
EFFECT OF PALM OIL AND SALMON OIL ON FATTY ACIDS COMPOSITION IN THE TISSUES OF RATS

VLIV PŘÍDAVKU PALMOVÉHO A LOSOSOVÉHO OLEJE NA ZASTOUPENÍ MASTNÝCH KYSELIN V TKÁNÍCH POTKANA

Rozíková V., Zorníková G., Gregor T., Komprda T., Krobot R.

Department of Food Technology, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1/1665, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xrozikov@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of our study was to compare the effect of intake fatty acids on animal organism. Higher content of polyunsaturated fatty acids leads to decrease cholesterol and HDL cholesterol. It should prove to increase of LDL cholesterol level. 30 rats were used in our experiment. They were divided in 3 groups: control group, group with 3% addition of salmon oil a group with 3% addition of palm oil. Palm oil mainly contains saturated fatty acids (palmitic acid, 39.8%). Salmon oil contains physiologically important compounds (linolenic acid, EPA and DHA). The samples were taken after 48 days. Liver, fat and muscle tissues were analyzed by gas chromatography. Determination of cholesterol was performed in animal blood. The results confirmed our mentioned prediction. The highest content of polyunsaturated acids was in the group with addition of salmon oil. This group was achieved significantly reduction in total cholesterol and HDL cholesterol. Significant increase in LDL cholesterol fraction was not proved.

Key words: palm oil, salmon oil, fatty acids, gas chromatography

Acknowledgments: This project was made with support of Internal Grant Agency of Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, TP2/2011 “The effect of feed additives for livestock on their metabolism, the utilization absorbency of clay substrates in the animal and plant production”.

ÚVOD

Studie je založená na ovlivnění zastoupení mastných kyselin v tkáních laboratorních krys přidáním palmového a lososového oleje do krmiva a jejich vliv na celkový cholesterol, LDL a HDL frakce. Pro živočišný organismus jsou esenciálními kyselinami linolová a α -linolenová. Linolenová kyselina (LNA) je výchozím metabolitem pro n-3 řady, mezi které patří eikopentanová (EPA, 20: n-3) a dokosahehexanová (DHA, 22:6 n-3) kyselina. Linolová kyselina je výchozím metabolitem n-6 řady, např. kyselina arachidonová (20:4 n-6). EPA a DHA působí protektivně na kardiovaskulární systém, zvýšený příjem LNA má za následek snížení agregace trombocytů, zvýšení vazodilatace nebo zvýšení HDL- cholesterolu (Komprda, 2007). Důležitý je poměr mezi n3/n6 kyselinami ve stravě a měl by být 2/5, ideální poměr 1/1.

Pro porovnání vlivu krmiva na zastoupení mastných kyselin v tkáních živočišného organismu je zkoumána skupina laboratorních krys, která má do stravy přidáno 3% palmového oleje. Tento olej obsahuje vysoké množství zejména laurové a palmitové kyseliny. Z hlediska zastoupení mastných kyselin má olej převahu nasycených mastných kyselin, jež je vhodné pro kulinární a technologické zpracování, ale ze zdravotního hlediska přispívá ke zvyšování cholesterolu a následně i k arteroskleróze. Množství palmitové kyseliny je v palmovém oleji trojnásobně zvýšené oproti lososovému oleji.

Důsledek vlivu stravy na zastoupení mastných kyselin byl porovnáván mezi skupinami a mezi jednotlivými tkáněmi. Ve viscerální tukové tkáni je předpokládán nízké zastoupení polynenasycených kyselin, jelikož tukové zásoby jsou ukládány ve formě nasycených mastných kyselin kvůli svým fyzikálním vlastnostem. Nadvarlatový tuk obsahuje průměrně 60-75% tuku. Ve svalové tkáni krys je intramuskulární tuk v množství 3-4%. Jaterní tkáň je složena z 2-4% tuku.

MATERIÁL A METODIKA

Do pokusu byli zařazeni dospělí samci laboratorního potkana outbredního kmene Wistar albino z SPF chovu společnosti BioTest s.r.o., Konárovice. Pokus probíhal 48 dní. Zvířata (n=30) byla rozdělena po 10 kusech do 3 pokusných skupin s odlišným druhem krmiva. Zvířata byla ustájena po 5 kusech v plastových boxech a z důvodu identifikace zvířat byla barevně označena na různých částech těla. V pokusné laboratoři byla udržována teplota $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, vlhkost vzduchu 60% a světelný režim 12 hodin světlo a 12 hodin tma o maximální intenzitě 200 lx.

