

DOROTA MARTYSIAK-ŻUROWSKA, ANDRZEJ STOŁYHWO

## SZKODLIWE DLA ZDROWIA IZOMERY TRIENOWYCH KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W MLEKU POCZĄTKOWYM I NASTĘPNYM DO ŻYWIENIA NIEMOWLĄT

### Streszczenie

Kwasy tłuszczowe zawierające układ trzech sprzężonych wiązań podwójnych TCFA (trienoic conjugated fatty acids) są produktami oksydacji lipidów szkodliwymi dla zdrowia niemowląt i jako takie mogą stanowić znacznik stopnia zaawansowania utlenienia tłuszczu mleka początkowego (infant formulae IF) i następnego (follow-on formulae FF). Zbadano zawartość TCFA w tłuszczu wolnym i w tłuszczu związanym IF i FF. Liczbowo zawartość TCFA wyrażono umownie jako parametr K [%] będący stosunkiem absorbancji układu trzech sprzężonych wiązań podwójnych kwasów tłuszczowych (analityczna długość fali 268 nm) do absorbancji charakterystycznej dla grup karbonylowych triacylogliceroli (218 nm). Próbkę odniesienia stanowił tłuszcz dojrzałego mleka ludzkiego. Parametr K tłuszczu mleka ludzkiego wynosił maksymalnie  $0,60 \pm 0,03\%$  (N=9), podczas gdy rozpiętość K tłuszczu badanych IF i FF zawierała się w granicach: minimalnie  $4,49 \pm 0,27\%$ , maksymalnie  $12,40 \pm 0,73\%$  w zależności od producenta IF i FF (5 różnych producentów, łącznie 17 produktów). Rozbieżności w zaawansowaniu stopnia utlenienia lipidów mają związek z jakością i ilością dodawanych olejów roślinnych oraz z zastosowaną technologią produkcji IF i FF. Mając na uwadze szkodliwość dla zdrowia produktów oksydacji lipidów, zwłaszcza dla niemowląt i małych dzieci, zasugerowano wprowadzenie limitu parametru K tłuszczu IF i FF na maksymalnie 6%. Spośród 17 badanych produktów 22% spełniało te wymagania.

**Słowa kluczowe:** mleko ludzkie, mleko początkowe, mleko następne, oksydacja lipidów, trienowe wiązania sprzężone, chromatografia cieczowa.

### Wprowadzenie

Mleko początkowe (infant formulae IF) i następne (follow-on formulae FF) dla niemowląt produkowane jest najczęściej na bazie mleka krowiego. Skład tłuszczu mleka krowiego różni się znacząco od tłuszczu mleka ludzkiego. Różnice te dotyczą głównie udziału niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT), proporcji

---

*Mgr inż. D. Martysiak-Żurowska Zakład Analizy i Oceny Jakości Żywności, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska ul. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk, prof. dr hab. A. Stolyhwo Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji SGGW ul. Nowoursynowska 159 c 02-776 Warszawa*

kwasów tłuszczowych (KT) nasyconych, monoenowych i polienowych; zawartości i składu tokoferoli oraz struktury stereospecyficznej triacylogliceroli [13, 14, 15, 24, 29].

Dla rozwijającego się organizmu dziecka szczególnie ważne są długołańcuchowe wielonienasycone kwasy tłuszczowe (LC PUFA). Kwasy te stanowią główny budulec tkanek układu nerwowego i mózgu dziecka [2, 10]. W ciągu pierwszych dwóch lat mózg dziecka praktycznie podwaja swoją masę, z około 600 g u niemowlęcia do około 1100 g u 2-letniego dziecka. Blisko 60% suchej masy mózgu stanowią składniki lipidowe, zwłaszcza fosfolipidy zawierające znaczne ilości LC PUFA [9, 25]. Stąd zwiększone zapotrzebowanie organizmu dziecka na prekursorzy tj. kwas linolowy C18:2 n-6 (LA) i kwas linolenowy C18:3 n-3 (ALA), które następnie są w organizmie dziecka metabolizowane do LC PUFA odpowiednio rodzin n-3 i n-6 [5, 10, 14].

