność rozdziału chromatograficznego zależy od długości kolumny kapilarnej oraz od zastosowanej fazy stacjonarnej. W analizie składu puli kwasów tłuszczowych najczęściej wykorzystywane są kolumny pakowane z fazami stacjonarnymi polibursztynianowymi lub cyjanosilikonowymi osadzonymi na silanizowanych nośnikach [8, 23, 26]. Do obliczania wyników analiz najczęściej wykorzystywana jest metoda normalizacji wewnętrznej ze standardem wewnętrznym – kwasem tłuszczowym o nieparzystej liczbie atomów węgla w łańcuchu węglowodorowym.

W tabeli III przykładowo przedstawiono zawartość kwasu linolowego oraz α -linolenowego w produktach mięsnych produkcji krajowej, dostępnych na rynku w roku 1996 [2]. Badania te wykonano w ramach prac Monitoringu Jakości Gleb, Roślin, Produktów Rolniczych i Spożywczych prowadzonych w Instytucie Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego w Warszawie, obejmujących m.in. oznaczanie składu kwasów tłuszczowych w produktach spożywczych.



Ryc. 3. Schemat postępowania w analizie kwasów tłuszczowych z uwzględnieniem izomerów *cis-trans* nienasyconych kwasów.

Outline of the analysis of fatty acids including the determination of *trans* and *cis* isomers

Skład kwasów tłuszczowych oznaczano metodą wysokorozdzielczej chromatografii gazowej stosując kolumny kapilarne o długości 50 metrów, średnicy wewnętrznej 0,2

Tabela III. Procentowy udział kwasu linolowego oraz α -linolenowego w produktach mięsnych produkcji krajowej dostępnych na rynku w roku 1996 [2]
The percentage of linoleic and α -linolenic acids in meat products manufactured and available on Polish market in 1996

Rodzaj produktu	% udział kwasu C18:2 (n-6)		% udział kwasu C18:2 (n-6)	
	średnio	zakresy	średnio	zakresy
Wędliny	6,0	0,3–8,4	0,5	0,2–1,0
Mortadela	6,8	4,9–10,0	0,5	0,1–0,9
Parówki	6,0	4,9–7,3	0,5	0,1–0,7
Paszтет	6,1	2,9–7,3	0,6	0,2–1,0
Paszтетowa	5,0	1,5–6,8	0,5	0,1–1,7
Salceson	6,0	4,7–7,2	0,5	0,2–0,6
Szynka	8,2	4,7–13,5	0,4	0,2–1,1

mm z fazą polarną BPX7 o filmie 0,25 μm , przy temperaturze programowanej (przyrosty temp. rzędu 0,5–1,0°C/min).

Z przeprowadzonych analiz wynika, że udział kwasu linolowego oraz α -linolenowego w puli kwasów tłuszczowych produktów mięsnych produkcji krajowej waha się w bardzo szerokich granicach. Skład kwasów tłuszczowych w tłuszczu zapasowym i okołonarządowym zależy, jak wspomniano wcześniej, od sposobu żywienia zwierząt. Jednakże skład puli kwasów tłuszczowych w produktach mięsnych zależy głównie od ich składu recepturowego.

PRZEMIANY WIELONIENASYCONYCH KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W ORGANIZMIE CZŁOWIEKA

Skład puli kwasów tłuszczowych w organizmie człowieka zależy w dużym stopniu od składu kwasów tłuszczowych pożywienia. Kwasy nasycone i jednonienasycone stanowią zwykle powyżej 85% puli wszystkich kwasów tłuszczowych w tłuszczu zapasowym, zaś spośród kwasów tłuszczowych nasyconych w przeważającej części występują kwasy tłuszczowe zawierające w łańcuchu węglowodorowym do 18 atomów węgla [17]. W skład puli kwasów tłuszczowych lipidów tworzących struktury błoniaste w przeważającej części występują wielonienasycone kwasy tłuszczowe o 18 do 24 atomów węgla w łańcuchu węglowodorowym [17].

