

*Joanna Bryś, Magdalena Wirkowska-Wojdyła, Agata Górską,  
Ewa Ostrowska-Ligeza, Hanna Ciemnińska-Żytkiewicz, Dorota Kowalska*

## PRÓBA UZYSKANIA ZAMIENNIKÓW TŁUSZCZU MLEKA KOBIECEGO NA DRODZE PRZEESTRYFIKOWANIA ENZYMATYCZNEGO\*

Katedra Chemii, Wydział Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego  
w Warszawie,

Kierownik: prof. dr hab. *E. Białecka-Florjańczyk*

*W pracy podjęto próbę uzyskania zamienników tłuszczu mleka matki o podobnym składzie kwasów tłuszczowych i strukturze regiospecyficznej triacylogliceroli poprzez przeestryfikowanie enzymatyczne mieszanin tłuszczu mleka krowiego z olejem rzepakowym i koncentratem oleju rybiego. W tłuszczach po przeestryfikowaniu oznaczono skład kwasów tłuszczowych oraz ich rozmieszczenie pomiędzy pozycje środkową i zewnętrzne triacylogliceroli.*

Hasła kluczowe: zamienniki tłuszczu mleka kobiecego, przeestryfikowanie enzymatyczne, tłuszcz mleczny

Key words: human milk fat substitutes, enzymatic interesterification, milk fat

Mleko matki w pierwszych miesiącach życia dziecka powinno być wyłącznym pokarmem, ze względu na jego unikalny i optymalnie przystosowany skład do potrzeb szybko rozwijającego się organizmu. Składnikiem mleka o szczególnym znaczeniu fizjologicznym dla niemowląt i małych dzieci jest tłuszcz (1, 2). Badania dowiodły, że dobrze zbilansowany skład kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka stanowi konieczny element do rozwoju i budowy wielu ważnych tkanek i narządów, takich jak na przykład mózg czy siatkówka oka (1, 3).

Chociaż mleko matki uważa się za najlepsze pożywienie dla zdrowych niemowląt, nie zawsze jednak karmienie naturalne jest możliwe. Istnieje wówczas konieczność zastąpienia mleka matki mlekiem modyfikowanym (4). W celu upodobnienia mleka modyfikowanego do mleka kobiecego należy uzyskać nie tylko taką samą zawartość tłuszczu, ale przede wszystkim odtworzyć zbliżony profil kwasów tłuszczowych oraz co najtrudniejsze, budowę przestrzenną cząsteczek triacylogliceroli (TAG) (5). Głównie ze względu na sposób trawienia i wchłaniania kwasów tłuszczowych w organizmie dziecka istotny jest zatem nie tylko sam ich skład w TAG, ale przede wszystkim struktura regiospecyficzna TAG, która to w mleku matki jest unikatowa (5, 6).

W celu uzyskania podobnej struktury regiospecyficznej TAG mleka modyfikowanego do tłuszczu mleka kobiecego stosuje się modyfikację różnego rodzaju tłuszczów.

---

\* Badania były finansowane ze środków budżetowych na naukę w latach 2010–2012 jako projekt badawczy Nr N N312 068439

Jednym ze sposobów modyfikacji tłuszczów jest przeestryfikowanie enzymatyczne, w którym jako katalizatory wykorzystywane są enzymy lipolityczne (7).

Celem pracy była próba uzyskania zamienników tłuszczu mleka matki o podobnym składzie kwasów tłuszczowych i strukturze regiospecyficznej triacylogliceroli poprzez przeestryfikowanie enzymatyczne mieszanin tłuszczu mleka krowiego z olejem rzepakowym i koncentratem oleju rybiego.

## MATERIAŁ I METODY

Modyfikacji enzymatycznej poddano mieszaninę tłuszczu mleka krowiego (SM Mlekovita) z olejem rzepakowym „Kujawski” (ZT „Kruszwica” S.A) i preparatem zawierającym koncentrat oleju rybiego ROPUFA 30 n-3 FOOD Oil (DSM Nutritional Products) zmieszanych w stosunku ilościowym odpowiednio 4:5:1. Proces przeestryfikowania prowadzony był w obecności preparatu Lipozyme RM IM przez 2, 4 i 8 h w temperaturze 80°C. W tłuszczach przed i po przeestryfikowaniu oznaczono skład kwasów tłuszczowych oraz ich rozmieszczenie pomiędzy pozycje środkową i zewnętrzne triacylogliceroli zgodnie z metodyką opisaną w publikacjach (8, 9).

