

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA ŽIVILSTVO

Andraž ŠTREKELJ

VSEBNOST *TRANS* MAŠČOBNIH KISLIN V MATERINEM MLEKU

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

*TRANS* FATTY ACIDS IN HUMAN MILK

GRADUATION THESIS  
University study

Ljubljana, 2009

Diplomska naloga je bila opravljena v kemijskem laboratoriju Inštituta za prehrano, Oddelka za zootehniko, Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Vpeljava analitskih metod in analize so bile opravljene pod vodstvom dr. Alenke Levart. Etična komisija Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani je odobrila raziskavo.

Študijska komisija Oddelka za živilstvo je za mentorico diplomskega dela imenovala prof. dr. Ireno Rogelj, za somentorico doc. dr. Natašo Fidler Mis in za recenzenta doc. dr. Rajka Vidriha.

Mentorica: prof. dr. Irena Rogelj

Somentorica: doc. dr. Nataša Fidler Mis

Recenzent: doc. dr. Rajko Vidrih

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Andraž Štrekelj

### KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Dn  
DK UDK 613.953.11+618.6:547.915(043)=163.6  
KG humano mleko/ maščobne kisline/ *trans* maščobne kisline / lipidi / dojenje/ telesna teža dojenčkov  
AV ŠTREKELJ, Andraž  
SA ROGELJ, Irena (mentorica) / FIDLER MIS, Nataša (somentorica)/VIDRIH, Rajko (recenzent)  
KZ 1000 Ljubljana, SLO, Jamnikarjeva 101  
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo  
LI 2009  
IN VSEBNOST *TRANS* MAŠČOBNIH KISLIN V MATERINEM MLEKU  
TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)  
IJ SL  
JI sl/en  
AI Namen raziskave je bil ugotoviti vsebnosti različnih izomerov *trans* maščobnih kislin (ut. %) v mleku mater, katerih otroci so ustrezno napredovali na telesni teži in v mleku mater, katerih otroci niso ustrezno napredovali na telesni teži, ter rezultate primerjati med sabo. Poskus smo opravili na 72-ih vzorcih materinega mleka, katerih je 41 vzorcev vsebovalo mleko mater, ki so imele zadostne količine (skupina B), ter 31 vzorcev mleka mater, ki niso imele zadostnih količin mleka (skupina A - hipogalaktija). Predhodno metilirane vzorce smo analizirali s pomočjo plinsko-tekočinske kromatografije (GLC) in tako dobili rezultate za 12 različnih izomerov *trans* maščobnih kislin, ter skupno vsebnost vseh *trans* maščobnih kislin in vseh C18:1 *trans* izomerov. Primerjava je dokazala, da mleko mater s hipogalaktijo vsebuje v povprečju manjše količine *trans* maščobnih kislin. Le v redkih primerih so bile količine skoraj izenačene. Nadalje smo rezultate 41-ih vzorcev mleka (skupina B) primerjali s podatki iz literature in podrobneje primerjali posamezne izomere *trans* maščobnih kislin z druga dvema državama (ZDA in Nemčija). Tukaj smo zasledili v skoraj vseh primerih, da so količine *trans* maščobnih kislin višje v primerjavi z našimi rezultati.

#### KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Gt  
DC UDC 613.953.11+618.6:547.915(043)=163.6  
CX human milk / fatty acids / *trans* fatty acids / lipids / breastfeeding / baby's weight  
AU ŠTREKELJ, Andraž  
AA ROGELJ, Irena (supervisor) / FIDLER MIS, Nataša (co-advisor)/ VIDRIH, Rajko (reviewer)  
PP 1000 Ljubljana, SLO, Jamnikarjeva 101  
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Food Science and Technology  
PY 2009  
TI *TRANS* FATTY ACIDS IN HUMAN MILK  
DT Graduation thesis (University studies)  
LA SL  
AL sl/en  
AB The main purpose of the thesis was to detect the quantities of different isomers of *trans* fatty acids (weight %) in human milk of mothers whose children were gaining body weight normally and human milk of mothers whose children were gaining body weight poorly. We tested 72 samples of human milk, of which 41 were from mothers with sufficient quantities of milk (group B) and 31 from mothers without sufficient quantities of milk (group A – hypogalacty). By means of gas-liquid chromatography we analyzed all the samples which were previously methylated and quantitatively detected 12 different isomers of *trans* fatty acids, including all C18:1 *trans* isomers. The results showed that the milk of mothers with hypogalacty usually contains less quantities of *trans* fatty acids comparing to the milk of group B. Only in a few cases quantities were almost identical. Afterwards we compared the results of 41 samples from group B with the results from literature and especially with two foreign countries (USA and Germany). We found out that almost in every case, quantities of *trans* fatty acids in human milk of foreign mothers were higher than the quantities in ours samples.

## KAZALA

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA (KDI) .....	III
KEY WORDS DOCUMENTATION (KWD) .....	IV
KAZALO VSEBINE .....	VI
KAZALO PREGLEDNIC .....	VII
KAZALO SLIK .....	VIII
OKRAJŠAVE .....	X

## KAZALO VSEBINE

	str.
<b>1 UVOD</b> .....	<b>1</b>
1.1 NAMEN DIPLOMSKE NALOGE.....	1
1.2 DELOVNA HIPOTEZA.....	1
<b>2 PREGLED OBJAV</b> .....	<b>2</b>
2.1 SPLOŠNO O MAŠČOBAH.....	2
2.2 MAŠČOBNE KISLINE.....	2
2.3 TRANS MAŠČOBNE KISLINE.....	4
2.3.1 Negativni učinki <i>trans</i> maščobnih kislin v prehrani.....	4
2.3.2 Priporočila za uživanje <i>trans</i> maščobnih kislin.....	5
2.3.3 Kje se nahajajo <i>trans</i> maščobne kisline.....	6
2.3.4 Označevanje in zakonodaja.....	7
2.4 HUMANO MLEKO.....	8
2.4.1 Maščobe humanega mleka.....	11
<b>3 MATERIAL IN METODE</b> .....	<b>13</b>
3.1 KRITERIJI ZA IZBOR MATER DAROVALK MLEKA.....	13
3.2 IZVEDBA RAZISKAVE.....	13
<b>3.2.1 Zbiranje in shranjevanje vzorcev</b> .....	<b>14</b>
<b>3.2.2 Določanje maščobno-kislinske sestave humanega mleka</b> .....	<b>14</b>
3.2.2.1 Ekstrakcija maščob.....	14
3.2.2.2 Esterifikacija maščob (pretvorba maščobnih kislin v MEMK).....	15
3.2.2.3 Plinsko-tekočinska kromatografija MEMK.....	15
<b>3.2.2.3.1 Kromatografski pogoji ločbe</b> .....	<b>15</b>
3.2.2.4 Identificiranje kromatografskih vrhov.....	16
<b>3.2.2.4.1 Kalibriranje inštrumenta</b> .....	<b>16</b>
3.2.2.5 Statistična analiza.....	17
<b>4 REZULTATI</b> .....	<b>18</b>
4.1 VSEBNOSTI TRANS MAŠČOBNIH KISLIN V MLEKU SLOVENSКИH MATER.....	18
4.2 PRIMERJAVA VSEBNOSTI TRANS MAŠČOBNIH KISLIN V MLEKU SLOVENSКИH MATER Z VREDNOSTMI IZ DRUGIH DRŽAV.....	22
4.3 PRIMERJAVA VSEBNOSTI TRANS MAŠČOBNIH KISLIN V MLEKU SLOVENSКИH MATER Z VREDNOSTMI HUMANEGA MLEKA IZ ZDA IN NEMČIJE.....	24

<b>5 RAZPRAVA IN SKLEPI.....</b>	<b>31</b>
5.1 RAZPRAVA.....	31
<b>5.1.1 Primerjava med skupinama A in B.....</b>	<b>31</b>
<b>5.1.2 Primerjava z rezultati iz drugih držav.....</b>	<b>32</b>
5.2 SKLEPI.....	35
<b>6 POVZETEK.....</b>	<b>36</b>
<b>7 ZAHVALA.....</b>	<b>39</b>
<b>8 VIRI.....</b>	<b>40</b>

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: Vsebnosti <i>trans</i> maščobnih kislin v izdelkih analiziranih leta 2006 na ameriškem trgu (Minneapolis) razporejeni po naraščajoči vsebnosti (Albers in sod., 2008).....	6
Preglednica 2: Vsebnosti <i>trans</i> maščobnih kislin v različnih živilih (v %) na slovenskem trgu (ZPS, 2004).....	7
Preglednica 3 : Pregled sestavin humanega mleka ( na 100g mleka) (Souci in sod., 2008)..	9
Preglednica 4: Vsebnosti nasičenih, enkrat-nenasičenih, večkrat-nenasičenih maščobnih kislin ter vsota <i>trans</i> maščobnih kislin in <i>trans</i> izomer C18:1 v lipidih mleka slovenskih mater dojenčkov, z neustreznim (A) in ustreznim (B) napredovanjem na telesni teži (povprečje ± SD).....	18
Preglednica 5: Enkrat-nenasičene <i>trans</i> maščobne kisline (ut %) v lipidih mleka slovenskih mater dojenčkov, z neustreznim (A) in ustreznim (B) napredovanjem na telesni teži.....	19
Preglednica 6: Večkrat-nenasičene <i>trans</i> maščobne kisline (ut %) v lipidih mleka slovenskih mater dojenčkov z neustreznim (A) in ustreznim (B) napredovanjem na telesni teži.....	21
Preglednica 7: Vsota skupnih <i>trans</i> maščobnih kislin v humanem mleku različnih evropskih, azijskih in ameriških držav (Brazilija, Iran, Kitajska, Kuvajt, Nemčija, Nigerija, Poljska, Slovenija, Sudan, ZDA).....	23
Preglednica 8: Primerjava vsot posameznih <i>trans</i> maščobnih kislin v humanem mleku ZDA, Nemčije in Slovenije.....	25



## KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Primerjava geometrijske konfiguracije med <i>cis</i> in <i>trans</i> maščobno kislino (Vidmar, 2007).....	3
Slika 2: Primer plinskega kromatograma maščobnih kislin lipidov humanega mleka.....	16
Slika 3: Primerjava vsebnosti vseh nasičenih, enkrat-nenasičenih, večkrat-nenasičenih maščobnih kislin, ter vsote vseh <i>trans</i> -maščobnih kislin in vsote vseh <i>trans</i> C18:1 MK v humanem mleku mater dojenčkov, z neustreznim (A) in ustreznim (B) napredovanjem na telesni teži.....	19
Slika 4: Primerjava vsebnosti enkrat-nenasičenih <i>trans</i> maščobnih kislin v humanem mleku doječih mater dojenčkov, z neustreznim (A) in ustreznim (B) napredovanjem na telesni teži.....	20
Slika 5: Primerjava vsebnosti večkrat-nenasičenih <i>trans</i> maščobnih kislin v humanem mleku doječih mater dojenčkov, z neustreznim (A) in ustreznim (B) napredovanjem na telesni teži.....	21
Slika 6: Primerjava vsebnosti <i>trans</i> vakuenske kisline (C18:1 t11) v humanem mleku med ZDA, Nemčijo in Slovenijo.....	26
Slika 7: Primerjava vsebnosti elaidinske kisline (18:1 t9) v humanem mleku med ZDA, Nemčijo in Slovenijo.....	27
Slika 8: Primerjava vsebnosti izomer C18:1 <i>trans</i> maščobnih kislin v mleku ameriških mater.....	28
Slika 9: Primerjava CLA in linoelaidinske kisline med ZDA, Nemčijo in Slovenijo.....	29
Slika 10: Primerjava vsebnosti C16:1 <i>trans</i> maščobne kisline med ZDA, Nemčijo in Slovenijo.....	30

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

MK: maščobne kisline

MEMK: metilni estri maščobnih kislin

## 1 UVOD

Dojenje je najbolj naraven in zdrav način prehrane dojenčkov. Svetovna zdravstvena organizacija priporoča izključno dojenje prvih šest mesecev življenja, nato pa dojenje do dveh let starosti ali še dlje (Cattaneo in sod., 2008).

Prvi in najbolj popoln obrok za novorojenčka je materino (humano) mleko. Kakovost materinega mleka ima velik vpliv na razvoj otroka, zato mora biti sestava mleka čim bolj optimalna. Zagotoviti mora dojenčku vsa potrebna hranila in biološko aktivne snovi, da mu omogoči čim boljši razvoj in ga ščiti pred obolenji.

Veliko vlogo v razvoju dojenčka imajo maščobe materinega mleka, saj zagotavljajo energijo za življenjske funkcije, rast in esencialne snovi za razvoj. Prehrana doječe matere pomembno vpliva na kakovost humanega mleka. Maščobe v humanem mleku izhajajo iz treh virov: iz prehrane doječe matere v krajšem časovnem obdobju (pretekle tri dni), endogene sinteze v mlečni žlezi ter iz maščobnih zalog (prehrana v daljšem časovnem obdobju, preteklo eno leto) (Demmelmaier in sod., 2001).

Maščobe imajo glede na svojo sestavo in glede na njihov vpliv na krvne lipide ugodne, nevtralne ali pa neugodne učinke na zdravje. Epidemiološke, klinične in laboratorijske študije vse bolj jasno kažejo o potencialno škodljivih učinkih nekaterih maščobnih kislin, ki jih uživamo vsak dan in se nahajajo v širokem spektru živil. Mednje sodijo zlasti *trans* maščobne kisline, ki se izločajo v humano mleko in postanejo del dojenčkove prehrane.

### 1.1 NAMEN DIPLOMSKE NALOGE:

- določiti količino in vrste *trans* maščobnih kislin v vzorcih mleka slovenskih mater, katerih dojenčki so normalno pridobivali na telesni teži in mleka mater, katerih otroci so premalo pridobivali na telesni teži;
- ugotoviti, ali se količina in vrste *trans* maščobnih kislin obeh skupin statistično značilno razlikujeta;
- primerjati rezultate vsebnosti *trans* maščobnih kislin v mleku slovenskih mater, katerih otroci so normalno pridobivali telesno težo z rezultati v drugih državah po svetu (literaturni podatki).

### 1.2 DELOVNA HIPOTEZA:

Glede na to, da je maščobno-kislinska sestava humanega mleka odvisna od prehrane doječih mater, smo pričakovali, da bosta količina in vrsta *trans* maščobnih kislin v mleku slovenskih mater podobna le temu pri materah iz razvitih dežel, zlasti dežel zahodne Evrope. Poleg tega smo pričakovali, da bo količina *trans* maščobnih kislin nižja kot v mleku mater iz Severne Amerike, kjer vse bolj prednjači način »hitrega prehranjevanja« in so predelana živila bistveno cenejša od »naravnih« živil.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 SPLOŠNO O MAŠČOBAH

Prehranske maščobe so pomembni viri energije, posebej pri večjih energijskih potrebah, npr. pri dojenčkih in otrocih ter ljudeh, ki opravljajo težka fizična dela. Njihova energijska vrednost je skoraj dvakrat večja kot energijska vrednost ogljikovih hidratov in proteinov (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004).

Poleg tega so maščobe v hrani nosilke v maščobi topnih vitaminov (A, D, E in K), okusa in arom (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004).

Maščobe so tudi vir nekaterih zaščitnih in bioaktivnih snovi, kot sta maslena in konjugirana linolna kislina (CLA- v dveh oblikah: C18:2 *cis*-9, *trans*-11 ali C18:2 *trans*-10, *cis*-12). Mnoge raziskave so dokazale, da ima CLA kemoprotektivne in inhibitorne lastnosti, ker ščiti proti določenim neoplazijam.. Najbolj pogosto je prisotna v obliki C18:2 *cis*-9, *trans*-11 (Larqué in sod., 2001).

V zdravi prehrani naj bi se maščobe uživalo v zmernih količinah ob upoštevanju priporočil za njihov vnos. Vnos naj bi znašal do 30 % celotne dnevne energije v obliki maščob za mladostnike in odrasle osebe, ter 30 do 35 % celotnega dnevnega vnosa v obliki maščob za nosečnice (od 4. meseca) in doječe matere. Ta priporočila upoštevajo epidemiološke in klinične ugotovitve o tesni povezavi med prevelikim uživanjem maščob, zlasti nasičenih ter *trans* maščobnih kislin in dislipoproteinemijo, obolenji srca in ožilja, pa tudi rakom na debelem črevesu in prekomerno telesno maso (Katan in sod., 1994).

Maščobe, ki obstajajo v naravi, se nahajajo pretežno v obliki triacilglicerolov ali trigliceridov. Triacilgliceroli so sestavljeni iz maščobnih kislin, ki so estersko vezane na glicerol. Zaradi esterske vezi med polarnim glicerolom in polarno karboksilno skupino (-COOH) maščobnih kislin, nastanejo nepolarne in hidrofobne molekule, ki se ne topijo v vodi (Nelson in Cox, 2000). Zdravi ljudje jih absorbirajo povprečno 98 %, medtem ko sta pri pacientih z boleznijo želodčno-črevesnega trakta njihova prebava in absorpcija odvisni od dolžine verig maščobnih kislin, števila njihovih dvojnih vezi ter posledično tališča prehranske maščobe (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004).

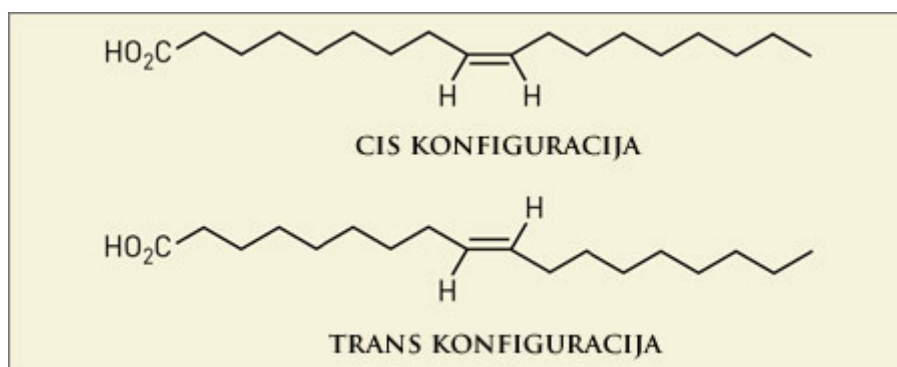
### 2.2 MAŠČOBNE KISLINE

Najpomembnejša komponenta prehranskih maščob so maščobne kisline. Sestavljene so iz alkilne verige ogljikovih in vodikovih atomov in karboksilne skupine. Število C atomov se giblje od 4 do 36. Glede na njihovo število v verigi, jih delimo na: kratkoverižne (C4 – C10), srednjeverižne (C11 – C17) in dolgoverižne maščobne kisline (C18 in naprej) (Lobb, 1992). Število vodikovih atomov, ki so vezani na ogljik, da maščobni kislini njen funkcionalni status. Če imajo C atomi popolno število vodikovih atomov, je veriga nasičena in ima ravno obliko. Če pa so vodikovi atomi odstranjeni iz strukture, pravimo, da je veriga nenasičena, verigo pa stabilizira ustvarjena dvojna vez. Nenasičene maščobne kisline (NMK) imajo lahko različno število dvojnih vezi. Tako ločimo enkrat-nenasičene ali mononenasičene (ENMK) in večkrat-nenasičene ali polinenasičene (VNMK) maščobne kisline. Kemijska struktura maščobnih kislin vpliva na njihove fizikalne in biokemične lastnosti ter posredno lastnosti maščobe. Nasičene maščobne kisline večinoma uživamo s

hrano, lahko pa se sintetizirajo tudi v telesu z lipogenezo iz glukoze. Enkrat-nenasičene in večkrat-nenasičene maščobne kisline prav tako uživamo s hrano, poleg tega se v telesu sintetizirajo iz nasičenih maščobnih kislin. Izjema so večkrat-nenasičene maščobne kisline s *cis* konfiguracijo in določenimi pozicijami dvojnih vezi, ki jih imenujemo esencialne, ker jih človeški organizem ne more sintetizirati sam. To sta linolna (C18:2 n-6) in alfa-linolenska kislina (C18:3 n-3), ki predstavljata tudi osnovo za vse ostale n-6 in n-3 maščobne kisline (Referenčne vrednosti za vnos hranil, 2004).

Iz linolne kisline se v telesu sintetizirata med drugim tudi arahidonska kislina (C20:4 n-6) in gama linolenska kislina (GLA) (n-6 C18:3). Arahidonska kislina predstavlja predstopnjo za sintezo eikozanoidov in hormonom podobnih snovi, ki vplivajo na imunski sistem, krvni tlak, strjevanje krvi in razna vnetja. Alfa-linolenska kislina je predstopnja oz. prekurzor za tvorbo ostalih maščobnih kislin iz n-3 skupine, kot so eikozapentaenojska (EPA, C20:5 n-3), dokozaheksaenojska (DHA, C22:6n-3). Maščobne kisline n-3 pomembno vplivajo na zdravje, saj pripomorejo k zgodnjemu razvoju živčevja (že prenatalno in v prvih mesecih po rojstvu) in pomagajo preprečevati srčno-žilne in nevrološke bolezni (Mozzon in sod., 2002).

Velika večina nenasičenih maščobnih kislin (z dvojno vezjo) ima t. i. *cis* konfiguracijo in se razlikuje od maščobnih kislin s *trans* konfiguracijo (Koletzko, 1989). Če sta vodikova atoma ob dvojni vezi na isti strani, je maščobna kislina v *cis* konfiguraciji. To povzroči, da se alkilna veriga »zlomi«, kar onemogoča tesno prileganje, zato je tališče nižje. O *trans* konfiguraciji govorimo, ko se vodikova atoma pojavita na nasprotni strani dvojne vezi, kar povzroči togost maščobne kisline in višje tališče. *Trans* vez je termodinamično bolj stabilna od *cis* vezi in kemijsko tudi manj reaktivna (Koletzko in Bremer, 1989).



Slika 1: Primerjava geometrijske konfiguracije med *cis* in *trans* maščobno kislino (Vidmar, 2007)

## 2.3 TRANS MAŠČOBNE KISLINE

*Trans* maščobne kisline v hrani izhajajo iz dveh virov. Prvi je posledica biohidrogenacije nenasičenih maščobnih kislin v vampu prežvekovalcev, ki nastane zaradi delovanja mikroorganizmov (glavna predstavnika sta *Butryvibrio fibrisolvens* ter *Megasphaera elsdenii*). Tako nastale *trans* maščobne kisline so prisotne v živilih živalskega izvora, kot so meso in mesni izdelki ter mleko in mlečni izdelki. Zaradi načina nastanka jih imenujemo tudi naravno prisotne *trans* maščobne kisline. Drugi način pa je posledica hidrogenacije oz. delne hidrogenacije tekočih olj, večinoma rastlinskega izvora (lahko tudi ribjega), ki nastane med industrijskimi postopki (Sadler, 2005).

Med vsemi *trans*-maščobnimi kislinami, ki so naravno prisotne oz. izvirajo iz rumena prežvekovalcev, so količinsko najbolj zastopane *trans* C18:1 izomere. To velja tudi za delno hidrogenirana rastlinska olja (Sadler, 2005).

Med vsemi izomerami *trans* C18:1 maščobnih kislin (poznamo jih več kot deset) količinsko najbolj izstopata izomera C18:1 *trans*-9 (elaidična kislina) ter C18:1 *trans*-11 (vaccenska kislina). Elaidična kislina prevladuje pri delno hidrogeniranih rastlinskih oljih in predstavlja 20–30 % vseh *trans* C18:1 izomer, vaccenska pa 10–20 %. Vaccenska kislina prevladuje med naravno prisotnimi *trans* maščobnimi kislinami in predstavlja 30–50 % celotne koncentracije *trans* C18:1 izomer (Opinion of..., 2004).

Med hidrogenacijo nenasičenih maščobnih kislin nastajajo delno hidrogenirana olja, ki so stabilnejša in imajo spremenjene fizikalne lastnosti (Sadler, 2005). Zato so bili tehnološki postopki, med katerimi je prišlo do hidrogenizacije nenasičenih maščobnih kislin v živilsko-pridelovalni industriji zelo priljubljeni. Šele v zadnjih dvajsetih letih so določene epidemiološke in klinične študije začele dokazovati, da imajo *trans* maščobne kisline, ki nastanejo med takšnimi postopki, lastnosti, ki škodujejo zdravju. Teh negativnih lastnosti je veliko in se kažejo na različne načine.

### 2.3.1 Negativi učinki *trans* maščobnih kislin v prehrani

Booker (2008) navaja, da je bilo opravljenih veliko študij, v katerih so proučevali povezavo med zauživanjem *trans* maščobnih kislin in pojavom srčno-žilnih obolenj. Metabolične študije in meta-študije jasno dokazujejo povezavo med povečanim zauživanjem *trans* maščobnih kislin in neugodno spremembo lipidne slike v serumu (Mensink in sod., 2003).

*Trans* maščobne kisline (posebno C18:1 *trans* MK) povzročajo povišanje škodljivega LDL holesterola v plazmi, kar je rizični dejavnik za nastanek srčno-žilnih obolenj, poleg tega pa zmanjšujejo koncentracijo varovalnega HDL holesterola v plazmi, kar dodatno zviša tveganje za srčno-žilna obolenja. Še posebno nevarnost predstavljajo *trans* maščobne kisline za tiste ljudi, ki že imajo visoke koncentracije lipoproteinov z nizko gostoto (LDL) v serumu (Lutter, 2005).

Raziskave kažejo, da so neugodni učinki, ki jih imajo *trans* maščobne kisline na vsebnost lipoproteinov v serumu in posledično na tveganje za nastanek srčno-žilnih bolezni, mnogo večji od učinkov uživanja nasičenih maščobnih kislin. To zaradi poslabšanja v razmerju

LDL/HDL holesterola, ki se z zauživanjem *trans*-maščobnih kislin postopoma večja. Meta analiza študij o *trans* maščobnih kislinah je namreč pokazala, da je 2 % povečanje energijskega vnosa iz *trans* maščobnih kislin povezano s kar 23 % povečanim tveganjem za koronarne srčne bolezni (Mozaffarian in sod., 2006).

Poleg naštetega imajo *trans* maščobne kisline tudi še druge negativne učinke na zdravje. Pomembno je omeniti škodljive interakcije, ki jih imajo *trans* maščobne kisline pri metabolizmu esencialnih maščobnih kislin. Posebno neugodne so interakcije v primeru, ko ljudje zaužijejo velike količine *trans* maščobnih kislin ob nizkem vnosu esencialnih maščobnih kislin (<2 % dnevne energije z linolno kislino). Za obrazložitev tega obstajata dva možna mehanizma delovanja *trans* maščobnih kislin

:

- tekmujejo z linolno kislino v metabolnih poteh,
- morda inhibirajo delovanje encimov v jetrih, ki so odgovorni za podaljševanje in nadaljnjo desaturacijo linolne kisline ter delovanje encimov, ki pretvarjajo arahidonsko kislino v prostaglandine, ki so pomembne snovi za normalno delovanje celic (Sadler, 2005).

V raziskavi Nurses Health Study so našli korelacijo med vnosom *trans* maščobnih kislin in povečanim tveganjem razvoja diabetisa tipa 2, ki se je še dodatno povečalo pri debelih ženskah (Opinion of..., 2004).

V raziskavi Netherlands Cohort Study on Diet and Cancer (2004) so opazili pozitivno korelacijo med vnosom *trans* maščobnih kislin in postmenopavzalnimi rakom na dojkah. Poleg tega so našli povezavo med vnosom *trans* maščobnih kislin in astmo, alergičnim rinokonjunktivitisom in atopičnim ekcemom.

### 2.3.2 Priporočila za uživanje *trans* maščobnih kislin

Različni avtorji navajajo različna priporočila za dnevni vnos *trans* maščobnih kislin. WHO priporoča, naj bi se popolnoma izognili industrijsko sintentiziranim *trans* maščobnim kislinam in bi uživali le hrano kjer so naravno prisotne. Poleg tega WHO priporoča, da vsebnost *trans* maščobnih kislin ne bi presegla 2 % skupnih maščob v oljih in margarinah oz. 5 % skupnih maščob v industrijsko pridobljeni hrani (PAHO, 2008). AHA svetuje, da naj bi človek starejši od dveh let ne zaužival več kot 1 % dnevne vnosa energije v obliki *trans* maščobnih kislin (Know your fats, 2008). Za mlajše od dveh let pa ni priporočil. Vsa priporočila so enotna in sicer navajajo, da naj bi se vnos *trans* maščob čimbolj zmanjšal oz. po možnosti popolnoma izničil.

Po referenčnih tablicah (2004) naj dnevni vnos *trans* maščobnih kislin ne bi presegal 1 % dnevno zaužite energije. To pomeni, da zdrav človek, ki dnevno zaužije 2.000 kcal (8.400 kJ) naj ne bi zaužil več kot 20 kcal (84 kJ) v obliki *trans* maščobnih kislin oz. ne več kot 2 g na dan.

Glede na to, da so *trans* maščobne kisline že naravno prisotne v različnih živilih, ki jih vsak dan običajno zaužijemo, se vedno bolj priporoča, da se kar v največji meri izogibamo živilom s *trans* maščobnimi kislinami, ki nastanejo med industrijskim postopkom

predelave. V skladu s priporočili se je potrebno izogibati tudi mastni hrani živalskega izvora (razen ribam) ter določeni predpripravljeni hrani.

### 2.3.3 Kje se nahajajo *trans* maščobne kisline

*Trans* maščobne kisline se nahajajo v širokem spektru živil. Lahko so naravno prisotne, npr. v mesu in mleku, sintetične pa nastanejo pri hidrogenaciji rastlinskih olj in se nahajajo v živilih iz hidrogeniranih olj oz. maščob. Pri slednjih so koncentracije *trans* maščobnih kislin običajno mnogo višje kot v živilih, kjer sonaravno prisotne.

V preglednicah 1 in 2 so podane analize raličnih izdelkov na ameriškem in slovenskem trgu.

Preglednica 1: Vsebnosti *trans* maščobnih kislin v izdelkih analiziranih leta 2006 na ameriškem trgu (Minneapolis) razporejeni po naraščajoči vsebnosti (Albers in sod., 2008)

IZDELEK	Število izdelkov	0 g		0,5 – 2,5 g		≥ 3 g		Povprečje
		n	%	n	%	n	%	
Margarina	24	16	67	8	33	0	0	0 – 2,5
Maslo	5	5	100	0	0	0	0	N.U.
Piškot	25	19	76	6	24	0	0	0 – 2,5
Prigrizki	19	15	79	4	21	0	0	0 – 1,5
Čipsi	17	17	100	0	0	0	0	N.U.
Krekerji	18	12	57	5	28	1	5	0 – 3,0
Popovke	29	17	59	5	17	7	24	0 – 6,0

N. U. - ne upoštevamo: to zato ker maslo in čipsi (cvrti v živalski maščobi) že vsebujejo naravno prisotne *trans* maščobne kisline.

V preglednici 2 pa so podani rezultati analiz vsebnosti *trans* maščobnih kislin v desetih različnih izdelkih, ki jih dobimo na slovenskem trgu. Razvrščeni so po količini vsebovanih *trans* maščobnih kislin od največje do najmanjše.



Preglednica 2: Vsebnosti *trans* maščobnih kislin v skupni maščobi v različnih živilih (v %) na slovenskem trgu (ZPS, 2004)

IZDELEK	KOLIČINE TRANS MK (%)
Krekerji Vic (Kraš)	38,5
Zlate paličice lešnik (Žito)	24,8
Čokoladna torta (Zmajčkov butik)	15,2
Rastlinska mast za pečenje (Zvijezda)	8,7
Kakavov kremni namaz z leškiki (Petlja)	8
Mini masleni rogljički (Pečjak)	7,1
Rama Crème Bonjour s šunko (Droga Kolinska)	5,3
Smetanovi piškoti Jurček (Mira Kolar, s.p.)	4,5
Krompirjev čips maxi (Mercator)	2,6
Margarinski namaz (Mercator)	2,1

### 2.3.4 Označevanje in zakonodaja

Leta 2003 je FDA (Food and Drug Administration) objavila zakon o obveznem označevanju vsebnosti *trans* maščobnih kislin na vseh živilih ter prehranskih dodatkih in kasneje, leta 2006, tudi njihovo količinsko vsebnost v odstotkih. Živila, ki vsebujejo skupno več kot 4 grame nasičenih in *trans* maščobnih kislin, ne smejo biti deklarirana kot zdrava hrana. Sploh pa ni več razlike med *trans* maščobnimi kislinami, ki nastanejo med tehnološkimi procesi s kemijskimi reakcijami in tistimi, ki so naravno prisotne (Denmark's *trans* fat law..., 2003).

Na Danskem so leta 2003 sprejeli in uveljavili zakonodajo o omejitvi vsebnosti *trans* maščobnih kislin v hrani, ki navaja, da hrana, ki vsebuje več kot 2 g *trans* maščobnih kislin na 100 g maščob ali olj v živilu, ne sme v promet. Omenjeni predpisi niso veljavni za hrano, ki naravno vsebuje *trans* maščobne kisline (Denmark's *trans* fat law..., 2003).

Kanada je z letom 2005 zahtevala deklariranje celotnih, nasičenih ter *trans* maščobnih kislin na izdelkih velikih industrijskih podjetij in leta 2007 še malih proizvajalcev (TACD, 2005).

Slovenija še nima urejene zakonodaje glede vsebnosti *trans* maščobnih kislin v izdelkih, čeprav je Evropska potrošniška organizacija (BEUC) leta 2006 naslovila dopis komisiji Evropske unije, s katerim poziva vse članice EU naj čimprej uredijo vse v zvezi z zakonodajo (TACD, 2005).

(Glede zakonodaje v EU in ZDA smo v indoku in v knjižnici skušali dobiti karkoli, ampak očitno ni še nobenega veljavnega zakona)

## 2.4 HUMANO MLEKO

Dojenje predstavlja s prehranskega, fiziološkega in psihološkega vidika najbolj zdrav način prehranjevanja novorojenca.

Humano mleko je edinstvena bioaktivna tekočina namenjena dojenčku, njegova sestava pa se med laktacijo spreminja in s tem dojenčku zagotavlja vse hranljive in funkcionalne snovi, ki jih potrebuje za razvoj v prvem življenjskem obdobju (Smolin in Grosvenor, 2008).

Analize so pokazale, da vsebuje humano mleko več kot 200 različnih snovi. Nekatere izmed njih imajo celo več funkcij. Med najpomembnejše snovi uvrščamo: lipidne kroglice, žive celice – mikroorganizme, kazeinske micelle, proteine, koloidne substance itd. Sestava humanega mleka se med laktacijo spreminja in ločimo tri različne stadije: kolostrum, mleko v prehodnem obdobju in zrelo mleko (Lutter, 2005).

V prvi fazi laktacije izloča mlečna žleza matere kolostrum, ki je tekočina rumenkasto-krem barve in ima visok delež vode, beljakovin, imunskih faktorjev, mineralov in vitaminov. Sintetizira se vse do prvega tedna po rojstvu otroka. Čeprav daje kolostrum s svojim izgledom morda vtis, da s kolostrumom dojenček ne dobiva zadostne količine hrane, ima dojenček popolnoma pokrite vse potrebe po hranilnih in nehranilnih snoveh, dokler se ne začne hraniti z zrelim mlekom (Smolin, 2008).

Poleg vseh za življenje potrebnih hranil vsebuje humano mleko tudi številne snovi, ki pripomorejo k zdravemu razvoju dojenčka in ga ščitijo pred boleznijo. Te snovi imajo t. i. imunološke funkcije in jih imenujemo zaščitne snovi. Glede na to, da je dojenček v prvem letu starosti izpostavljen okužbam in različnim vrstam obolenj, imajo zaščitne snovi izredno pomembno nalogo pri zaščiti zdravja.

Te snovi zajamejo širok spekter različnih substanc, kot so:

- protitelesa,
- bifidogeni dejavniki,
- laktoferin,
- laktadherin,
- rastni faktor,
- encim lipaza.

Poleg zaščite pred okužbami ima humano mleko tudi zaščitne učinke proti razvoju alergij in bolezni, kot sta astma in dermatitis (Rolfes in sod., 2006).

Tudi posamezna hranila v mleku, kot npr. laktoza, imajo lahko več funkcij. Visok delež tega disahrida v materinem mleku privede do izboljšanja črevesnega okolja, boljše peristaltike ter boljše absorpcije kalcija, beljakovin in magnezija (Stanfield in Hui, 1997).

Maščobe zrelega materinega mleka vsebujejo 10–15 % linolne kisline in > 1 %  $\alpha$ -linolenske kisline, vključno z njunimi derivati z daljšimi verigami. Razmerje med linolno kislino in  $\alpha$ -linolensko kislino naj bi znašalo od 5:1 do 15:1 (Koletzko in Bremer, 1989).

Preglednica 3: Povprečna sestava humanega mleka (na 100 g) (Souci in sod., 2008)

<b>SESTAVINE</b>	<b>MERSKA ENOTA</b>	<b>POVPREČJE</b>	<b>OBMOČJE</b>
<b>Glavne sestavine</b>			
Voda	g	87,5	85,2-89,7
Celotni dušik	g	0,18	
Beljakovine(Nx6,38)	g	1,13	1,03-1,43
Beljakovine(Nx6,25)	g	1,11	
Maščobe	g	4,03	3,50-4,62
Ogljikovi hidrati	g	7,00	
Organske kisline	g	0,09	
Minerali	g	0,21	0,19-0,23
<b>Minerali</b>			
Natrij	mg	12	
Kalij	mg	46	
Magnezij	mg	3,1	3,0 – 3,4
Kalcij	mg	29	22 – 32
Mangan	ng	700	
Železo	μg	58	
Kobalt	ng	114	50 – 2700
Baker	μg	35	22 – 77
Cink	μg	132	74 – 145
Nikel	μg	3,0	
Krom	μg	4,1	3,0 – 80
Molibden	μg	1,0	
Vanadij	ng	500	0,0 – 1000
Fosfor	mg	15	12 – 17
Klor	mg	40	32 – 49
Fluor	μg	17	13 – 25
Jod	μg	5,1	0,5 – 9,0
Selenij	μg	3,3	1,0 – 5,0
Brom	μg	100	
<b>Vitamini</b>			
Vitamin A- Retinol	μg	71	52 – 73
Retinolekvivalent	μg	69	53 – 74
Skupni karotenoidi	μg	3,0	
β-karoten	μg	3,0	
Vitamin D	ng	73	
Vitamin E	μg	278	145 – 535
Skupni tokoferoli	μg	353	220 – 610
α- tokoferol	μg	262	130 – 470
β-tokoferol	μg	20	
γ- tokoferol	μg	70	
Vitamin K	ng	296	270 – 300
Vitamin B1	μg	15	13 – 17

Nadaljevanje preglednice 3: Povprečna sestava humanega mleka (na 100 g) (Souci in sod., 2008)

<b>SESTAVINE</b>	<b>MERSKA ENOTA</b>	<b>POVPREČJE</b>	<b>OBMOČJE</b>
<b>Vitamini</b>			
Vitamin B2	µg	38	30 – 44
Nikotinamid	µg	170	130 – 200
Pantotenska kislina	µg	210	160 – 260
Vitamin B6	µg	14	9,0 – 17
Biotin	ng	580	400 – 1000
Folna kislina	µg	8,0	3,7 – 8,5
Vitamin B12	ng	50	30 – 100
Vitamin C	mg	6,5	3,5 – 7,8
<b>Aminokislina</b>			
Alanin	mg	56	51 – 58
Arginin	mg	51	40 – 65
Asparbinska kislina	mg	120	110 – 120
Cistein	mg	24	17 – 29
Glutaminska kislina	mg	220	200 – 240
Glicin	mg	36	26 – 39
Histidin	mg	31	21 – 41
Izoleucin	mg	77	54 – 93
Leucin	mg	130	100 – 180
Lizin	mg	86	77 – 96
Metionin	mg	24	18 – 36
Fenilalanin	mg	54	43 – 74
Porlin	mg	120	100 – 130
Serine	mg	59	57 – 65
Treonin	mg	63	57 – 79
Triptofan	mg	22	20 – 23
Tirozin	mg	56	35 – 72
Valin	mg	81	61 - 97
<b>Organske kisline</b>			
Citronska kislina	mg	85	78 – 92
<b>Ogljikovi hidrati</b>			
Laktoza	mg	7000	4900 – 9500
<b>Maščobne kisline</b>			
Kaprinska kislina (10:0)	mg	61	30 – 86
Laurinska kislina (12:0)	mg	290	152 – 339
Miristinska kislina (14:0)	mg	457	236 – 658
Palitinska kislina (16:0)	mg	963	
Stearinska kislina (18:0)	mg	214	175 – 465
Arahidna kislina (20:0)	mg	46	42 – 49

Nadaljevanje preglednice 3: Povprečna sestava humanega mleka (na 100 g) (Souci in sod., 2008)

SESTAVINE	MERSKA ENOTA	POVPREČJE	OBMOČJE
<b>Maščobne kisline</b>			
Palmitoleinska kislina (16:1)	mg	144	
Oleinska kislina (18:1)	mg	1282	
Linolna kislina (18:2)	mg	413	290 – 614
Alfa-linolenska kislina (18:3)	mg	22	15 – 28
Arahidonska kislina (20:4)	mg	4,2	1,5 – 11
C 18:1 <i>trans</i> MK	mg	83	76 - 154

#### 2.4.1 Maščobe humanega mleka

Količina lipidov v humanem mleku varira od 3 do 5 %. Prevladujejo triacilgliceroli (98 %), poleg teh pa so prisotni še fosfolipidi (1,3 %), holesterol (0,4 %) in sledovi drugih lipidov (Jensen in sod., 1992).