Výchozím krmivem byla kompletní krmná směs pro myši a potkany od firmy Biokron (Blučina, kontrolní skupina), u dalších skupin bylo po šrotování přimícháno 3% palmového oleje (PAL), 3% lososového oleje (LOS). Z namíchaných krmných směsí byly odebírány vzorky pro analytické

stanovení obsahu mastných kyselin. Zvířata byla krmena každý den ad libitum a také byl zajištěn adlibitní příjem pitné vody.

Po ukončení pokusu byly u všech zvířat odebírány vzorky krve do heparinových zkumavek (Dispolab), u kterých byly provedeny analýzy na koncentraci celkového cholesterolu, HDL-cholesterolu, LDL-cholesterolu a triacylglycerolů. Dále byly odebírány vzorky jater, stehenního svalu a viscerálního tuku pro analytické stanovení obsahu mastných kyselin.

Každý vzorek tkáně (jaterní, svalové a tukové) pro stanovení mastných kyselin byl před extrakcí lyofilizován. Extrakce jednotlivých vzorků probíhala metodou Hara a Radin v rozpouštědle hexan: isopropanol (HIP). Gravimetricky byl stanoven obsah tuku ve vzorku. Navážka čistého vzorku byla rozpuštěna ve 3 ml isooktanu obsahujícího kyselinu pentadekanovou jako vnitřní standard ($0,1 \text{ g.l}^{-1}$) a 1 ml 1% roztoku butylhydroxytoulenu v metanolu jako antioxidant. Derivatizace mastných kyselin byla provedena dle metody uvedené ve studii Komprda et al. (1999), která vychází z postupů Morrison a Smith (1964), Banon et al. (1982), Ichihara et al. (1996) a Sattler et al. (1996).

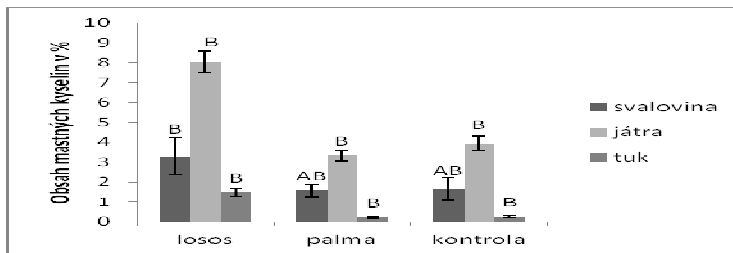
Stanovení příslušných methylesterů mastných kyselin bylo provedeno na plynovém chromatografu GC HP 6890 s plamenově-ionizačním detektorem (FID), kapilární kolona Innowax 30m x 0.25 mm x 0.25um (Agilent Technologies, J & W Scientific, USA). Teplota injektoru 260 °C, teplota detektoru (FID) 275°C, teplotní program: 150°C/1 min., gradient 10°C na teplotu 200°C, následně gradient 3°C/min na teplotu 260°C/3 min. Nosný plyn N_2 , průtok 1 ml/min, tlak 145 kPa, split 60:1, nástřik 1µl. Pro identifikaci Fame byl použit standard PUFA No.2, 47015-U (Supelco, Bellefonte, USA).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Kvalitativní a kvantitativní zastoupení mastných kyselin závisí na přijaté stravě a na následné konverzi živin, která je ovlivněna řadou faktorů: metabolismem, věkem, ročním obdobím, teplotou a délkou světla a chemickou formou, ve které jsou živiny podávány.

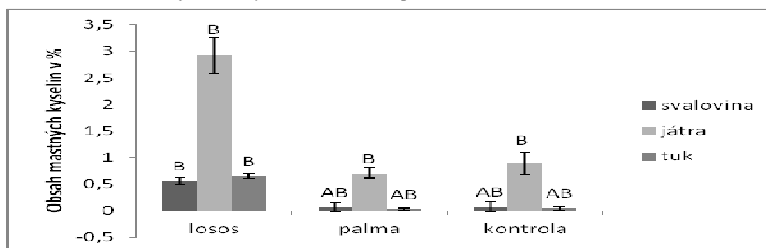
V rámci vyhodnocení jsme srovnávali množství MK mezi skupinami a v jakém poměru se přídavek palmového a lososového oleje projevil v jednotlivých tkáních a změnil poměr jednotlivých mastných kyselin. Statistické vyhodnocení bylo provedeno v programu Statistica 9.0.