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Analizując skład kwasów tłuszczowych w produktach przeestryfikowania (tab. I) można stwierdzić, iż triacyloglicerole przeestryfikowanych mieszanin charakteryzowały się znaczną ilością kwasów nasyconych. W tłuszczu mleka kobiecego zauważalna jest również duża ilość (ponad 40%) nasyconych kwasów tłuszczowych (6). W produktach przeestryfikowania mieszaniny będącej przedmiotem badań znajdowało się od 32,35% do 34,49% nasyconych kwasów tłuszczowych. Analiza otrzymanych na drodze przeestryfikowania produktów wykazała, że dominującym nasyconym kwasem tłuszczowym w tych produktach był kwas palmitynowy.

Zawartość kwasów jednonienasyconych w otrzymanych produktach wynosiła od 47,17% do 48,83%. Spośród kwasów jednonienasyconych dominującym kwasem w triacyloglicerolach przeestryfikowanych produktów, podobnie jak w tłuszczu mleka kobiecego, był kwas oleinowy.

Ze względu na konieczność sprostaną wymaganiom rozwijającego się organizmu niemowlęcia, produkowane mleko musi charakteryzować się wyższą niż przeciętna zawartością wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (10). W produktach przeestryfikowania będących przedmiotem badań zidentyfikowano od 1,07% do 1,35% kwasu czerwonego. Produkty przeestryfikowania zawierały również kwas tymnodonowy, którego ilość wynosiła od 0,75% do 0,82%. Ogólna zawartość kwasów wielonienasyconych w produktach przeestryfikowania wahała się od 17,64% do 18,07%. Spośród kwasów wielonienasyconych zidentyfikowanych w przeestryfikowanych mieszaninach, podobnie jak w tłuszczu mleka kobiecego, największy udział miał kwas  $\alpha$ -linolenowy.

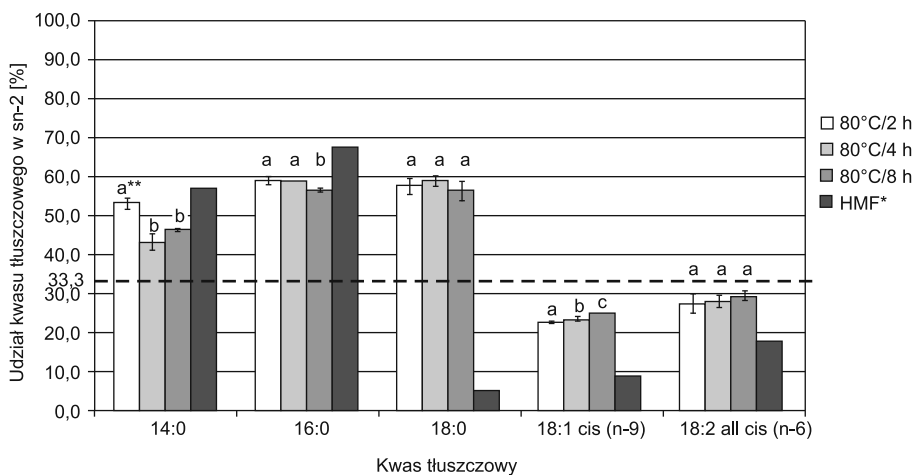
Zastosowany czas procesu nie wpłynął istotnie statystycznie na skład kwasów tłuszczowych analizowanych produktów przeestryfikowania (tab. I) .

