

AURELIA RADZIK-RANT, WITOLD RANT

### **Wpływ oleju lnianego stosowanego w diecie macierek karmiących na profil kwasów tłuszczowych tkanki zapasowej**

The influence of linseed oil used in diet on fatty acids profile in adipose tissue  
of lactating ewes

**Streszczenie.** Celem przeprowadzonych badań było prześledzenie zmian zawartości FA w tkance zapasowej po zastosowaniu w diecie macierek karmiących oleju lnianego.

Badaniami objęto 25 szt. macierek żelaznieńskich (10 szt. – grupa kontrolna, 15 szt. – grupa doświadczalna). Maciorkom z grupy doświadczalnej podawano olej lniany w ilości 3% s.m. dawki przez okres 2 miesięcy (od rozpoczęcia do zakończenia 8 tygodnia laktacji). Próby tłuszczu okrywowego pobierano z nasady ogona metodą biopsji dwukrotnie od tego samego zwierzęcia, przed i po zakończeniu doświadczenia. Profil kwasów tłuszczowych określono za pomocą chromatografii gazowej.

U macierek w grupie kontrolnej wzrosła zawartość SFA w tkance zapasowej po 8 tygodniach laktacji, jednak różnice nie zostały potwierdzone statystycznie. W grupie doświadczalnej zawartość tej grupy kwasów pozostała na tym samym poziomie. Olej lniany spowodował wzrost zawartości C18:3 oraz EPA i DHA ( $P \leq 0,01$ ). Pod wpływem oleju wzrosła również zawartość kwasów z rodziny n-3, obniżył się udział kwasów n-6 i zmniejszył stosunek n-6/n-3 ( $P \leq 0,01$ ). Wzrosła także zawartość kwasu C18:2 cis-9, trans-11 ( $P \leq 0,01$ ) w tkance zapasowej macierek doświadczalnych.

**Słowa kluczowe:** tkanka zapasowa, maciorki, mleko, kwasy tłuszczowe

#### WSTĘP

Tłuszcz paszowy zastosowany w diecie przeżuwaczy jest dobrym źródłem energii dla wysoko wydajnych zwierząt, wpływa na strawność i przyswajalność innych składników pokarmowych, a także może zmieniać udział poszczególnych kwasów tłuszczowych (FA) w tłuszczu mleka, mięsa i tkance zapasowej [Chiliard Y. 1993].

Metabolizm tkanki zapasowej u zwierząt rosnących będzie nieco inny niż u zwierząt w laktacji. Należy pamiętać, iż triacyloglicerydy tkanki zapasowej są źródłem FA dla gruczołu mlekowego obok tłuszczu pokarmowego i ich syntezy w samym gruczole.

Ważność każdego z tych źródeł jest zależna od składu diety i okresu laktacji [Barber i in. 1997]. Tłuszcz paszowy w dawce nie pozostaje bez wpływu na aktywność enzymów oddziałujących na syntezę *de novo* kwasów tłuszczowych w tkance zapasowej, która u przeżuwaczy jest głównym miejscem dla tej funkcji. Deponowanie kwasów tłuszczowych, zwłaszcza długołańcuchowych, w tłuszczu okrywowym zależy od aktywności lipazy lipoproteinowej (LPL), która jest stymulowana dostarczaniem w paszy kwasami wielonienasyconymi (PUFA) [Vernon i in. 1977].

Celem niniejszych badań było prześledzenie zmian w zawartości FA w tkance zapasowej po zastosowaniu w diecie macierek karmiących oleju lnianego, bogatego w kwasy PUFA, a szczególnie w kwas linolenowy.

#### MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie przeprowadzono na 25 maciorkach żelaznieńskich odchowujących jedno jagnię, które podzielono na dwie grupy: kontrolną (10 szt.) i doświadczalną (15 szt.). Maciorki utrzymywano w oddzielnych kojcach i żywiono indywidualnie wg norm tradycyjnych. W grupie kontrolnej stosowano siano i mieszankę treściwą (śruta owsiana – 30,5%; śruta rzepakowa – 30,5%; śruta jęczmienna – 23%; otręby pszenne – 15,3%; mieszanka mineralna – 0,7%), a w grupie doświadczalnej siano, mieszankę treściwą (śruta owsiana – 34,5%; śruta rzepakowa – 38,8%; śruta pszena – 8,6%; otręby pszenne – 17,3%; mieszanka mineralna – 0,8%), do której dodawano olej lniany w ilości 53 g/szt. dziennie, co stanowiło 3% s.m. dawki. Doświadczenie prowadzono przez 2 miesiące (od rozpoczęcia do końca 8 tygodnia laktacji).

Próby tłuszczu okrywowego pobierano od macierek z okolicy nasady ogona metodą biopsji [Radzik-Rant i in. 2003]. Pobierano je dwukrotnie od tego samego zwierzęcia: w grupie kontrolnej przed rozpoczęciem doświadczenia (K\_w) i po jego zakończeniu (K\_k) i analogicznie w grupie doświadczalnej przed rozpoczęciem (D\_w) i po zakończeniu (D\_k) doświadczenia.

Ekstrakcję tłuszczu z tkanki zapasowej przeprowadzono według metody Folcha i in. [1957]. Metylację kwasów tłuszczowych wykonano metodą transestryfikacji według AOAC [Association... 1990]. Analizę składu kwasów przeprowadzono metodą chromatografii gazowej w układzie gaz – ciecz, stosując chromatograf gazowy firmy Hewlett Packard 5890 wyposażony w detektor FID. Kolumna – długość 60 m, średnica wewnętrzna 0,25 mm, grubość fazy ciekłej polarnej 0,25  $\mu\text{m}$ , faza stacjonarna DB 23.

Wyniki opracowano, stosując metodę analizy wariancji przy wykorzystaniu pakietu statystycznego SPSS [2003]. Oszacowane wartości dla badanych grup zestawiono w formie średnich najmniejszych kwadratów (LSM) i błędu standardowego średniej (Se) wraz ze statystyczną oceną różnic.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Analizując zawartość kwasów tłuszczowych w tkance zapasowej macierek z grupy kontrolnej i doświadczalnej, odnotowuje się brak potwierdzonych statystycznie różnic w odniesieniu do kwasów SFA, UFA i MUFA pomiędzy początkiem a 8 tygodniem

laktacji (tab. 1). Zawartość kwasów PUFA wzrosła ( $P \leq 0,05$ ) u macioerek z grupy doświadczalnej pod wpływem stosowania w diecie oleju lnianego (3% s.m. dawki) (tab. 1).

Tabela 1. Zawartość grup kwasów tłuszczowych w tkance zapasowej macioerek w zależności od stosowania w diecie oleju lnianego (g/100 g tłuszczu)

Table 1. The content of fatty acids groups in ewe's adipose tissue in relation to linseed oil use in the diet (g/100 g fat)

Grupa kwasów Acids group	K_w		K_k		Istotność Significance	D_w		D_k		Istotność Significance
	LSM	Se	LSM	Se		LSM	Se	LSM	Se	
ΣSFA	50,72	1,53	52,23	2,42	ns	50,75	1,40	50,70	1,40	ns
ΣUFA	44,72	1,38	43,67	2,18	ns	43,95	1,26	44,50	1,26	ns
ΣMUFA	41,26	1,36	40,26	2,15	ns	40,66	1,24	40,91	1,24	ns
ΣPUFA	3,46	0,09	3,42	0,14	ns	3,30	0,14	3,59	0,08	*
Σ n-6	1,83	0,08	1,80	0,12	ns	1,86	0,07	1,74	0,07	ns
Σ n-3	1,17	0,03	1,16	0,05	ns	1,02	0,03	1,22	0,03	**
n-6/n-3	1,57	0,09	1,54	0,14	ns	1,83	0,08	1,43	0,08	**