Obr. 1 Obsah DHA v jednotlivých tkáních a skupinách krmiv

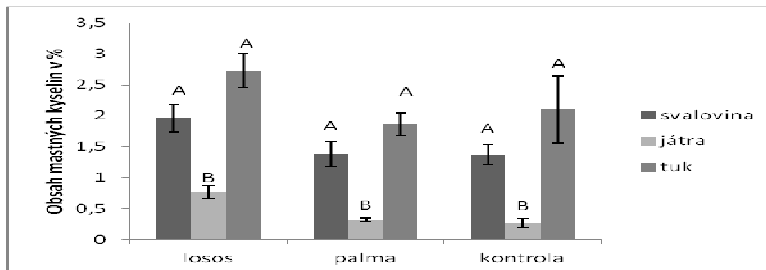


Dokosahexaenová kyselina má vysoké zastoupení u skupiny s přidavkem lososového oleje, což bylo statisticky vysoce potvrzené ($P < 0,001$) ve srovnání s ostatními skupinami ve tkáni tukové, jaterní a svalovině. Stejně vysoce průkazné rozdíly ($P < 0,001$) jako pro výše uvedenou eikosapentaenovou kyselinu jsou mezi skupinou kontrolní a skupinou s přidavkem palmového oleje, kde je prokazatelně nižší obsah, v tukové a jaterní tkáni. Tento rozdíl je pro svalovou tkáň neprůkazný ($P < 0,05$).

Obr.2 Obsah EPA v jednotlivých tkáních a skupinách krmiv

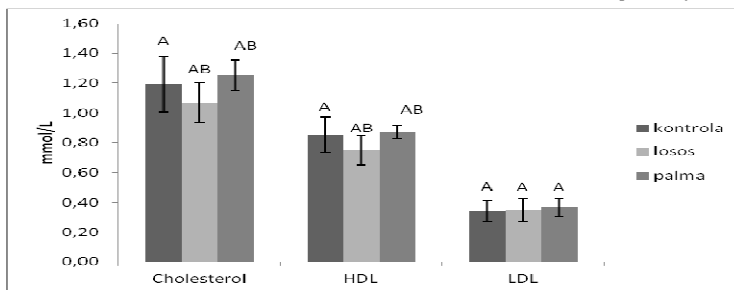


Ve statistickém zpracování rozdílů množství pro eikosapentaenovou kyselinu bylo ve tkáni tukové a jaterní naměřeno vysoce průkazné rozdíly ($P < 0,05$) mezi skupinou kontrolní a skupinou s přidavkem lososového oleje a skupinou s přidavkem palmového oleje a skupinou s přidavkem lososového oleje, ve které bylo zastoupeno její nejvyšší množství. Neprůkazný rozdíl ($P < 0,05$) mezi skupinou kontrolní a s přidavkem palmového oleje, kde se očekávalo průkazně nižší množství oproti skupině kontrolní. V jaterní tkáni jsou statisticky vysoce průkazné rozdíly mezi skupinami ($P < 0,001$) dle prvotní teze a to, že navýšení EPA je u skupiny s přidavkem lososového oleje oproti skupině kontrolní a ve skupině s přidavkem palmového oleje je množství nižší než u skupiny kontrolní.

Obr.3 Obsah α -linolenové kyseliny v jednotlivých tkáních a skupinách krmiv

Vysoce průkazné rozdíly ($P < 0,001$) mezi jednotlivými skupinami byly zanalyzovány v jaterní tkáni pro α -linolenovou kyselinu. Nejvyšší zastoupení měla skupina s přidavkem lososového oleje proti kontrolní skupině a skupině s přidavkem palmového oleje. Rozdíl mezi kontrolní skupinou a skupinou s přidavkem palmového oleje nebyl statisticky prokázán. Kvantitativní rozdíly mezi skupinami nebyly v tukové ani svalové tkáni zaznamenány ($P < 0,05$).

Obr.4 Obsah celkového cholesterolu, HDL a LDL cholesterolu v krevní plazmě jednotlivých skupin



Vliv mastných kyselin na celkový cholesterol, HDL a LDL byl částečně prokázán. Statistické rozdíly ($P < 0,05$) byly naměřeny mezi skupinou s přidavkem palmového a lososového oleje u celkového cholesterolu a HDL frakce, kde skupina s přidavkem palmového oleje, tedy vysokým zastoupením nasycených mastných kyselin, měla oba parametry průkazně vyšší. Porovnání parametrů s kontrolní skupinou bylo neprůkazné. LDL frakce cholesterolu neměla průkazné snížení se zvyšujícím se obsahem polynenasycených mastných kyselin. Pro tento parametr nebylo kvantitativní zastoupení průkazné srovnáním mezi skupinami.

Lososový olej nebo obecně rybí olej je využíván ve studiích pro vysoký obsah polynenasycených mastných kyselin, kde je zkoumán vliv na ochranu proti civilizačním chorobám. V experimentální studii na lidských dobrovolnících byl pozorován účinek rybího oleje jako prostředku pro ochranu tlustého střeva proti karcinogenezi. Analyzované byly 3 skupiny po 12 dobrovolnících po dobu 4 týdnů, kdy první skupina užívala (4,4g) rybího oleje, druhá skupina ve stejném množství kukuřičného oleje a třetí skupina byla kontrolní. Závěrem studie uvádí, že skupina užívající rybí olej měla prokazatelně nižší bromodeoxyuridine index i ornitin dekarboxylázovou aktivitu než

skupina užívající kukuřičný olej. Výsledky potvrzují jejich hypotézu, že rybí olej může chránit před rakovinou tlustého střeva. Tato studie nepřímo potvrzuje naši studii, že rybí olej slouží k ochraně proti civilizačním chorobám jakou je rakovina nebo vysoký cholesterol.

Ve studii (*Shiba a kol., 2011*) měli v rámci svého projektu pokus založený na námi analyzované predikci jako byl náš experiment. Pokus zkoumal účinek DHA a EPA jako regulátory metabolismu lipidů enzymatickou činností vedoucí ke snížení celkového cholesterolu. Pokusné skupiny myši (6 týdnů) byly krmeny rybím olejem, hydrogenovaným olejem, jež obsahoval nasycené mastné kyseliny a sojovým olejem. Analyzovanými tkáněmi byly rovněž jaterní, tuková a krev měřené plynovou chromatografií. Závěr této studii je podobný se závěrem našeho experimentu, ve kterém skupiny, v jejichž dietě nebyl obsažen rybí olej, vykazovaly zvýšené hodnoty nasycených mastných kyselin.

Experiment (*Chowdhury, 2007*) analyzoval 5 druhů rostlinných olej (sojový, hořčičný, slunečnicový, palmový a kokosový) pěstovaných za různých podmínek k ovlivnění poměru nasycených a nenasyčených mastných kyselin. Mastné kyseliny byly stanoveny plynovou chromatografií s plamenově-ionizačním detektorem. Výsledkem pokusu bylo docílení a zvýšení poměru mononenasycených (MUFA) a polynenasycených mastných kyselin (PUFA) k nasyceným mastným kyselinám. Nejvyšší poměr MUFA+PUFA bylo u slunečnicového oleje (91,5%), následně v hořčičném oleji (86,2%), sojovém oleji (81,1%). U palmového oleje bylo dosaženo MUFA+PUFA 53,30% a nejnižší zastoupení bylo pro kokosový olej (7,1%). Zastoupení MUFA+PUFA palmového oleje užitého v našem experimentu bylo 54,5%.

Celkovým shrnutím našich výsledků s výsledky uvedených článků jsme dospěli k podobným závěrům

ZÁVĚR

Z výše uvedených hodnot lze celkově shrnout, že odpovídají našim predikcím. Skupina s přídatkem lososového oleje vykazovala nejvyšší množství EPA a DHA v testovaných tkáních. V jaterní tkáni kvantitativní zastoupení činilo nejvyšší poměr, což je dáno účastí EPA a DHA v játrech jako regulátory metabolismu lipidů. Celkově množství DHA dvojnásobně převyšovalo druhý metabolit tvořený z α -linolenové kyseliny, EPA. Obsah α -linolenové kyseliny byl v nejvyšším množství stanoven v tukové tkáni a následně ve svalovině a jaterní tkáni u skupiny krmené lososovým olejem, tedy v opačném pořadí než její metabolity. Dle našich očekávání zvýšený obsah polynenasycených mastných kyselin ve stravě vedlo ke snížení celkového a HDL cholesterolu u skupiny s přídatkem lososového oleje. Skupina kontrolní měla celkový a HDL cholesterol průkazně nižší než skupina s přídatkem palmového oleje. Můžeme tímto odvodit, že zvýšený obsah nasycených mastných kyselin ve stravě vede i ke zvýšení celkového a HDL cholesterolu. Statisticky prokazatelné nebylo ovlivnění ve stravě obsažený zvýšený poměr nasycených ani nenasyčených mastných kyselin.

LITERATURA

Bartram HP, Gostner A, Scheppach W, Reddy BS, Rao CV, Dusel G, Richter F, Richter A, Kasper H.(1993): Effects of fish oil on rectal cell proliferation, mucosal fatty acids, and prostaglandin E2 release in healthy subjects, Department of Medicine, University of Würzburg, Germany.

Gastroenterology (105(5):1317-1322).

Shiba, S. and col. (2011): Unsaturated fatty acids in fish oil play a role adequate fat distribution to plasma, liver and white adipose tissue, Journal of Health Science, 57(4) 341-349.

Chowdhury, K., Banu, L.A., Khan, S., Latif, A. (2007): Studies on the Fatty Acid Composition of Edible Oil, *Bangladesh J. Sci. Ind. Res.*, 42(3), 311-316.

Komprda, T.: Výživa člověka, skriptá MZLU, 2007, Brno, 162 stran.

Rozíková, V.: Plynová chromatografie esterů mastných kyselin ve vybraných druzích potravin, AF Mendelu, 2010, Diplomová práce, 83 s.