Tabela I. Skład kwasów tłuszczowych (wybranych) w otrzymanych produktach przeestryfikowania  
 Table I. The fatty acid composition (selected) of obtained interesterified products

Kwas tłuszczowy		Zawartość w tłuszczu [%]		
Symbol	Nazwa zwyczajowa	Przeestryfikowanie w 80°C przez 2 h	Przeestryfikowanie w 80°C przez 4h	Przeestryfikowanie w 80°C przez 8 h
10:0	kaprynowy	1,09 ± 0,06 <sup>a*</sup>	1,16 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,35 ± 0,17 <sup>a</sup>
12:0	laurynowy	1,30 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,61 ± 0,02 <sup>b</sup>	2,02 ± 0,04 <sup>c</sup>
14:0	mirystynowy	5,08 ± 0,08 <sup>a</sup>	6,55 ± 0,62 <sup>b</sup>	5,83 ± 0,26 <sup>ab</sup>
C16:0	palmitynowy	17,89 ± 1,18 <sup>a</sup>	17,81 ± 0,78 <sup>a</sup>	17,93 ± 0,40 <sup>a</sup>
16:1 cis (n-7)	palmitoleinowy	1,52 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,32 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,36 ± 0,17 <sup>a</sup>
C18:0	stearynowy	5,39 ± 0,22 <sup>a</sup>	5,08 ± 0,59 <sup>a</sup>	5,54 ± 0,18 <sup>a</sup>
18:1 cis (n-9)	oleinowy	45,63 ± 0,56 <sup>a</sup>	44,63 ± 0,69 <sup>a</sup>	44,09 ± 0,08 <sup>a</sup>
18:2 all cis (n-6)	linolowy	11,50 ± 0,37	11,15 ± 0,04	10,74 ± 0,66
18:3 all cis (n-3)	α-linolenowy	4,68 ± 0,06 <sup>ab</sup>	4,57 ± 0,07 <sup>a</sup>	4,80 ± 0,03 <sup>b</sup>
20:1 cis (n-11)	gadoleinowy	1,09 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,08 ± 0,09 <sup>a</sup>	1,10 ± 0,01 <sup>a</sup>
20:5 all cis (n-3)	tymnodonowy	0,82 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,79 ± 0,09 <sup>a</sup>	0,75 ± 0,06 <sup>a</sup>
22:6 all cis (n-3)	cerwonowy	1,07 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,27 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,35 ± 0,40 <sup>a</sup>

\* Wartości oznaczone tą samą literą w wierszach nie różnią się istotnie statystycznie przy poziomie istotności  $\alpha=0,05$

Wyniki przeprowadzonej analizy rozkładu kwasów tłuszczowych w TAG produktów przeestryfikowania przedstawiono na rycinie 1.



Ryc. 1 Rozkład kwasów tłuszczowych w TAG produktów przeestryfikowania

Fig. 1 Fatty acid distribution in TAG of interesterified products

\* HMF – tłuszcz mleka kobiecego. Źródło: Lien i wsp. 1997 (11).

\*\* Udziały procentowe poszczególnych kwasów tłuszczowych oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie statystycznie przy poziomie istotności  $\alpha=0,05$

W uzyskanych przeestryfikowanych mieszaninach kwas palmitynowy w przeważającej ilości zajmował pozycję sn-2 TAG (w zależności od warunków procesu udział tego kwasu w pozycji sn-2 wynosił od 56,3 % do 59,1%). Drugim kwasem, którego udział w pozycji wewnętrznej TAG jest znaczny – zarówno w tłuszczu mleka matki jak i w przeestryfikowanych mieszaninach – jest kwas mirystynowy. Jego udział w pozycji wewnętrznej produktów przeestryfikowania osiągnął maksymalną wartość 53,2%. Taka struktura TAG jest zbliżona do tej, która występuje w tłuszczu mleka kobiecego i która to odpowiedzialna jest za poprawne wchłanianie tłuszczu z pokarmu, a także zapobiega tworzeniu się nierozpuszczalnych soli wapniowych.

Czas reakcji miał nieznaczny wpływ na rozmieszczenie kwasów tłuszczowych w TAG produktów przeestryfikowania. Im dłuższy czas przeestryfikowania, tym wyższy udział procentowy kwasu oleinowego, a niższy kwasów: mirystynowego i palmitynowego w pozycji sn-2 TAG produktów przeestryfikowania.