LSM – średnia najmniejszych kwadratów – least square mean,

Se – błąd standardowy średniej – standard error,

\*\* – istotność statystyczna przy  $P \leq 0,01$  – statistical significance at  $P \leq 0,01$ ,

\* – istotność statyczna przy  $P \leq 0,05$  – statistical significance at  $P \leq 0,05$ ,

ns – brak statystycznie istotnych różnic – differences not significant,

K\_w – grupa kontrolna przed rozpoczęciem doświadczenia – control group before experiment,

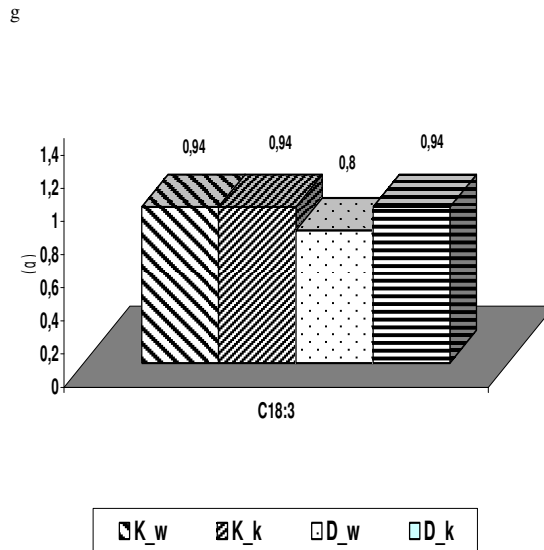
K\_k – grupa kontrolna po zakończeniu doświadczenia – control group at the end of experiment,

D\_w – grupa doświadczalna przed rozpoczęciem doświadczenia – experimental group before experiment,

D\_k – grupa doświadczalna po zakończeniu doświadczenia – experimental group at the end of experiment

Wprowadzcie w zawartości kwasów SFA zarówno w grupie kontrolnej, jak i doświadczalnej pomiędzy stanem wyjściowym a końcowym brak różnic potwierdzonych statystycznie, to jednak u macioerek nieotrzymujących oleju lnianego wzrost zawartości tych kwasów był większy niż w grupie doświadczalnej (tab. 1). Może to świadczyć o zwiększonej syntezie FA w tkance zapasowej w drugiej fazie laktacji i jej hamowaniu pod wpływem dostarczania w diecie większej ilości kwasów PUFA. Synteza FA i lipidów w tkance zapasowej na początku i we wczesnej fazie laktacji jest zmniejszona, nawet jeżeli zwierzęta nie wykazują ujemnego bilansu energetycznego [Barber i in. 1997]. Spadek syntezy lipidowej jest związany ze zmniejszeniem aktywności enzymów, takich jak karboksylazy acetylo-CoA, dehydrogenazy glukozy-6-fosfatazy (G-6 PDH) i syntetazy FA (14). Lipidy tkanki zapasowej w tym okresie są zaangażowane w produkcję mleka. Wraz z postępującą laktacją i spadkiem wydajności po jej szczycie, synteza FA w tkance zapasowej wzrasta, zapewniając odnowienie rezerw tłuszczowych [Barber i in. 1997]. Wzrost zawartości SFA w 8 tygodniu laktacji, a więc w okresie, kiedy u owiec żelazneńskich jest to zdecydowanie faza daleko po szczycie [Niżnikowski i in. 2001], może to potwierdzać. Jednakowy poziom SFA zarejestrowany w tkance zapasowej przed doświadczeniem i po nim u macioerek otrzymujących w diecie olej lniany wskazuje na hamowanie tej syntezy przez kwasy długołańcuchowe zawarte w tłuszczu paszowym. W badaniach Hooda i in. [1980] dostarczany w oleju słonecznikowym kwas C18:2 skutecznie wstrzymywał aktywność G-6 PDH w tkance zapasowej owiec.