Przy produkcji IF i FF niedostatek wielonienasyconych KT w mleku krowim uzupełniany jest przez dodatek olejów roślinnych np. kukurydzianego i słonecznikowego bogatych w kwas linolowy LA oraz oleju sojowego i rzepakowego zawierających oprócz LA kwas linolenowy ALA [23, 24]. Dodatek olejów w stosunku do końcowej zawartości tłuszczu w IF i FF wynosi od 40 do 100%, w zależności od producenta i stosowanej przez niego technologii. Modyfikowane mleko w proszku przeznaczone dla dzieci zawiera w 100 g od 21 do 27,7 g tłuszczu, w tym od 1,4 do 5,1g kwasu linolowego C18:2 (n-6) (tj. od 300 do 1200 mg /100 kcal mleka gotowego do spożycia) a w IF minimalnie 0,24 g kwasu linolenowego C18:3 (n-3) (50 mg /100 kcal mleka gotowego do spożycia) [6, 7, 23]. Tak więc IF i FF są to produkty wysokotłuszczowe, zawierające wielonienasycone KT podatne na utlenienie lipidów.

Tłuszcz mleka w proszku w 95% występuje w postaci kuleczek tłuszczowych z otoczkami białkowymi lub fosfolipidowo-białkowymi. Część tłuszczu występuje jako tłuszcz wolny, tj. dający się wyekstrahować bezpośrednio hydrofobowym rozpuszczalnikiem organicznym, np. heksanem [20, 29]. W modyfikowanym mleku dla niemowląt zawartość tłuszczu wolnego wynosi do 2–3% [29].

W procesie technologicznym produkcji IF i FF występuje kilka punktów krytycznych, w których dodane do mleka oleje zawierające wielonienasycone KT w sposób szczególnie narażone są na utlenienie. Należą do nich:

- homogenizacja prowadzona dwustopniowo, z dostępem powietrza, w temp. ok. 70°C;
- suszenie rozpyłowe ujednoczonego substratu, przebiegające w strumieniu gorącego powietrza. Temp. powietrza wlotowego wynosi  $180 \pm 10^\circ\text{C}$ , wylotowego  $75 \pm 5^\circ\text{C}$ . W końcowej fazie suszenia proszek mleczny osiąga temp. powietrza wylotowego, tj. 70–80°C.
- poprawiająca rozpuszczalność i zwilżalność aglomeracja wysokotłuszczowego proszku mlecznego, w trakcie której proszek nawilżany jest wilgotnym powietrzem, parą wodną lub rozpyloną w powietrzu wodą do 8–15% jej zawartości, aby cząstki uległy zlepianiu w większe, porowate aglomeraty;

- dosuszanie proszku mlecznego po aglomeracji. Temp. powietrza wylotowego w trakcie dosuszania wynosi ok. 55°C.
- pakowanie gotowego IF i FF w opakowania zbiorcze w atmosferze powietrza;
- długotrwałe przechowywanie gotowego produktu, bez usunięcia powietrza z wnętrza porowatych cząstek proszku mlecznego [20, 29].

Mając na uwadze powyższe punkty krytyczne istnieje racjonalne zagrożenie oksydacji lipidów w modyfikowanym mleku w proszku przeznaczonym dla niemowląt. Podczas utlenienia tworzą się wolne rodniki, nadtlenki, wodoronadtlenki a w następnej kolejności liczne aldehydy, ketony, związki karboksylowe, kwasy tłuszczowe z układem sprzężonych wiązań podwójnych i potrójnych, związki hydroksyepoksydowe, estry, alkohole, dimery i polimery [4, 5, 11, 12, 16, 30].

Jedną z grup produktów utleniania lipidów stanowią kwasy tłuszczowe zawierające układ trzech sprzężonych wiązań podwójnych (trienoic conjugated fatty acids TCFA). Każdy powstały TCFA może być jednocześnie izomerem położenia, jak i konfiguracji geometrycznej. Możliwość występowania tak różnorodnych izomerów TCFA ma wpływ na powinowactwo do nich enzymów ustrojowych. I tak niektóre z tych izomerów mogą zajmować miejsce ALA w szlaku metabolicznym i stanowić substrat do desaturacji i wydłużenia łańcucha węglowego. Prowadzi to do powstania wielu nietypowych LC PUFA, o zupełnie odmiennych właściwościach w stosunku do LC PUFA naturalnych. Wbudowanie w błony komórkowe nietypowych LC PUFA drastycznie zmienia ich właściwości i funkcjonowanie, co ma zasadnicze znaczenie dla rozwoju układu nerwowego dziecka [1, 17, 30].