## WNIOSKI

1. Analizując skład kwasów tłuszczowych uzyskanych produktów przeestryfikowania należy uznać, że uzyskany profil był zbliżony do tłuszczu mleka matki.
2. Otrzymane tłuszcze przeestryfikowane zawierały niezbędne do prawidłowego rozwoju dziecka wielonienasycone kwasy tłuszczowe takie jak kwas cerwonowy i tymnodonowy.
3. Uzyskane produkty przeestryfikowania charakteryzowały się zbliżonym do tłuszczu mleka kobiecego rozmieszczeniem kwasów tłuszczowych pomiędzy pozycje wewnętrzną i zewnętrzną TAG.

J. Bryś, M. Wirkowska-Wojdyła, A. Górską, E. Ostrowska-Ligeża,  
H. Ciemnińska-Żytkiewicz, D. Kowalska

### AN ATTEMPT TO OBTAIN HUMAN MILK FAT SUBSTITUTES BY MEANS OF ENZYMATIC INTERESTERIFICATION

#### Summary

The study attempted to obtain human milk fat substitutes with a similar fatty acid composition and regiospecific structure of triacylglycerols by enzymatic interesterification of mixtures of cow milk with rapeseed oil and fish oil concentrate. The fatty acid composition and their distribution between the internal and external positions of triacylglycerols were determined after interesterification.

## PIŚMIENNICTWO

1. *Jensen R.G.*: The lipids in human milk. *Prog. Lipid Res.*, 1996; 35 (1): 53-92.– 2. *Bryś J., Wirkowska-Wojdyła M., Górską A., Ostrowska-Ligeża E., Gajda K.*: Stabilność oksydacyjna tłuszczu mleka przeżuwaczy w porównaniu z tłuszczem mleka kobiecego. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2014; 47 (3): 314-319.– 3. *Heiman H., Schanler R.J.*: Benefits of Maternal and donor human milk for premature infants. *Early Hum. Dev.*, 2006; 82: 781-787.– 4. *Stolarczyk A., Socha P.*: Tłuszcze w żywieniu niemowląt. *Nowa Pediatr.*, 2002; 3: 200-203.– 5. *Stolarczyk A.*: Tłuszcze w żywieniu niemowląt i w wybranych preparatach leczniczych. *Pediatr. Współcz. Gastroenterol. Hepatol. Żywnienie Dziecka*, 1999; 1 (2/3): 155-160.– 6. *Lopez-Lopez*

*A., Castellote-Bargalló A.I., Campoy-Folgozo C., Rivero-Urgel M., Lopez-Sabater M.C.*: Fatty acid and *sn*-2 fatty acid composition in human milk from Granada (Spain) and infant formulas. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2002; 56: 1242–1254.– 7. *Bryś J., Wirkowska M., Kowalski B.*: Przeestryfikowanie mieszanin tłuszczu mlekowego z olejem słonecznikowym w obecności preparatu Novozym 435. *Żywn. Nauka Technol. Jakość*, 2006; 2 (47): 28–35.– 8. *Bryś J., Wirkowska M., Górską A., Ostrowska-Ligeża E., Bryś A.* 2014: Application of the calorimetric and spectroscopic methods in analytical evaluation of the human milk fat substitutes. *J. Therm. Anal. Calorim.*, 2014; 118: 841-848.– 9. *Cienniewska-Żytkiewicz H., Pasini F., Verardo V., Bryś J., Koczoń P., Caboni M.F.* 2014: Changes of the lipid fraction during fruit development in hazelnuts (*Corylus avellana* L.) grown in Poland. *Eur. J. Lipid. Sci. Tech.*, 2015; 117: 710-717.– 10. *Xu X.*: Production of specific-structured triacylglycerols by lipase-catalyzed reactions: a review. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.*, 2000; 102 (4): 287 – 303.

11. *Lien E.L., Boyle F.G., Yuhas R., Tomorelli R. M., Quinlan P.*: The effect of triglyceride positional distribution of fatty acid absorption in rats, *J. Pediatr. Gastr. Nutr.*, 1997; 25: 167 – 174.

Adres: ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa