

Az eltérő életteni szereppel rendelkező zsírsavak vizsgálata háziállatokkal (OTKA T037963)

ZÁRÓJELENTÉS

A pályázatban megfogalmazott kutatási feladatok három csoportjában végzett vizsgálatok eredményei a következőkben foglalhatók össze:

I. A hazánkban tenyésztett és élelmiszerforrásként hasznosításra kerülő főbb állatfajok különböző genotípusai és szöveteik zsírsavösszetétele közötti összefüggések.

Juhtej esetében Suffolk, Pannon húsjuh és Booroola, sertésfajban magyar Nagyfehér és Duroc, szarvasmarha fajban pedig Holstein-fríz fajták eltérő korcsoportú egyedeinek intramuscularis és zsírszöveti lipidjeinek zsírsavösszetételét vizsgáltuk.

A vizsgált háziállatfajokon belüli fajták közötti összehasonlítások azt igazolják, hogy a test zsírtartalma szoros összefüggést mutat úgy az intramuscularis, mint az adipoza-szövetben mért zsírsavösszetétel alakulásával. A nagyobb testzsírtartalom, a telített, elsősorban a palmitinsav (C16:0) szignifikánsan nagyobb arányával párosult, míg az alacsonyabb testzsírtartalom a többszörösen telítetlen zsírsavak, elsősorban a linolsav (C18:2n-6) nagyobb relatív mennyiségével járt együtt. Kísérleteinkben a gyorsabban növekedő fajták testének zsírtartalma, adott időpontban konzekvensen kisebb zsírtartalommal járt együtt, mint a lassúbb növekedési erélyű fajtákban. Ennek eredményeként a növekedés intenzitásának élénkülése a szöveti lipidek zsírsav-telítettségének fokozódásával járt együtt. Ezen összefüggés alapján a Duroc sertés, valamint a Suffolk juh lipidjeinek zsírsavösszetétele humán-élelmészeti szempontból kedvezőbbnek bizonyult a magasabb telítetlen zsírsavak aránya miatt, mint a Nagyfehér hússertés vagy a Merinó juh fajta esetében.

A fiatalabb korcsoportú állatok testszöveteinek (izom-, zsírszövet) lipidjeiben a telített zsírsavak aránya ugyancsak kisebb volt, mint az idősebb korcsoportokban, ezzel szemben a többszörösen telítetlen zsírsavak aránya nagyobbak mutatkoztak. A növekedési sebesség függvényében tapasztalt változások az ivarok között is megmutakozott. A gyorsabban növekedő hímváru egyedekben, főként a két vizsgált sertésfajtában és a juhajtákban az összes telített zsírsav (TSFA) aránya a nőivarú egyedekben szignifikánsan nagyobbak mutatkoztak, mint a hímváruakban.

Az egyes fajokban vizsgált izomcsoportok összehasonlítását tekintve megállapítottuk, hogy a fehér izmokban (pl. *m.longissimus dorsi*) a két domináns telítetlen zsírsav (C16:0 és C18:0) aránya az intramuscularis lipidekben szignifikánsan nagyobb, mint a vörös izmokban (pl. *m.semitendinosus*). A telítetlen zsírsavak, köztük a C18:2n-6 és a C20:4n-6 tartalom ugyanakkor a vörös izmokban nagyobb, mint a fehér izmokban.

Az egyes háziállatfajok szövetei lipidjeiben előforduló zsírsavak összetételét vizsgálataink tanulságai szerint a faji sajátosságokon kívül azonos takarmányozási körülmények között a fajta és az ivar is jelentősen befolyásolja. A nagyobb növekedési eréllyel rendelkező fajták és a hímváru szövetei lipidjeiben a telített zsírsavak aránya kisebb, a telítetleneké ugyanakkor nagyobb, mint a lassú növekedésű fajtákban, illetve a nőivarú egyedekben.

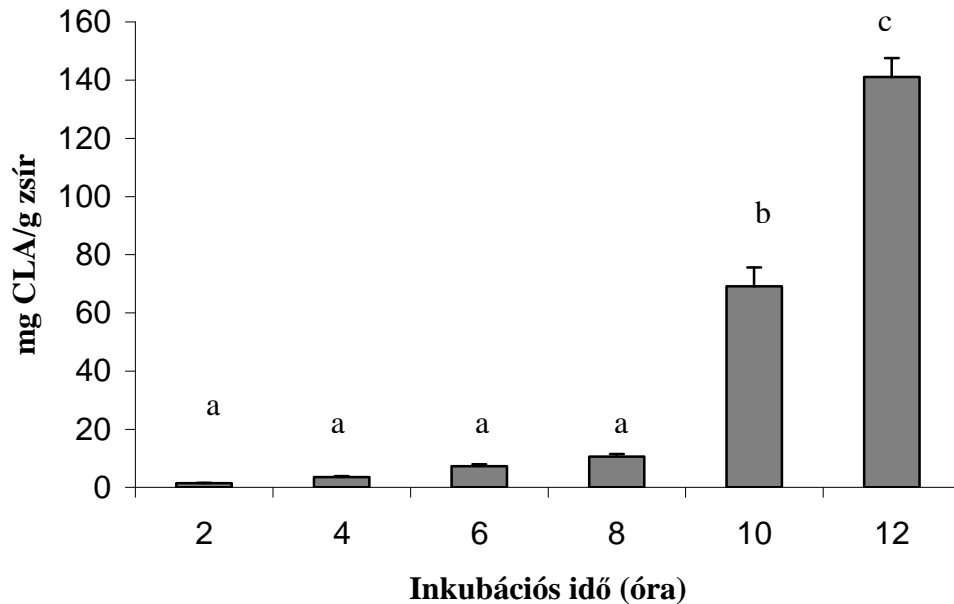
II. Az állati szövetek konjugált linolsav (CLA) tartalmának vizsgálata

Vizsgálataink célja egy új módszer kidolgozása volt a CLA eltérő izomerjeinek mérésére. Miután reprodukálható eredményeket kaptunk, két kísérletet állítottunk be kérődzőkkel. Első modellkísérletünkben bendőfisztulával ellátott anyajuhokban mértük, hogy a kérődzők bendőjében folyó mikrobás fermentáció és a CLA-produkció között milyen összefüggés van. Ezt követően vad kérődzőfajok szövetei lipidjeinek CLA koncentrációit vizsgáltuk gím- és dámszarvas bikák mintáiban.

1. Bendőfisztulával ellátott felnőtt anyajuhokkal végzett kísérlet

Arra kerestük a választ, hogy hogyan változik a takarmányból felvett zsírsavak szerkezete és azok konjugált linolsav tartalma a bendőben történő inkubálás során. A kísérletben szójaolaj, halolaj, napraforgóolaj és a napraforgóolaj Ca-szappan inkubálását végeztük, olajonként 10 nap elöletést követően. Alaptakarmányként anyajuh tápot és angolperjéből készített rétiszenát etettünk. Az olajokat 3-5 %-ban kevertük az abrakkeverékhez. Az inkubálás során az egyes olajokat 37,5 %-ban bentonitföld hordozóra vittük fel. Ezt dacron-poliészter zsákokban helyeztük a bendőbe, majd 16, 20, 24 és 28 – órás inkubálás után a zsákok tartalmát nedvesen eltávolítottuk. A mintákat homogenizáltuk, majd mindegyikből egységnyi mennyiséget extraháltunk. Az így visszanyert zsírokat észtereztük, és gázkromatográf segítségével meghatároztuk a zsírsavösszetételüket. A kromatogramok kiértékelt eredményei azt mutatták, hogy a magas linolsav-arányú prekursor jelenlétében (szója, napraforgó) nagyobb mennyiségű CLA képződött a bendőben, a prekursor szintjének szignifikáns csökkenése mellett. A szójaolaj inkubálása esetében több izomer jelenlétét figyeltük meg, egyenként kisebb mennyiségben (ezek közül a *cis*-9, *trans*-11 CLA koncentrációjának változását az 1. táblázat mutatja), míg napraforgóolaj

vizsgálatánál elsősorban a *cisz-9; transz-11* C18:2 izomer jelent meg, mégpedig szignifikánsan nagyobb mennyiségben, mint a szójaolaj inkubálásakor. A halolaj inkubálását követően nem vagy alig detektálható mennyiségben tudtuk kimutatni a zsírból a CLA izomereket. Figyelemre méltó, hogy a védett zsírnak számító napraforgóolaj Ca-szappan esetében hosszabb inkubációs idő alkalmazásakor magasabb CLA szint mutatkozott, mint a napraforgóolaj bendőbeli inkubálását követően. Eddigi eredményeink alapján további kísérleteket tervezünk annak felderítésére, hogy a megfelelő prekursorból a bendőben képződött konjugált linolsav milyen takarmányozási módok mellett transzformálható legjobb hatásfokkal az állati termékbe.



1. ábra A CLA tartalom változása juhok bendőjében szójaolaj inkubáció hatására (átlag \pm szórás /SEM/) A különböző betűjelzésű átlagok szignifikánsan különböznek ($P < 0,05$)

2. Kérődző vadfajok szöveteinek konjugált linolsav tartalma

A vizsgálati mintákat, gím és dámszarvas bikákból gyűjtöttük. Mindkét faj egyedei vagy a Kaposvári Egyetem bőszenfai vadaskertjéből vagy a Mecseki Erdő és fafeldolgozó Zrt. szabadterületéről származott. Ennek megfelelően össze tudtuk hasonlítani két eltérő ökológiai származású állomány szöveteinek CLA tartalmát. A vadaskertben az erdőterületet cseres tölgyes, bükkös, nagylevelű hárs képezte. Az állatok számára 150 hektáron állt rendelkezésre vadlegelő, ebből vetett legelőként szarvaskerep, fehérhere és különböző perjefélék formájában volt található. Két vadföldbe cirkot és kukoricát vetettek. Az állatok egész évben kiegészítő takarmányozásban részesülnek. Ez a nyári időszakban roppantott zabot és tritikálét, télen pedig fűszénázst, silózott cukorrépat és szemeskukoricát jelentett. A szabadterület egy 3200 ha nagyságú gyertyános tölgy, és ezüsthársos bükkös erdő volt. Ehhez 47 hektárnyi mezőgazdaságilag művelt területcsatlakozott, amely vadföldként funkcionált. Kiegészítő takarmányozásban csak télen részesülnek az állatok, ez lucerneszéna, kukoricaszilázs és szemeskukorica volt. A szarvasbikákat a 2005 évi őszi vadász szezonban ejtették el. Az elejtést utáni begyűjtést követően az állatok a Kaposvári Egyetem Vadfeldolgozó Üzemébe (Bőszenfa) kerültek, ahol mintát vettünk a hosszú hátizomból az utolsó ágyékcsigolya síkjában, valamint a vesekörüli zsírtokból. Meghatároztuk azok CLA zsírsavait gázkromatográfiás módszerrel a Veszprémi Egyetem GMK Állatélettani és Takarmányozástani Laboratóriumában.

Mind a gím- mind dámszarvas esetében az uralkodó CLA a *cisz-9, transz-11* C18:2 zsírsav volt (dám zsírszövet: 22.7 ± 1.9 , izomszövet: 4.0 ± 0.3 ; gím zsírszövet: 18.1 ± 1.0 , izomszövet: 3.16 ± 0.3 mg/100g zsír). A két faj között egyik CLA izomér esetében sem találtunk szignifikáns különbséget. A származási hely ökológiai viszonyainak különbsége ugyanakkor szignifikáns eltérést okozott akár a zsírszövet, akár az izomszövet *cisz-9, transz-11* C18:2 tartalmában (1. és 2. táblázatok).

Eltérő életkörülmények (vadaskert és szabadterület) között élő gímszarvas egyedek adiposa-szövetében mért *transz* C 18:1 zsírsavainak és konjugált linolsav (CLA) izomerjeinek mennyisége (mg/g zsír)

| Zsírsav jele | Vadaskert (n=22) | Szabadterület (n=15) | Szignifikancia |
|----------------------------------|------------------|----------------------|----------------|
| <i>-transz-9</i> C18:1 | 2,14 ± 0,36 | 3,36 ± 0,35 | 0,02 |
| <i>-transz-11</i> C18 | 17,22 ± 0,88 | 19,83 ± 2,22 | 0,23 |
| <i>-cisz-9,transz-11</i> C18:2 | 1,26 ± 0,17 | 1,51 ± 0,32 | 0,49 |
| <i>-transz-10,cisz-12</i> C18:2 | 0,85 ± 0,07 | 0,72 ± 0,06 | 0,23 |
| <i>-cisz-9,cisz-11</i> C18:2 | 0,27 ± 0,02 | 0,23 ± 0,03 | 0,47 |
| <i>-transz-9,transz-11</i> C18.2 | 0,45 ± 0,09 | 0,58 ± 0,11 | 0,37 |

Eltérő életkörülmények (vadaskert és szabadterület) között élő gímszarvas egyedek intramusculáris (m. longissimus dorsi) lipidjeinek *transz* C 18:1 zsírsavainak és konjugált linolsav (CLA) izomerjeinek mennyisége (mg/g zsír)

| Zsírsav jele | Vadaskert (n=22) | Szabadterület (n=15) | Szignifikancia |
|----------------------------------|------------------|----------------------|----------------|
| <i>-transz-9</i> C18:1 | 0,72 ± 0,11 | 0,35 ± 0,050 | 0,01 |
| <i>-transz-11</i> C18 | 2,87 ± 0,31 | 3,18 ± 0,400 | 0,55 |
| <i>-cisz-9,transz-11</i> C18:2 | 1,16 ± 0,10 | 1,45 ± 0,160 | 0,12 |
| <i>-transz-10,cisz-12</i> C18:2 | 0,44 ± 0,07 | 0,60 ± 0,100 | 0,20 |
| <i>-cisz-9,cisz-11</i> C18:2 | 0,45 ± 0,20 | 0,17 ± 0,030 | 0,45 |
| <i>-transz-9,transz-11</i> C18.2 | 0,32 ± 0,05 | 0,39 ± 0,050 | 0,41 |

III. Az n-3 zsírsavak és a CLA mennyiségének növelése az állati szövetekben takarmányozási módszerekkel.

Ebbe az altémába tartozó vizsgálatainkban megpróbáltunk olyan módszereket kidolgozni, amelyek segítségével az állati eredetű élelmiszerek zsírsavösszetétele a humán fogyasztó számára egészségesebbé tehető. Elsősorban az n-3 és a CLA tartalmat kívántuk növelni az élelmiszer-alapanyagokban baromfi, növendékbárány és tejelő tehén kísérleteinkben.

1. Baromfival végzett vizsgálataink

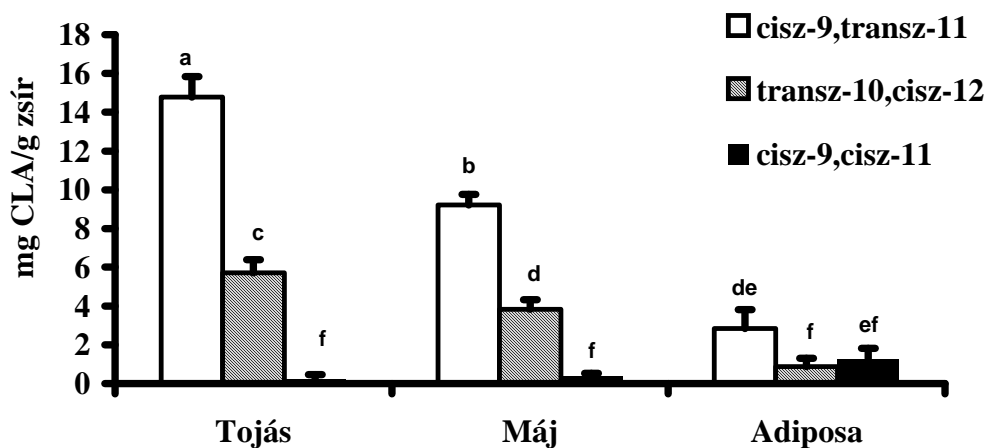
Az étkezési tojás n-3 zsírsavtartalmának növelése

Kísérleteket végeztünk annak érdekében, hogy vizsgáljuk azt, hogy a tojóttyúk takarmányához kevert halfeldolgozási melléktermékből származó zsírsavpreparátum milyen hatást gyakorol a termelt tojás zsírsavösszetételére üzemi körülmények között. A zsírsav kiegészítésként használt preparátumot 1,0, 1,5 illetve 2 %-ban kevertük kereskedelmi összetételű tojóttyúphoz. A kísérlet 1., 2., 4. és 8. hetének végén kezelésként randomizálva, 6-6 tojást gyűjtöttünk, a tojás sárgájában lévő lipidek zsírsav összetételének meghatározása érdekében. A kísérleti eredmények azt tükrözik, hogy a kontroll csoporthoz viszonyítva a zsírsav preparátum mindhárom alkalmazott szintje szignifikánsan növelte a tojássárgájában az n-3 szériába tartozó zsírsavak arányát és abszolút mennyiségét. Legnagyobb mértékben a DHA (C22:6 n-3) mennyisége növekedett, amely zsírsav már az 1,0 %-os zsírsavpreparátum alkalmazását követően is jelentős arányú változást mutatott. Az n-3 szériába tartozó zsírsavakkal szemben az n-6-os zsírsavak aránya és abszolút koncentrációi viszont a zsírsavpreparátum alkalmazását követően szignifikánsan csökkentek. Bár az első heti mérések alkalmával a 2,0 %-os kezelés esetén az n-3 zsírsavak, így a DHA mennyisége is minden esetben meghaladta az 1,0 illetve az 1,5 %-os kezelés esetén mért értéket a tojássárgájában, a 2., illetve a 8. heti mintavételkor mérve lényeges különbségek az alkalmazott zsírsav kiegészítések szintjei között nem voltak.

Az étkezési tojás CLA tartalmának növelése

Vizsgálataink során tojótyúkok takarmányát BIO-CLA (Pharma Nord) kapszulával egészítettük ki. A kapszula 1g olajat tartalmazott, zsírsavainak 55%-át a konjugált linolsav (CLA) alkotta (1,1 g/nap/ tyúk CLA). Egy hét etetési időszak elteltével mértük a tojássárgája súlyát és zsírsavösszetételét. A kísérlet zárásakor a tojás említett paraméterein túl az állatok kíméletes leölése után meghatároztuk a máj tömegét és zsírsavösszetételét, valamint a bőralatti zsírszövet (adiposa) minták zsírsavösszetételét.

A tojássárgája tömege és összlipidtartalma szignifikánsan csökkent a takarmány CLA kiegészítésének hatására. A takarmány kezelés viszont nem befolyásolta szignifikánsan a máj tömegét és összlipidtartalmát két hét kísérleti etetést követően. A kontroll takarmányt fogyasztó tyúkok tojássárgájában és májában egyik CLA izomer sem volt mérhető. Az összes CLA-tartalom a CLA kiegészítést fogyasztó állatok tojássárgájában, májában és bőralatti zsírszövetében 2,07%, 1,35% illetve 0,49% volt. A mindhárom mintatípusban jelen lévő izomerek (c9t11, t10c12, c9c11) közül a c9t11 izomer épült be legnagyobb mértékben. A t9t11 izomer csak a tojótyúkok májából volt kimutatható. A c9t11 és a t10c12 izomer mennyisége a tojássárgájában meghaladta a májban és az adiposában mért értékeket (2. ábra)



2. ábra Az egyes CLA izomerek koncentrációja a tojássárgájában, a májban és az adiposában két hétig tartó Bio-CLA takarmányozását követően (átlag \pm szórás /SEM/)
A különböző betűjelzésű átlagok szignifikánsan különböznek ($P < 0,05$)

2. Kérődzőkkel végzett kísérletek

A tej CLA tartalmának növelése

Irodalmi adatok szerint a kérődzők takarmányozása során felhasznált zöld fűfélék és pillangósok, kedvező zsírsavösszetételük miatt fokozzák a szövetekben deponált, vagy a biológiai folyadékokban levő lipidek CLA tartalmát. Ebből kiindulva a laktáviós periódus elején (intenzív tejelő) illetve végén (alacsony termelésű) holstein-fríz tehennel vizsgáltuk a zöldlucerna etetésének (10 kg/tehen /nap) hatását a termelt tej összetételére és annak CLA koncentrációjára. A zöldlucerna etetése mind az intenzíven tejelő mind az alacsony tejtermelésű tehencsoport esetében szignifikánsan növelte a tejlipidekben a CLA izomerek arányát és a naponta termelt mennyiségét (4. táblázat).

A zöldlucerna etetés hatása eltérő termelési szintű tehenek tejének *cisz-9 transz-11 CLA* és *transz-11 C18:1 zsírsav* tartalmára

| | T e r m e l é s i s z i n t | | | |
|-----------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| | Intenzív tejtermelésű | | Alacsony tejtermelésű | |
| | 10,0 kg zöldlucerna/ tehen/nap | Zöldlucerna kiegészítés nélkül | 10,0 kg zöldlucerna/ tehen/nap | Zöldlucerna kiegészítés nélkül |
| <i>cisz-9 transz-11 CLA</i> | | | | |
| mg/l tej | 209,30±41,80 ^A | 130,00±24,90 ^A | 365,40±74,06 ^A | 164,09±79,16 ^A |
| g/tehen/nap | 8,72± 2,23 ^{AB} | 5,06± 0,92 ^{Aa} | 3,97 ± 1,32 ^{Ba} | 1,79± 0,19 ^{AB} |
| <i>transz-11 C18:1</i> | | | | |
| mg/l tej | 97,50± 7,60 ^{AB} | 63,78±14,57 ^{Aa} | 169,70 ±34,66 ^{AB} | 76,94±15,91 ^{Ba} |
| g/tehen/nap | 4,29± 0,75 ^{AB} | 2,45 ± 0,45 ^A | 2,06± 0,64 ^B | 0,83± 0,2 ^{AB} |

[†] A táblázat 5 tehen adataiból számított átlag ± szórás /SD/ formájú értékeket tartalmaz.

^aAz azonos betűjelzésű átlagok egy adatsoron belül szignifikánsan különböznek (P<0.05).

^{A,B}Az azonos betűjelzésű átlagok egy adatsoron belül szignifikánsan különböznek (P<0.001).

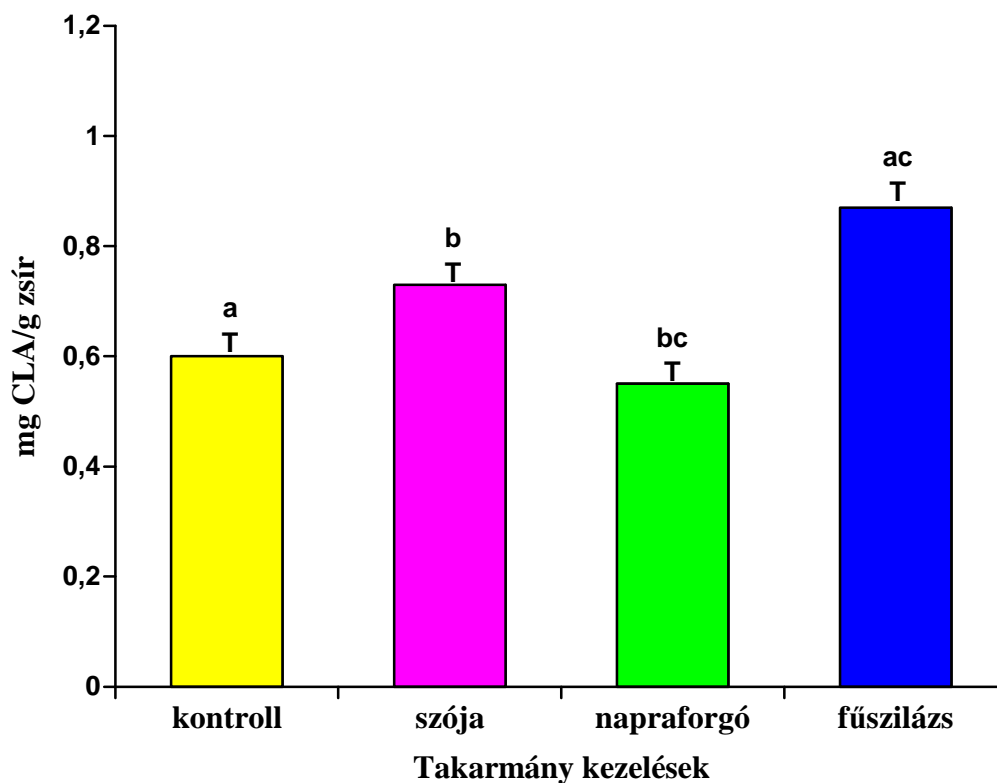
A bárányhús CLA tartalmának növelése

A célkitűzés érdekében négy csoportot alakítottunk ki átlagban 15.5 kg tömegű választott bárányokból (német húsmerinó). Az egyik csoport abrakkeverékébe 5 % szójaolajat, egy másikéba 5% napraforgóolajat kevertünk, a kontroll csoport takarmánya növényi olaj kiegészítést nem tartalmazott. Kialakítottunk egy negyedik csoportot is, amely takarmányozása hasonlított a kontroll csoportéhoz, ugyanakkor, az abrakkeverék mellett naponta 400 g jó minőségű fűszénázst is etettünk. A többi csoport az abrakkeverék mellett más takarmányt nem fogyasztott. Egy-egy csoportba 10 bárány tartozott.

Az állatokat 1 hónapon keresztül hizlaltuk az említett takarmányokon. Ezt követően a bárányok vágásra kerültek, a vágás és a bontás után mintát gyűjtöttünk valamennyi állat vese körüli zsírszövetéből, a háromfejű karizom hosszú fejéből és a félig hártás izomból. Meghatároztuk az így nyert minták zsírsav összetételét gázkromatográfiás analízissel.

Az izomszövetből és a vese körüli zsírszövetből legnagyobb mennyiségben a CLA *c-9,t-11* izomért sikerült kimutatni. Ennél sokkal kisebb mennyiségben analizáltuk a CLA *c-10,t-12*, a CLA *c-9, c-11* és a CLA *t-9,t-11* izoméreket. Valamennyi mintából ugyanakkor érdemleges mennyiségben határoztuk meg a CLA zsírsavak perkurzorának számító C18:1 *t-11* zsírsavat. A takarmánykezelések legjelentősebb CLA koncentráció-változásokat a háromfejű karizomban eredményezték (3. ábra). Ebben az izommintában a fűszénáz etetését követően a CLA *c-9,t-11* izom mennyisége a kontroll állatokban mért 0.46±0.18 g/100g zsírsav értékről szignifikánsan (P<0.01) emelkedett, 0.65±0.08 értékre. A növényi olajkezelések közül a szójaolajnak volt kedvezőbb hatása, amely takarmányozásakor a szóban forgó izom CLA *c-9, t-11* tartalma ugyancsak növekedett. Nem tapasztaltunk ugyanakkor ilyen kedvező hatást a napraforgóolajat tartalmazó takarmánykeverék etetését követően. A C18:1,*t-11* zsírsav mennyisége a kontrollcsoportéhoz viszonyítottan (1.57±0.18), ugyanakkor a fűszénáz (1.96±0.24) és a szójaolaj kezelés esetében bizonyult nagyobbak (P<0.05).

A félig hártás izom és a vesekörüli zsír lipidjeiben is hasonló jellegűek voltak a változások, mint a háromfejű karizom esetében. A takarmánykezelésektől függő különbségek azonban e minták esetében kisebbeknek bizonyultak.



3. ábra A *cisz-9, transz-11* CLA tartalom alakulása eltérően takarmányozott bárányok háromfejű karizmában (*m. triceps brachii*).

Az azonos betűjelzésű átlagok szignifikánsan különböznek ($P < 0,05$).

A kutatási pályázat által megvalósított vizsgálataink valamennyi vizsgálatunk esetében azt igazolják, hogy céltudatos tartási és takarmányozási módszerekkel az állati eredetű élelmiszer-alapanyagok zsírsavösszetétele jelentős mértékben javítható. Segítségükkel, az emberi egészséggel szemben rizikófaktoroként számító zsírsavak mennyisége jelentős mértékben csökkenthető. A táplálkozással összefüggő betegségek kialakulása ellen védő zsírsavak (n-3, ezen belül a DHA zsírsavak és a CLA) mennyisége növelhető. Az OTKA T-037963 projektben megvalósított kutatásiakn ehhez kívántak alapokat szolgáltatni.