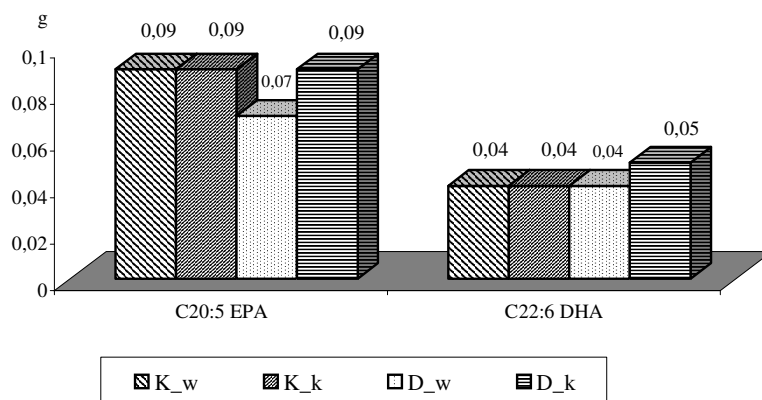
Stosowany w diecie olej lniany o dużej zawartości kwasu linolenowego spowodował wzrost ( $P \leq 0,01$ ) tego kwasu także w tkance zapasowej macierek doświadczalnych. Poziom C18:3 w grupie kontrolnej pozostał niezmienny (rys. 1). Brak hamowania aktywności lipazy lipoproteinowej (LPL), kluczowego enzymu przekształcającego triacyloglicerydy z chylimikronów i lipoprotein o bardzo niskiej gęstości (VLDL) do wolnych kwasów tłuszczowych, przez zwiększoną zawartość w paszy kwasów PUFA umożliwił transfer kwasu C18:3 do tkanki zapasowej [McNamara 1991, Chiliard Y. 1993].



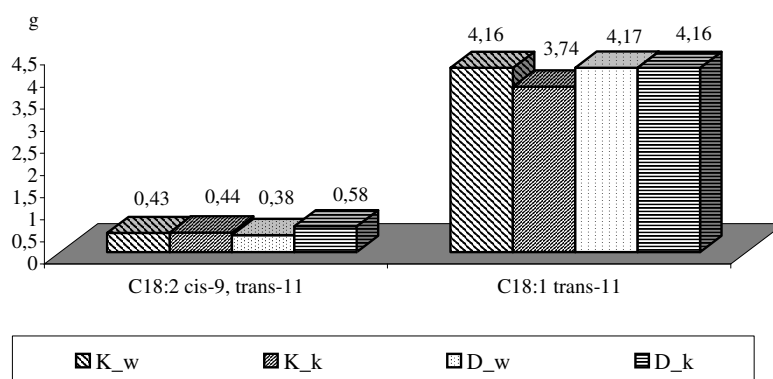
Rys. 1. Zawartość kwasu C18:3 w tkance zapasowej badanych macierek, g/100 g tłuszczu  
 Fig.1. The content of C18:3 in ewes adipose tissue, g/100 g fat

Wzrost zawartości kwasu C18:3 pociągnął za sobą wzrost poziomu kwasów C20:5 eikozapantenowego (EPA) i C22:6 dokozaheksaenowego (DHA), które mogą być syntetyzowane z kwasu linolenowego przy udziale elongaz i desaturaz  $\Delta^6$ ,  $\Delta^5$  i  $\Delta^4$  ( $P \leq 0,01$ ) (rys. 2). Zawartość kwasów EPA i DHA w tkance zapasowej macierek żywionych z udziałem oleju lnianego wzrosła odpowiednio o 28% i 25%. Jak widać, wzrost poziomu tych kwasów był zbliżony, chociaż według Rymera i in. [2003] synteza kwasu DHA z EPA może być nieco zablokowana. Potencjalnym magazynem tych kwasów są fosfolipidy w tkance mięśniowej i zapasowej. Większy udział kwasów EPA i DHA uzyskała Radzik-Rant [2005] w tkance mięśniowej pod wpływem stosowania w diecie tuczonych jagniąt oleju lnianego z uwagi na wyższy poziom fosfolipidów w strukturach błoniastych.

W grupie macierek doświadczalnych olej lniany zawarty w diecie zwiększył udział kwasów należących do rodziny n-3 ( $P \leq 0,01$ ) i obniżył, chociaż różnice nie zostały potwierdzone statystycznie, zawartość kwasów n-6. Tym samym stosunek kwasów n-6/n-3 uległ obniżeniu ( $P \leq 0,01$ ) (tab. 1). Wpłynęły na to przede wszystkim wzrost zawartości kwasu C18:3 n-3 i spadek kwasu C18:2 n-6. Podobne rezultaty osiągnęli Wachira i in. [2002] w tkance zapasowej jagniąt, w żywieniu których stosowano nasiona lnu.



Rys. 2. Zawartość kwasów EPA i DHA w tkance zapasowej badanych maciorek, g/100 g tłuszczu  
 Fig. 2. The content of EPA i DHA in ewes adipose tissue, g/100 g fat



Rys. 3. Zawartość kwasów C18:2 cis-9, trans-11 (CLA) i C18:1 trans-11 w tkance zapasowej badanych maciorek, g/100 g tłuszczu  
 Fig. 3. The content of C18:2 cis-9, trans-11 (CLA) i C18:1 trans-11 in ewes adipose tissue, g/100 g fat

Pod wpływem stosowania w diecie maciorek oleju lnianego wzrosła również zawartość kwasu C18:2 cis-9, trans-11 (CLA) ( $P \leq 0,01$ ). W tkance zapasowej maciorek należących do grupy kontrolnej udział tego kwasu przed doświadczeniem i po jego zakończeniu nie uległ zmianie (rys. 3). Kwas C18:2 cis-9, trans-11 powstaje na drodze izomerizacji i biohydrogenazy kwasów PUFA w żwaczu oraz na drodze endogennej syntezy poprzez denaturację kwasu wakceniowego (C18:1 trans-11) w tkance tłuszczowej i gruczole mlekowym. Synteza endogenna z C18:1 trans-11 jest głównym źródłem CLA

w tkankach i mleku przeżuwaczy [Schmid i in. 2006]. Miarą wydajności tej syntezy jest aktywność  $\Delta^9$  desaturazy mierzona wartością stosunku CLA/ C18:1 trans-11 [Bessa i in. 2000]. Wyższa wartość tego stosunku w tkance zapasowej maciorek, na skutek podawania oleju lnianego (D\_k), świadczy o tym, iż nagromadzony w wyniku biohydrogenazy kwasów o 18 atomach węgla w łańcuchu podawanych w paszy kwas wakcenyowy posłużył do produkcji kwasu cis-9, trans-11 (CLA).

#### WNIOSKI

1. Zastosowany w diecie maciorek karmiących olej lniany (3% s.m. dawki) spowodował wzrost zawartości kwasów PUFA w tkance zapasowej. Zawartość powstałych grup kwasów SFA i MUFA pozostała niezmienną.
2. Zastosowany w diecie olej lniany bogaty w kwas linolenowy wpłynął na większą absorpcję tego kwasu przez tkankę zapasową oraz zwiększenie zawartości kwasów C20:5 (EPA) i C22:6 (DHA), dla syntezy których w tkankach kwas C18:3 jest prekursorem.
3. W tkance zapasowej maciorek żywionych z udziałem oleju lnianego (3% s.m. dawki) wzrosła zawartość kwasów z rodziny n-3, obniżyła kwasów z rodziny n-6 i zmniejszył się wzajemny stosunek n-6/n-3.
4. Olej lniany podawany w ilości 3% s.m. dawki maciorkom karmiącym spowodował ok. 50% wzrost zawartości kwasu C18:2 cis-9, trans-11 CLA w tkance zapasowej.