TCFA są silnymi inhibitorami biosyntezy prostaglandyn [18]. U szczurów przyswajane z dietą KT zawierające sprzężone układy wiązań podwójnych powodują powstawanie morfologicznych zmian w wątrobie [28]. Izomery *trans* wielonienasyconych KT zmieniają właściwości fizjologiczne płytek krwi i redukują ich agregację [1].

Naturalnie TCFA wykryte zostały w nasionach nagietka, pestkach owocu granatu, w oleju z nasion chińskiego drzewa tungowego i surmii zwyczajnej [27]. W olejach roślinnych uważanych powszechnie za oleje spożywcze TCFA naturalnie nie występują.

Pewne ilości KT zawierających układ dwóch i trzech sprzężonych wiązań podwójnych powstają w olejach roślinnych w trakcie ich rafinacji, głównie na etapie bielienia i odwaniania oleju [26]. Norma PN-A-86908:2000 [22] dotycząca olejów roślinnych rafinowanych, które mogą stanowić substrat do produkcji mleka początkowego i następnego nie definiuje poziomu zawartości TCFA. Jedynym ograniczeniem w tym względzie jest dopuszczalna zawartość izomerów *trans* KT do 2% (m/m), bez rozróżnienia liczby wiązań podwójnych.

Wymagania w stosunku do IF i FF, zawarte w rozporządzeniu Ministra Zdrowia [23] i Dyrektywie UE [6, 7], nie limitują obecności ani poziomu występowania jakiegokolwiek substancji będącej produktem oksydacji lipidów i nie wyczerpują

kontroli jakości zdrowotnej produktu. Tym samym, niemowlęta są potencjalnie narażone na działanie szkodliwych dla zdrowia produktów oksydacji lipidów, które z powodu niedoskonałej technologii mogą być w IF i FF obecne.

Niniejsza praca ma na celu określenie obecności i poziomu występowania w dostępnych handlowo IF i FF dla niemowląt szkodliwych dla zdrowia kwasów tłuszczowych zawierających trzy sprzężone wiązania podwójne TCFA oraz zaproponowanie limitu zawartości tych izomerów KT w modyfikowanym mleku przeznaczonym dla niemowląt i małych dzieci.

### **Materiał i metody badań**

Spośród kilkunastu dostępnych na polskim rynku rodzajów mleka początkowego i następnego dla niemowląt do badań wybrano te najczęściej kupowane. Pochodzące od 5 różnych producentów IF i FF oznaczono literami od A do E. Łączna liczba próbek wyniosła 17. Wszystkie IF i FF badano w okresie ich przydatności do spożycia, niezwłocznie po otwarciu opakowania. Próbkę odniesienia stanowiło dojrzałe mleko ludzkie uzyskane od 9 kobiet. Mleko ludzkie natychmiast po pobraniu zamrażano (-22°C). Izolację tłuszczu prowadzono nie później niż 24 godz. po pobraniu mleka.

Tłuszcz wolny ekstrahowano z proszku mlecznego i mleka kobiecego mieszaniną n-heksan: chlorek metylenu 7:3 (v:v) [21]. Ekstrakcję tłuszczu związanego (zemulgowanego) przeprowadzono metodą Roesse'go-Gottlieba [19].