W krwinkach czerwonych lipidy tworzą głównie struktury błoniaste. Skład puli kwasów tłuszczowych w erytrocytach odzwierciedla również skład puli kwasów tłuszczowych długoterminowo spożywanej diety. W doświadczeniach na zwierzętach wykazano ponadto, że skład kwasów tłuszczowych w krwinkach czerwonych jest ściśle skorelowany ze składem kwasów tłuszczowych w tkance nerwowej i w siatkówce [4, 5]. Dlatego profil kwasów tłuszczowych w krwinkach czerwonych może służyć jako wskaźnik składu puli kwasów tłuszczowych w całym organizmie.

W puli kwasów tłuszczowych fosfatydyloaminy zawartej w krwinkach czerwonych człowieka długołańcuchowe PUFA stanowią średnio 51%, a w puli kwasów tłuszczowych

fosfatydyloseryny zawartej w krwinkach czerwonych człowieka długołańcuchowe PUFA stanowią średnio 47% [11].

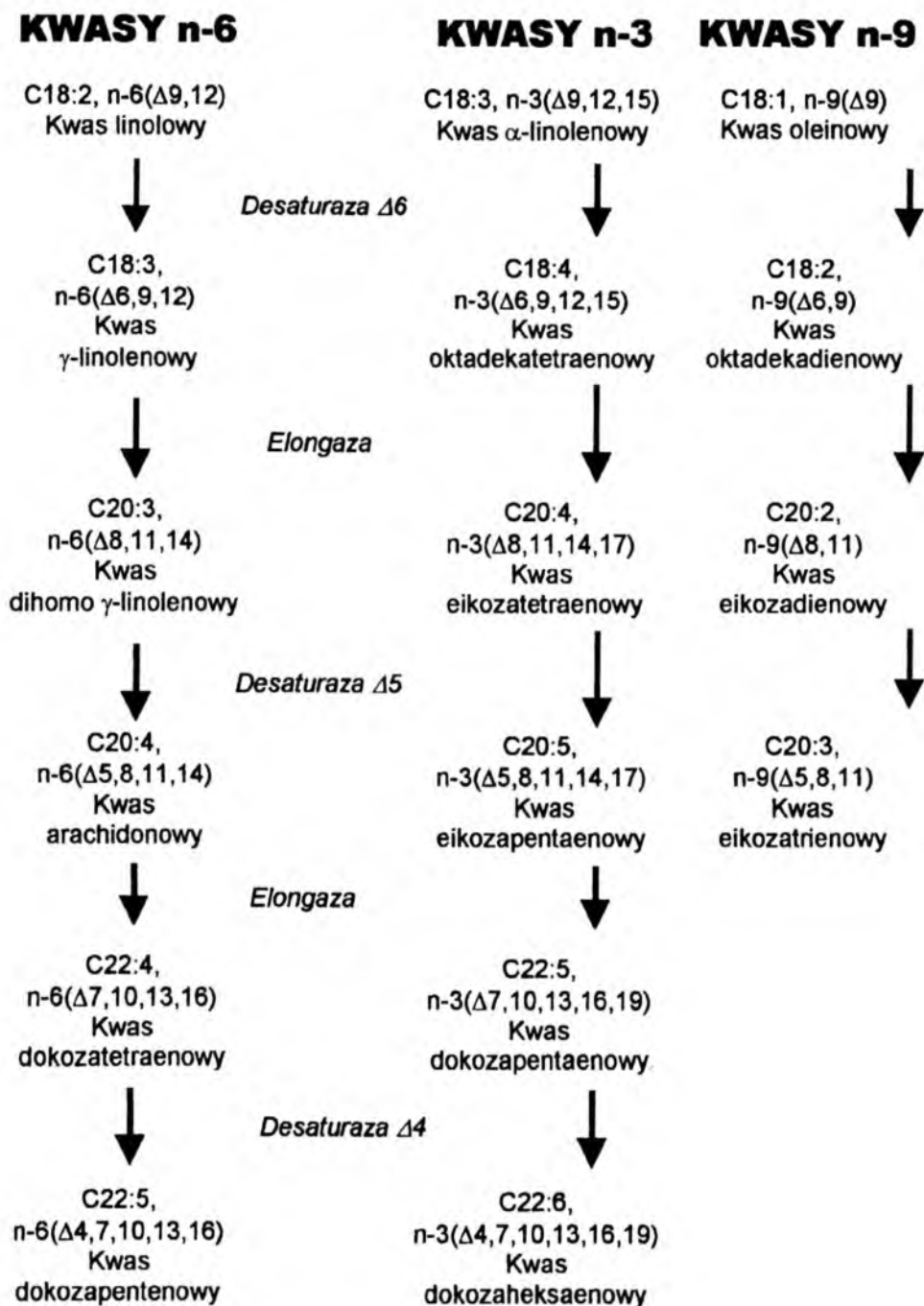
Holman [15] zestawiał wyniki badań nad składem puli kwasów tłuszczowych osocza u członków populacji drastycznie różniących się składem zwyczajowo spożywanej diety. Z zestawienia tego wynika, że procentowy udział sumy PUFA, n-3 w puli kwasów tłuszczowych osocza zmniejszał się w następującej kolejności: Nigeryjczycy (13,4%) > Szwedzi z Północnej Szwecji (13,1%) > Keralici z Indii (10,4%) > Szwedzi z Południowej Szwecji (8,68%) > Australijczycy (7,35%) > mieszkańcy Minnesoty nie będący wegetarianami (5,53%) > wegetarianie z Minnesoty (5,48%) > Aborygeni (4,69%). Procentowy udział sumy PUFA, n-6 wchodzących w pulę kwasów tłuszczowych osocza zmniejszał się następująco: mieszkańcy Minnesoty nie będący wegetarianami (42,1%) > wegetarianie z Minnesoty (41,0%) > Australijczycy (39,9%) > Aborygeni (37,7%) > Szwedzi z Południowej Szwecji (37,4%) > Szwedzi z Północnej Szwecji (35,8%) > Nigeryjczycy (30,3%) > Keralici z Indii (29,2%).