#### PIŚMIENNICTWO

- Association of Official Analytical Chemists. Food Composition Additives Natural Contaminants 2.4 Oils and Fat. 1990. 963, AOAC.
- Barber M.C., Clegg R.A., Travers M.T., Vernon R.G. 1997. Lipid metabolism in the lactating mammary gland. *Biochem. Biophys. Acta*, 1347, 102–126.
- Bessa R.J.B., Santos-Silva J., Ribeiro J.M.R., Portugal A.V. 2000. Reticulo – rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. *Livestock Prod. Sci.*, 63, 201–211.
- Chiliard Y. 1993. Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs and rodents. *J. Dairy Sci.*, 76, 3897–3931.
- Folch J., Less M., Sloana-Stanley G.W. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226, 497–510.
- Hood R.L., Cook L.J., Mills S.C., Scott T.W. 1980. Effect of feeding protected lipids on fatty acid synthesis in ovine tissues. *Lipids*, 15, 644–646.
- McNamara J.P. 1991. Regulation of adipose tissue metabolism in support of lactation. *J. Dairy Sci.*, 74, 76–85.
- Niznikowski R., Rant W., Szytych D., Radzik-Rant A., Kuźnicka E. 2001. The level of consumption milk production of Polish Lowland sheep depends on milking method. *Archives of Anim. Breed.*, 44, 309–314.
- Radzik-Rant A., Kaba J., Rant W. 2003. Analiza zawartości kwasów tłuszczowych w tłuszczu okrywowym owiec w wieku od 6 do 14 miesięcy. *Annales UMCS, sec. EE*, 21, 1, 14, 109–114.
- Radzik-Rant A. 2005. Modyfikowanie zawartości kwasów tłuszczowych w tkance mięśniowej jagniąt poprzez wzbogacenie diety olejami różnego pochodzenia. *Wyd. SGGW, Warszawa*.

- Rymer C., Givens D.J., Wohle K.W.J. 2003. Dietary strategies for increasing docosahexa-enoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA) concentration in bovine milk. <http://www.nutritionandfoodsciences>.
- Schmid A., Collomb M., Sieber R., Bee G. 2006. Conjugated linoleic acid in meat and meat products. *Meat Sci.*, 73, 29–41.
- SPSS Base 12.0. Users guide 2003. SPSS Inc.
- Vernon R.G. 1977. Effect of different fatty acids on lipogenesis in rat and sheep adipose tissue in vitro. *Int. J. Biochem.*, 8, 517–524.
- Wachira A.M., Sinclair L.A., Wilkinson R.G., Enser M., Wood J.D., Fisher A.V. 2002. Effect of dietary fat source and breed on the carcass composition, n-3 polyunsaturated fatty acid and conjugated linoleic acid content of sheep meat and adipose tissue. *British J. Nutr.*, 88, 6, 696–709.

**Summary.** The aim of the presented study was to examine changes in FA content in adipose tissue of lactating ewes fed linseed oil in diet. The experiment was carried out on 25 ewes of Żelaznieńska type of Polish Lowland sheep (10 animals in control group, 15 in experimental group). The ewes from the experimental group were fed a diet with linseed oil of 3% dry matter ratio during 2 months (from beginning to the end of 8<sup>th</sup> week of lactation). The fat samples were collected by biopsy method from the tail root part twice from the same animal before and after the experiment. The fatty acids profile was determined by gas chromatography.

The ewes from control group showed no significant increase of SFA in adipose tissue after 8<sup>th</sup> month of lactation. In the experimental group the content of that acids group stayed on the same level. The linseed oil caused an increase of C18:3, EPA and DHA acids ( $P \leq 0.01$ ). The oil in diet also increased n-3 acids content, decreased n-6 acids content and reduced n-6/n-3 ratio ( $P \leq 0.01$ ). In adipose tissue of ewes from the experimental group the increase of C18:2 cis-9, trans-11 acid ( $P \leq 0.01$ ) was noted as well.

**Key words:** adipose tissue, ewes, milk, fatty acids