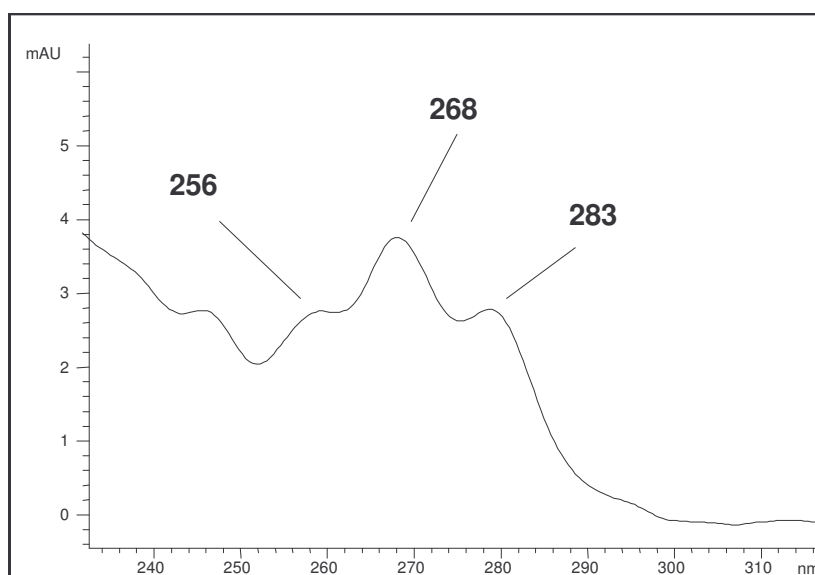
Separacje triacylogliceroli TAG, w formie 2% roztworu tłuszczu wydzielonego z IF i FF oraz z mleka ludzkiego w n-heksanie, prowadzono techniką HPLC [3, 26], z użyciem chromatografu cieczowego HP 1050 z matrycą fotodiodową (DAD), stosując fazę ruchomą n-heksan:propanol-2:acetonitryl 18:24:58 (v:v:v). Chromatogramy zapisywano jednocześnie w dwóch kanałach – 268 nm oraz 218 nm, wykorzystując program Chem Station. Szerokość wiązki w obu przypadkach wynosiła 5 nm. Wypełnienie kolumny: ODS-C<sub>18</sub>, 250 × 4,6 mm, wielkość ziaren 5 μm. Szybkość przepływu fazy ruchomej: 1,0 ml/min.

Ze względu na znaczną różnorodność izomerów TCFA, które mogą powstać w wyniku procesów technologicznych stosowanych przy produkcji IF i FF ich izolacja, analiza i identyfikacja jest stosunkowo trudna. Z tego względu za najkorzystniejszą uznano metodę bezpośredniego oznaczania zawartości TCFA w tłuszczu.

Nasycone i nienasycone kwasy tłuszczowe występujące w olejach roślinnych i tłuszczach zwierzęcych oraz natywne triacyloglicerole nie absorbują promieniowania UV powyżej 220 nm. Natomiast niektóre produkty oksydacji lipidów wykazują maksimum absorpcji przy długości fali powyżej tej wartości, np. wodoronadtlenki – 240 nm, aldehydy – 235–240 nm, układ dwóch sprzężonych wiązań podwójnych w łańcuchu węglowodorowym – 233 nm. Również układ trzech sprzężonych wiązań podwójnych wykazuje silną absorpcję w zakresie UV z maksimum absorpcji przy 256 nm, 268 nm (analityczna długość fali) i 283 nm (rys. 1). W niniejszej pracy

właśnie tę cechę izomerów TCFA wykorzystano do ich bezpośredniego oznaczenia w badanych próbkach lipidów.

W celu scharakteryzowania zawartości TCFA w tłuszczu mleka początkowego i następnego w niniejszej pracy zastosowano pomiar instrumentalny. Istota pomiaru polega na określeniu stosunku sumy absorbancji triacylogliceroli zawartych w próbce przy 268 nm do absorbancji przy 218 nm [8].



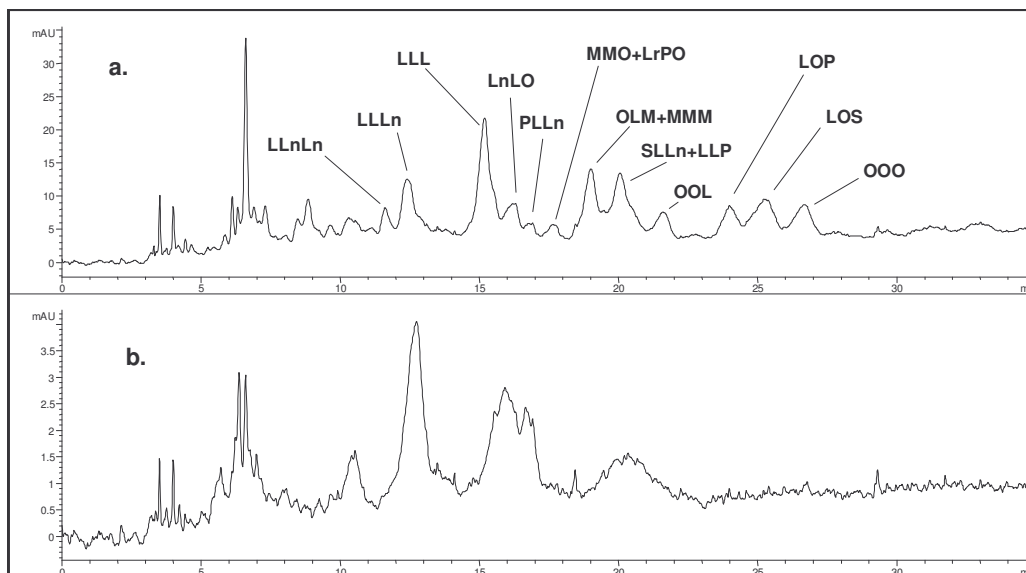
Rys. 1. Widmo UV kwasu oktadekatrienowego C18:3 all *cis*-9,11,13 (z układem trzech sprzężonych wiązań podwójnych).

Fig. 1. UV spectrum of oktadecatrienoic acid C18:3 all *cis*-9,11,13 (with trienoic conjugated double bonds).

## Wyniki i dyskusja

Kwasy tłuszczowe KT zawierające układ dwóch i trzech sprzężonych wiązań podwójnych stanowią jedne z pierwszych wtórnych produktów autooksydacji lipidów [4]. Zawartość w tłuszczu TCFA może stanowić znacznik (marker) stopnia zaawansowania oksydacji lipidów bogatych w wielonienasycone KT w IF i FF.

Przykładowe chromatogramy TAG zarejestrowane przy długości fali światła 268 i 218 nm przedstawiono na rys. 2. Użyta przy detekcji wąska wiązka spektralna (5 nm) umożliwia selektywny wybór tylko takich TAG rozdzielonych techniką HPLC, które absorbują w określonym obszarze widma. Natomiast na podstawie chromatogramów zarejestrowanych przy  $\lambda=218$  nm określono skład TAG próbek tłuszczu mleka (rys. 2a).



Rys. 2. Chromatogramy HPLC-DAD TAG tłuszczu mleka początkowego dla niemowląt (A.IF).

Fig. 2. A HPLC-DAD chromatograms of TAG of fat in infant formulae (A.IF).

Objaśnienia: / Explanatory notes:

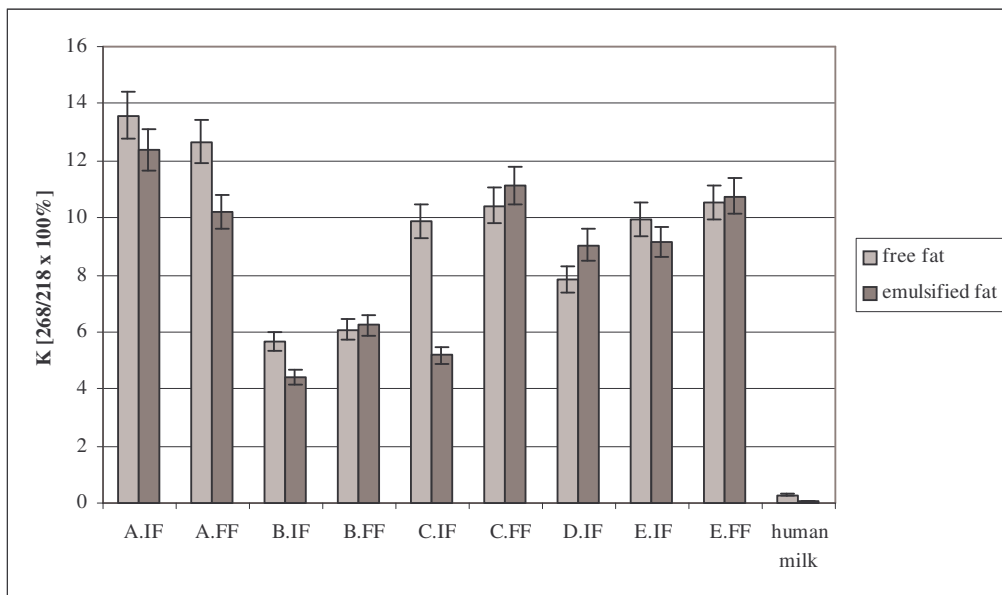
zapisany przy długości fali 218 nm i szerokości wiązki spektralnej 5 nm; wiązka odniesienia 550 nm, szerokość wiązki 10 nm / UV detection at 218 nm, bandwidth (BW) 5 nm; reference wavelenght at 550 nm, BW 10 nm.

zapisany przy długości fali 268 nm i szerokości wiązki spektralnej 5 nm; wiązka odniesienia 550 nm, szerokość wiązki 10 nm / UV detection at 268 nm, BW 5 nm; reference wavelenght at 550 nm, BW 10 nm.

Symbole kwasów tłuszczowych: L – kwas linolowy, Ln – kwas linolenowy, O – kwas oleinowy, P – palmitynowy, S – stearynowy, M – mirystynowy, Lr – laurynowy. Kolejność liter nie oznacza kolejności rozmieszczenia KT w poszczególnych pozycjach *sn-1*, *sn-2* i *sn-3* glicerolu. / Symbols of fatty acids: L – linoleic acid, Ln – linolenic acid, O – oleic acid, P – palmitic acid, S – stearic acid, M - myristic acid, Lr – lauric acid. The letter sequence does not represent stereospecific distribution of fatty acids in position *sn-1*, *sn-2* and *sn-3* of glycerols.

Liczbowo stosunek absorpcji wyrażano w procentach jako parametr K stanowiący stosunek sumy pól powierzchni pików TAG zarejestrowanych przy 268 nm do sumy pól powierzchni pików TAG zarejestrowanych przy 218 nm (1).

$$K = \frac{\text{suma pól powierzchni pików TAG zarejestrowanych przy 268 nm}}{\text{suma pól powierzchni pików TAG zarejestrowanych przy 218 nm}} \cdot 100, [\%] \quad (1)$$



Rys. 3. Wartości parametru K tłuszczu mleka początkowego IF, następnego FF i tłuszczu mleka ludzkiego ( $P = 95\%$ ,  $\Delta x = 5,87\%$ ).

Fig. 3. 'K' parameter values of fats in infant formulae IF, follow-on formulae FF, and of the human milk fat ( $P = 95\%$ ,  $\Delta x = 5,87\%$ ).

Pomimo występowania w mleku kobiecym naturalnych, fizjologicznych procesów oksydacji lipidów pod wpływem m.in. cyklooksygenazy i lipooksygenazy, w badanych próbkach tłuszczu mleka ludzkiego stwierdzono tylko śladową obecność TCFA. W przypadku mleka ludzkiego średnia wartość K tłuszczu wolnego wynosiła 0,29% (zakres: od <0,05% do 1,40%), tłuszczu związanego 0,09% (zakres: od <0,05% do 0,59%), podczas gdy tłuszczu IF i FF od 4,43% (tłuszcz związany, B.IF) do 13,59% (tłuszcz wolny, A.IF), w zależności od producenta (rys. 3)

Na podstawie przeprowadzonego testu t-Studenta obliczono, że wartości parametru K tłuszczu wolnego statystycznie nie odbiegały od wartości K tłuszczu związanego. Występowanie TCFA nie zależy więc od formy w jakiej triacyloglicerole występują w badanym mleku IF i FF.

Spośród badanego mleka w proszku najniższą wartość parametru K stwierdzono w tłuszczu mleka początkowego i następnego producenta B. Średnia ważona wynosiła odpowiednio  $4,49 \pm 0,27\%$  i  $6,22 \pm 0,37\%$ . Najwyższą średnią ważoną wartość stosunku absorpcji K wykazywał tłuszcz mleka początkowego wytworzonego przez producenta A –  $12,40 \pm 0,73\%$ .

Pozostałe średnie ważone wartości parametru K wynosiły: produkt A.FF –  $10,33 \pm 0,61\%$ ; produkt C.IF –  $6,47 \pm 0,32\%$ ; produkt C.FF –  $10,47 \pm 0,65\%$ ; produkt D.IF –  $8,99 \pm 0,52\%$ ; produkt E.IF –  $9,19 \pm 0,55\%$ ; produkt E.FF –  $10,74 \pm 0,63\%$ .



W olejach roślinnych w trakcie ich rafinacji powstają pewne ilości KT zawierających układy dwóch i trzech sprzężonych wiązań podwójnych. Głównym „źródłem” TCFA jest etap bielienia oleju w temp. 175–225°C oraz odwaniania w temp. 240–270°C. Niemniej zasadnicza ilość TCFA powstaje podczas produkcji IF i FF, m.in. w trakcie suszenia rozpyłowego produktu wzbogaconego w wysoko nienasycony olej sojowy i rzepakowy. Skutkiem bardzo rozwiniętej powierzchni i kontaktu z tlenem następują przyspieszone procesy oksydacji, które trwają również podczas przechowywania mleka modyfikowanego w dużych opakowaniach zbiorczych, aż do momentu przepakowania gotowego produktu w atmosferze azotu w opakowania jednostkowe. Tym samym normowanie jakości oleju dodawanego do preparatów do żywienia niemowląt byłoby tylko półśrodkiem niezapewniającym jakości produktu końcowego.

W przekonaniu autorów tolerancje zawartości TCFA powinny dotyczyć gotowych produktów przeznaczonych dla niemowląt i stanowić kompromis pomiędzy tym, co jest wymagane teoretycznie (brak), a tym co jest praktycznie osiągalne (wartość K od 4,49 do 12,40%).

### Wnioski

1. W tłuszczu mleka ludzkiego stwierdzono tylko śladową obecność TCFA. Na 9 badanych próbek maksymalna średnia ważona wartość parametru K wynosiła  $0,60 \pm 0,03\%$ .
2. Parametr K tłuszczu ogólnego mleka początkowego i mleka następnego do żywienia niemowląt wynosił od 4,49 do 12,40 %, w zależności od producenta preparatu.
3. Mając na uwadze szkodliwość produktów autooksydacji lipidów należałoby uzupełnić normy jakościowe dotyczące mleka początkowego i mleka następnego o tolerancje zawartości tego typu substancji.
4. Autorzy sugerują wprowadzenie limitu wartości stosunku absorpcji K tłuszczu mleka początkowego i następnego dla niemowląt na maksymalnie 6% dla sumy TAG tłuszczu ogólnego izolowanego metodą Roesse’go-Gattlieba. Taki poziom stosunku absorpcji K stwierdzono w przypadku 22% analizowanych produktów.

*Praca wykonana w ramach PB 3 P06T 032 234*

### Literatura

- [1] Chardigny J.-M., Sebedio J.-L., Juaneda P., Vatele J.-M., Grandgirard A.: Effects of trans n-3 polyunsaturated fatty acids on human platelet aggregation. *Nutr. Res.*, 1993, **15** (10), 1463-1471.



- [2] Das U.N.: Long-chain polyunsaturated fatty acids in the growth and development of the brain and memory. *Nutr.*, 2003, **19**, 62-65.
- [3] Dotson K.D., Jerrell J.P., Picciano M.F., Perkins E.G.: High-performance liquid chromatography of human milk triacylglycerols and gas chromatography of component fatty acids. *Lipids*, 1992, **27(11)**, 933-939.
- [4] Drozdowski B.: *Lipidy*. W: *Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności – pod red. Z.E. Sikorskiego*, WNT. Warszawa 1994.
- [5] Esterbauer H.: Cytotoxicity and genotoxicity of lipids – oxidation products. *Am. J. Clin. Nutr.* 1993, **57** (suppl), 779S-86S.
- [6] European Commission. Commission Directive of 14 May 1991 on infant formulae and follow-on formulae (91/321/EEC).
- [7] European Commission. Directive of the European Commission of 16 February 1996 (96/4/EC).
- [8] *Farmakopea Polska*. Tom V. Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, Warszawa 1999, s. 466-470
- [9] Górnicki B., Dębiec B., Baszczyński J.: *Pediatrics*. Tom 1. PWL. Warszawa 1995.
- [10] Guestry P.: The role of nutrition in brain development. *Preventive Medicine* 1998, **27**, 189-194.
- [11] Guichardant M., Bernoud-Hubac N., Chantegrel B., Deshayes C., Lagarde M.: Aldehydes from n-6 fatty acid peroxidation. Effect on aminophospholipids. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 2002, **67**, 147-149.
- [12] Halliwell H., Chirico S.: Lipids peroxidation: its mechanism, measurement and significance. *Am. J. Clin. Nutr.* 1993, **57** (suppl.), 715s-25s.
- [13] Jensen R.G., Clark R.M., Ferris A.M.: Composition of the Lipids in Human Milk: A Review. *Lipids*, 1980, **15** (5), 345-355.
- [14] Jensen R.G., Ferris A.M., Lammi-Keefe C.J.: Lipids in human milk and infant formulas. *An. Rev. Nutr.*, 1992, **12**, 417-441.
- [15] Jensen R.G., Jensen G.L.: Specialty lipids for infant nutrition. I. Milk and formulas. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1992, **15**, 232-245.
- [16] Kinter M.: Analytical technologies for lipid oxidation products analysis. *J. Chromatogr. B*, 1995, **671**, 223-236.
- [17] Larqué E., Zamora S., Gil A.: Dietary *trans* fatty acids in early life: a review. *Early Hum. Dev.* 2001, **65** (Suppl.), S31-S41.
- [18] Nugteren D.H., Christ-Hazelhof E.: Naturally occurring conjugated octadecatrienoic acids are strong inhibitors of prostaglandin biosynthesis. *Prostaglandins* 1987, **33(3)**, 403-417.
- [19] Official Method of Analysis of the AOAC 19<sup>th</sup> Ed. 1990, Method No 905.02, p. 811;
- [20] Pijanowski E.: *Zarys chemii i technologii mleczarstwa*. Tom 1. PWRiL. Warszawa 1984.
- [21] PN-78/A-86030. Mleko i przetwory mlecarskie. Mleko w proszku. Metody badań.
- [22] PN-A-86908:2000. Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Rafinowane oleje roślinne
- [23] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z 26 kwietnia 2004 roku w sprawie środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego. *Dz. U.* 2004. Nr 104, poz. 1094.
- [24] Sawatzki G., Georgi G., Kohn G.: Pitfalls in the design and manufacture of infant formulae. *Acta Paediatrica Suppl.*, 1994, **402**, 40.
- [25] Słomko Z.: *Medycyna perinatalna*. Tom 1. PZWL. Warszawa 1990.
- [26] Stołyhwo A.: Metody HPLC i HR-GC w badaniach składu tłuszczów naturalnych, modyfikowanych chemicznie, margaryn i mleka kobiet. Konferencja „Dni MERCKA w Polsce” pt. „Metody analizy żywności w perspektywie wymagań Unii Europejskiej” Warszawa, listopad 1995, s. 23-38;
- [27] Suzuki R., Noguchi R., Ota T., Abe M., Miyashita K., Kawada T. Cytotoxic effect of conjugated trienoic fatty acids on mouse tumor and human monocytic leukemia cells. *Lipids* 2001, **36(5)**, 477-482.

- [28] Yamasaki M., Mansho K., Mishima H., Kimura G., Sasaki M., Kasai M., Tachibana H., Ymada K.: Effect of dietary conjugated linoleic acid on lipid peroxidation and histological change in rat liver tissues. *J. Agric. Food Chem.* 2000, **48(12)**, 6367-6371.
- [29] Ziajka S.: *Mleczarstwo – zagadnienia wybrane*. Tom 1 i Tom 2. Wydawnictwo ART. Olsztyn 1997.
- [30] Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J.: *Tłuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe*. PWN. Warszawa 1991.

## HEALTH IMPAIRING TRI-UNSATURATED FATTY ACIDS IN THE INFANT FORMULAS

### S u m m a r y

Fatty acids containing a system of three conjugated double bonds in their structure (TCFA, i.e. trienoic conjugated fatty acids) are products of lipid oxidation and appear harmful to infant health; as such, they can be used as determinants to determine a degree of acid oxidation and its progress in the infant formula IF and FF (follow-on formula). The TCFA content was determined in a free and bonded acid contained in IF and FF, and expressed numerically as a 'K' parameter [%]. The 'K' parameter is a ratio between the absorbance of the system of three conjugated double bonds in fatty acids (the analytical wave length is 256 nm) and the absorbance characteristic for carbonyl groups of triacylglycerols (218 nm). A reference sample was acid contained in the mature human milk. The maximum 'K' parameter value of human milk was  $0.60 \pm 0.03\%$  (N=9) whereas its range in the case of IF and FF studied was between  $4.49 \pm 0.27\%$  (minimum) and  $12.40 \pm 0.73\%$  (maximum) and depended on the manufacturer of IF and FF (there were 5 manufacturers who supplied 17 products in total). Discrepancies in the progress of lipid oxidation degree are to be attributed to the quality and quantity of plant oils added to the formulas, and to the manufacturing technology applied to produce IF and FF. Because of the harmfulness of lipid oxidation products, especially to infants and little children, it was suggested that the 'K' parameter of fat as contained in IF and FF should be limited to 6% at the most. From among all 17 studied samples, 22% met this requirement.

**Key words:** human milk, infant formulae, follow-on formulae, lipid oxidation, conjugated trienoic double bonds, liquid chromatography 