Macierzyste formy wielonienasyconych kwasów tłuszczowych dostarczane do organizmu człowieka i zwierząt wraz z pożywieniem podlegają wielu przemianom, polegającym na naprzemiennym wprowadzaniu do cząsteczki kolejnych wiązań podwójnych przez desaturazy $\Delta 6$, $\Delta 5$ i $\Delta 4$ oraz wydłużaniu łańcucha węglowodorowego o dwa dodatkowe atomy węgla przy udziale enzymu wydłużającego – elongazy (Ryc. 4). Należy zaznaczyć, że z powodu niewykształcenia układów enzymatycznych, niektóre zwierzęta mięsożerne (lew, kot) nie mogą przekształcać macierzystych form wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w ich długołańcuchowe, bardziej nienasycone pochodne [6].

W 1950 r. *Widmer* i *Holman* [31] zaobserwowali, że u szczurów z niedoborem NNKT, kwas linolowy jest prekursorem kwasu arachidonowego w tkankach. *Mohrhauer* i wsp. [22] w 1967 r. wykazali, że przekształcanie kwasu linolowego przez mikrosomy w hodowli *in vitro* hamują inne kwasy tłuszczowe obecne w medium inkubacyjnym. Przemiany kwasu α -linolenowego zostały opisane po raz pierwszy przez *Klenka* i *Morhauera* [16] w roku 1960, a kwasu linolowego – przez *Marcela* i wsp. [20] w roku 1968. Przebieg powstawania długołańcuchowych, bardziej nienasyconych kwasów tłuszczowych w organizmie ilustruje poniższy schemat (Ryc. 4).

Przypuszcza się, że PUFA n-6 i n-3 są metabolizowane przez identyczne systemy enzymatyczne. Pomimo to, żaden z członków tych dwóch rodzin nie może być przekształcony w kwas należący do innej rodziny. Jak wynika z badań *in vitro* na hepatocytach, PUFA z rodziny n-3 i n-6 konkurują o enzymy desaturacyjne, przy czym desaturazy $\Delta 4$ i $\Delta 6$ chętniej wykorzystują PUFA, n-3 niż PUFA, n-6. W przypadkach wysokich stężeń kwasu linolowego hamowana jest konwersja kwasu α -linolenowego do kwasu oktadekatetraenowego (C18:4, n-3). Stąd też wysoka proporcja kwasu linolowego do α -linolenowego w organizmie najprawdopodobniej jeszcze bardziej pogłębia niedobory długołańcuchowych PUFA, n-3, jak np. kwasu dokozaheksaenowego [5].

Desaturaza $\Delta 6$ jest częścią systemu cytochromu P-450. Aktywatorami tego enzymu są: magnez, cynk, pirydoksyna oraz insulina, a inhibitorami: glikokortykoidy, katecholaminy, cholesterol, nienasycone kwasy tłuszczowe o konfiguracji *trans*, etanol oraz niesterydowe leki przeciwzapalne. Aktywność desaturazy $\Delta 6$ zmniejszona jest również

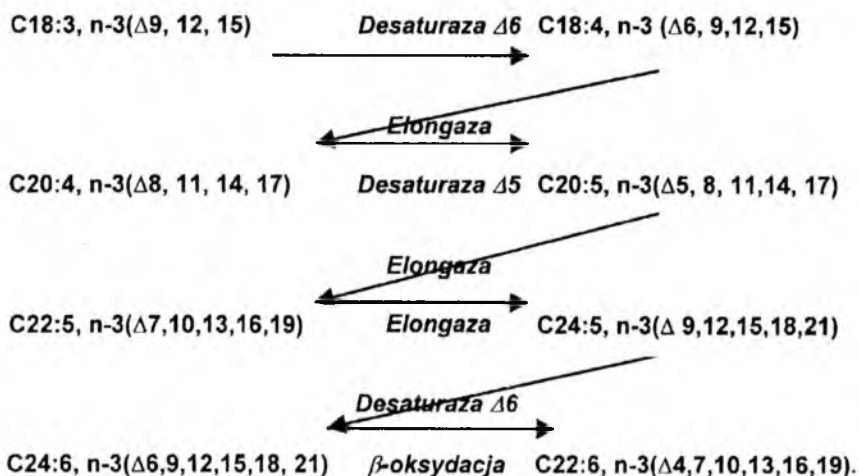


Ryc. 4. Oksydacyjna desaturacja kwasów tłuszczowych.
Oxidative desaturation of fatty acids.

u osób spożywających dietę ubogoenergetyczną, jak również dietę nie zapewniającą właściwej podaży białka. Aktywność tego enzymu zmniejsza się wraz z wiekiem oraz w cukrzycy. Proces desaturacji jest także upośledzony w czasie infekcji wirusowych, w trądziku młodzieńczym oraz w zespole napięcia przedmiesiączkowego [19].

W przypadku desaturazy $\Delta 5$, czynnikiem ograniczającym może być genetycznie uwarunkowana jej mała aktywność. U wcześniaków, osób z nadciśnieniem tętniczym i u diabetyków, przekształcanie kwasu α -linolenowego w kwas eikozapentaenowy i dokozaheksaenowy jest ograniczone [19]. Dlatego osoby cierpiące na te schorzenia powinny spożywać więcej EPA i DHA niż osoby zdrowe.

Do niedawna przypuszczano, że β -oksydacja jest procesem, dzięki któremu w organizmie zachodzi jedynie spalanie kwasów tłuszczowych. Ostatnio wykazano jednak, że β -oksydacja włączona jest również w proces powstawania kwasu dokozaheksaenowego z kwasu α -linolenowego. Przypuszcza się, że powstawanie kwasu dokozaheksaenowego z kwasu α -linolenowego w peroksosomach przebiega według następującego schematu, a ostatni etap tego procesu nazwano "retrokonwersja" [27]:



Desaturacja kwasów tłuszczowych z rodziny n-9 jest hamowana przez kwasy z rodziny n-3. W przypadku niedoboru kwasu α -linolenowego (oraz linolowego) wzmagają się biosynteza kwasu eikozatrienowego $C20:3, n-9(\Delta 5, 8, 11)$ z kwasu oleinowego ($C18:1, n-9$) (Ryc. 4). Dlatego zwiększenie udziału kwasu eikozatrienowego w puli kwasów tłuszczowych osocza lub krwinek czerwonych wskazuje na niedobór PUFA, n-3 w organizmie. Jeżeli w diecie jest brak albo niedobór kwasu α -linolenowego, wówczas w procesach oksydatywnej desaturacji zwiększa się wytwarzanie kwasu dokozapentaenowego DPA ($C22:5, n-6$).

Przekształcanie macierzystych form PUFA, n-6 i PUFA, n-3 w kwasy długołańcuchowe, bardziej nienasycone, jest ściśle kontrolowane. Dlatego objawy kliniczne niedoboru kwasu arachidonowego ($C20:4, n-6$), oraz eikozapentaenowego ($C20:5, n-3$) i dokozaheksaenowego ($C22:6, n-3$) nie zawsze mogą zostać usunięte przez suplementację diety ekwiwalentnymi dawkami macierzystych form wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny n-6 oraz n-3 [5].

Kwas eikozatrienowy, podobnie jak kwas arachidonowy, wchodzi w skład fosfolipidów struktur błoniastych umożliwiając ich fizykochemiczną stabilizację poprzez współdziałanie z α -tokoferolem. Zgodnie z teorią stabilizowania błon, łańcuch boczny α -tokoferolu układa się wzdłuż kwasu nienasyconego wchodzącego w skład fosfolipidów tworząc z nim precyzyjną konformację. W utworzonym kompleksie polarne grupy fosfolipidu i α -tokoferolu znajdują się po tej samej stronie i mogą uczestniczyć w polarnych interakcjach zwiększających stabilność kompleksu [13].

Kwas eikozatrienowy może również ulegać oksygenacji do aktywnych metabolitów, np. kwasu 12-hydroksyeikozatrienowego, który wykazuje aktywność tromboksanową; nie może być on jednak prekursorem prostaglandyn.

W procesie wydłużania łańcucha węglowodorowego biorą udział dwa układy enzymatyczne: biotynozależna karboksylaza acetylo CoA, przekształcająca acetylo CoA w malonylo CoA, oraz mitochondrialne i mikrosomalne systemy przyłączające dwie jednostki węglowe z malonylo CoA. Elongazy nie są kluczowymi enzymami w biosyntezie długołańcuchowych bardziej nienasyconych kwasów tłuszczowych, natomiast w stanach niedoboru biotyny, enzymem ograniczającym ich powstawanie może być karboksylaza acetylo CoA [13].

W części II artykułu omówiona będzie rola PUFA, n-3 oraz wykorzystanie ich do suplementacji diety w celach leczniczych.

E. Bartnikowska, M.W. Obiedziński

UNSATURATED FATTY ACIDS OMEGA-3. PART I. STRUCTURE, SOURCES, DETERMINATION, METABOLISM

Summary

Fats covered approximately 22% of energy requirements in diets of ancient human being, and simultaneously the value of ratio of polyunsaturated fatty acids (PUFA) to saturated (SFA) was estimated as 1.4 and the proportion of PUFA ω 6 to PUFA ω 3 was 1:1. During the last twenty thousands years the composition of human diets was changing dramatically due to economical, culture and social changes. However, there are indicators that the ratio of PUFA ω 6 to PUFA ω 3 in human diet was unchanging until beginning of XIX century.

Dramatic technological breakthrough in food technology during last 100 years caused radical changes in the structure and quality of food consumption. It is estimated that at present fats cover about 40% of energy requirements in diets of people in developed countries, and the value of ratio of dietary PUFA ω 6 to PUFA ω 3 is 25:1 and even 50:1.

Epidemiological nutritional studies indicate that in populations which consume inadequate amount of PUFA ω 3 most often occur the disorders on atherosclerotic and immunological background as compared to populations which consume diets with appropriate covering the requirements of dietary PUFA ω 3. Therefore, it could be supposed that increased occurrence so-called civilization disorders is the result of increased consumption of highly manufactured food with changed composition (and also to increased fats consumption and decreased consumption of PUFA ω 3). This hypothesis is confirmed by the observations that the supplementation of diets with PUFA ω 3 gives the desirable results in the treatment of many disorders.

The main objective of this two parts paper is to characterize the polyunsaturated fatty acids, their metabolic path ways as well as the possibilities of the use of the diet supplementation with PUFA ω 3 in the treatment and prophylaxis of some metabolic disorders. The structure, sources, determination and pathways in organism are discussed in part I, and the role of

eicosanoids originating from respective PUFA ω 3 and advantages of the supplementation the diet with PUFA are discussed in part II.

PIŚMIENNICTWO

1. Anon. *Omega-3 and omega-6 PUFA; basics*. Proceedings of the International Conference „Highly Unsaturated Fatty Acids in Nutrition and Disease Prevention” Barcelona, Spain, 4–6 November 1996.
- 2. Bartnikowska E., Grześkiewicz St., Obiedziński M.W., Jankowski P.S., Cieślak B., Karpiński R., Cozel A.: Zawartość kwasu linolowego oraz α -linolenowego w wybranych produktach mięsnych. Referaty i streszczenia komunikatów prezentowanych podczas IV Ogólnopolskiego Seminarium Chromatograficznego „Chromatografia i inne techniki separacyjne w eko-analityce”. Toruń 16–19 września 1997. Zakład Chemii Środowiska, Wydział Chemii UMK. str. 50.
- 3. Caldwell M.D., Johnsson H.T., Othersen H.B.: Essential fatty acid deficiency in an infant receiving prolonged parenteral alimentation. *J. Pediatr.* 1972, 81, 894–898.
- 4. Carlson S.E., Carver J.D., House S.G.: High fat diets varying in ratios of polyunsaturated to saturated fatty acid and linoleic to linolenic acid: a comparison of rat neural and red cell membrane phospholipids. *J. Nutr.* 1986, 116, 718–726.
- 5. Connor W.E., DeFrancesco C.A., Connor S.L.: N-3 fatty acids from fish oil. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1993, 683, 16–34.
- 6. Drevon C.A.: Marine oils and their effects. *Scand. J. Nutr.* 1992, 36, Supp. 26, 38–45.
- 7. Drozdowski B.: Lipidy. W: Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności. Red. B. Drozdowski. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne. Warszawa 1994, str. 167–233.
- 8. Duchateau G.S.M.J.E., van Osten H.J., Vasconcellos M.A.: Analysis of *cis* and *trans* fatty acids isomers in hydrogenated and refined vegetable oils by capillary gas-liquid chromatography. *JAOCS* 1996, 75, 275–282.
- 9. Eaton S.B., Konner M.: Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications. *N. Engl. J. Med.* 1985, 312, 283–289.
- 10. Ferrier L.K., Caston L.J., Leeson S., Squires J., Weaver B.J., Holub B.J.: Alfa-linolenic acid and docosahexanoic acid enriched eggs from hens fed flaxseed: influence on blood lipids and platelet phospholipid fatty acids in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 1995, 62, 81–86.
11. Fernandes G., Venkatraman J.T.: Role of *omega-3* fatty acids in health and disease. *Nutr. Res.* 1993, 13, S19-S45.
- 12. Gerster H.: N-3 fish oil polyunsaturated fatty acids and bleeding. *J. Nutr. Environ. Med.* 1995, 5, 281–296.
- 13. Gryś S.: Rola kwasu *gamma*-linolenowego w ustroju człowieka. Zbiór prac II sympozjum n.t. Olej z nasion wiesiołka w profilaktyce i terapii. MakoLab oraz AGROPHARM®, Łódź 1995., 22–34.
- 14. Hansen A.E., Wiese H.F., Boelsche A.N., Haggard M.E., Adam D.J.D., Davis H.: Role of linoleic acid in infant nutrition: clinical and chemical study of 428 infants fed on milk mixtures varying in kind and amount of fat. *Pediatrics* 1963, 31, 171–192.
- 15. Holman R.T.: *Omega-3 and omega-6 essential fatty acid status in human health and disease*. W: Handbook of Essential Fatty Acid Biology: Biochemistry, Physiology, and Behavioral Neurobiology. Eds. S. Yehuda and D.I. Mostofsky. Humana Press Inc. Totowa N.J. 1997. pp. 139–182.
- 16. Klenk E., Mohrhauer H.: Metabolism of polyene fatty acids in the rat. *Z. Physiol. Chem.* 1960, 320, 218–232.
- 17. Kris-Etherton P.M.: *Trans* fatty acids and coronary heart disease risk. Report of the Expert Panel on *trans* fatty acids and coronary heart disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 1995, 62, suppl. 3, 657S-708S.
- 18. Kulasek G., Krasicka B., Świerczewska E.: Jaja i tuszki drobiowe wzbogacone w niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe – nowe kierunki produkcji drobiarskiej. *Mag. Drobiarstwo* 1996, 1, 5–9.
- 19. Lamer-Zarawska E.: Olej wiesiołkowy w profilaktyce, terapii i kosmetyce. Zbiór prac II sympozjum n.t. Olej z nasion wiesiołka w profilaktyce i terapii. MakoLab oraz AGROPHARM®, Łódź 1995. str. 35–51.
- 20. Marcel Y., Christiansen K., Holman R.T.: The preferred metabolic pathway from linoleic acid to arachidonic acid in vitro. *Biochim. Biophys. Acta* 1968, 164, 25–31.
21. Marshall A.C., Kubena K.S., Hinton K.R., Hargis P.S., van Ekswyk M.E.: N-3 fatty acid enriched table eggs: a survey of consumer acceptability. *Poultry Sci.* 1994, 73, 1334–1340.
- 22. Mohrhauer H., Christiansen K., Gan M.V., Deubig M., Holman R.T.: Chain elongation of linoleic acid and its inhibition by other fatty acids in vitro. *J. Biol. Chem.* 1967, 242, 4507- 4514.
- 23.

- Myher J.J., Kukis A.*: Review: General strategies in chromatographic analysis of lipids. *J. Chromatography B.* 1995, 671, 3–33. – 24. *Paulsrud J.R., Pensler L., Whitten C.F.*: Essential fatty acid deficiency in infants induced by fat-free intravenous feeding. *Am. J. Clin. Nutr.* 1972, 25, 897–904. – 25. *Potherat J.J.*: *Omega-3* polyunsaturated fatty acids. In: *Omega-3*, lipoprotein and atherosclerosis. Eds. J. Davignon, J. Ch. Fruchart, J.M. Ordovas. John Libbey Eurotext, Paris. 1996, pp. 7–22. – 26. *Ruiz-Gutierrez V., Barron L.J.R.*: Review: Methods for the analysis of triacylglycerols. *J. Chromatography B.* 1995, 671, 133–168. – 27. *Schulz H.*: Oxidation of fatty acids. In: *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membrane*. Eds. D.E. Vance & J.E. Vance. Elsevier 1996, pp. 75–99. – 28. *Simopoulos A.P.*: *Omega-3* fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am. J. Clin. Nutr.* 1991, 54, 438–463. – 29. *Uauy R., Peirano P., Hoffman D., Mena P., Birch D., Birch E.*: Role of essential fatty acids in the function of the developing nervous system. *Lipids* 1996, 31, S167-S176. – 30. *White H.B., Turner M.D., Miller R.C.*: Blood lipid alternations in infants receiving intravenous fat-free alimentation. *J. Pediatr.* 1973, 83, 305–313.
31. *Widmer C., Holman R.T.*: Polyethenoid fatty acid metabolism. II. Deposition of polyunsaturated fatty acids in fat-deficient rats upon single fatty acid supplementation. *Arch. Biochem.* 1950, 25, 1–25.

Otrzymano: 1997.05.19