Maščobe humanega mleka so dispergirane v mleku v obliki emulgiranih maščobnih kroglic, ki imajo v središču pretežno nepolarne trigliceride, holesterolne estre in ostale lipide, ki tvorijo t. i. hidrofobno jedro. Emulzijo maščobnih kroglic stabilizirajo bipolarne snovi, kot so proteini, fosfolipidi in holesterol, ki se nahajajo na površini maščobnih kroglic in sestavljajo t. i. hidrofilno membrano (Jensen, 1989).

Humano mleko predstavlja optimalno hrano za novorojenčke, saj vsebuje obe esencialni maščobni kislini (linolno in  $\alpha$ -linolensko) in znatne količine n-3 in n-6 dolgo verižnih večkrat-nenasičenih maščobnih kislin. Uravnotežena količina teh maščobnih kislin pa je potrebna za normalen razvoj in delovanje živčnega sistema ter proizvodnjo eikozanoidov (Martin, 1993).

Humano mleko v celoti pokriva potrebe po hranljivih snoveh v prvih šestih mesecih življenja, zato je v tem času dojenje edini, povsem odgovarjajoči način prehrane novorojenčka (Cehner, 1997).

Lipidi predstavljajo od 40 do 55 % celotne energije humanega mleka in povečajo energijsko gostoto mleka, s tem pa tudi njegovo nasitno vrednost. V obdobju prvih šestih mesecev življenja, ko novorojenček zelo hitro pridobiva telesno težo, lahko pridobi in skladišči zelo velike količine maščob (od 1,4 kg do 1,7 kg telesne maščobe) (Koletzko in Abiodun, 1992).

Dolgoverižne, večkrat-nenasičene maščobne kisline so esencialne za razvoj možganov in očesne mrežnice, srednjeverižne maščobne kisline pa so pomembne kot vir energije (Spear, 1992).

Humano mleko vsebuje visoke vsebnosti linolne in alfa-linolenske kisline, kot tudi njuni izhajajoči dolgoverižni maščobni kislini, arahidonsko kislino in DHA. Dojenčki so sicer

sami zmožni sintetizirati arahidonsko kislino in DHA iz linolne in alfa-linolenske kisline, vendar ne v zadostnih količinah. Arahidonska kislina in DHA sta prisotni v velikih količinah v očesni mrežnici in tudi v možganih, zato je njuna prisotnost v humanem mleku izredno pomembna za razvoj živčevja in vida (Rolfes in sod., 2006).

Pomembna je tudi visoka koncentracija holesterola v mleku, ki je potrebna za celične membrane ter razvoj živčnega in drugih tkiv (Stanfield in Hui, 1997).

Prehrana matere vpliva pretežno na maščobno-kislinsko sestavo mleka, manj pa na koncentracijo maščob v humanem mleku (Vuori, 1982). Zato je zelo pomembno, da mati že v času nosečnosti kot tudi v času dojenja skrbi za pravilno sestavo, kot tudi količino zaužitih olj in maščob. Posebno pozornost pa je zaradi škodljivih učinkov potrebno posvetiti izogibanju *trans*-maščobnih kislin v prehrani (Koletzko, 2001).

*Trans* maščobne kisline v humanem mleku izhajajo iz prehrane matere, saj jih človeški organizem razen manjših količin konjugiranih maščobnih kislin, kot je na primer CLA ne sintetizira. Izhajajo zlasti iz uživanja delno hidrogeniranih olj in izdelkov iz njih, v manjši meri pa tudi iz maščob mesa in mleka prežvekovalcev (Precht in Molkentin, 1999).

V raziskavi prof. Larqué (2001) je zapisano, da se količina linolne in alfa-linolenske kisline v materinem mleku poveča skupaj z visokim uživanjem *trans* maščobnih kislin, čeprav delež utežnih % dolgoverižnih večkrat-nenasičenih maščobnih kislin v mleku večinoma ostane nespremenjen.

*Trans* maščobne kisline nimajo le slabih lastnosti. V nekaterih primerih so lahko tudi sestavni del določenih snovi, ki imajo pozitivne učinke na zdravje dojenčka, otrok in odraslih. Mosley (2006) navaja, da je v mleku prisotna t. i. konjugirana linolna kislina (CLA), z najmočnejše zastopano obliko C18:2 *cis*-9, *trans*-11, in potrjuje, da ima CLA protirakotvorne sposobnosti.

CLA je naravno prisotna v mesu ter v mleku in mlečnih izdelkih in predstavlja 0,5–2 odstotka celotnih maščobnih kislin. Nekatero študije so dokazale določene ugodne učinke CLA, kot na primer zmanjšanje telesne teže, imunski odgovor in izboljšanje razmerja lipidov v krvi. Vendar pa je treba omeniti, da so rezultati raziskav precej različni in pogosto zaradi različno načrtovanih eksperimentov težko primerljivi. Na osnovi objavljenih rezultatov pa lahko ugotovimo, da je učinkovitost CLA odvisna predvsem od časa uporabe, od količine in od koncentracije različnih izomer CLA v mešanici (C18:2 *cis*-9, *trans*-11 in C18:1 *trans*-10, *cis*-12) (Opinion of..., 2004).

### 3 MATERIAL IN METODE

#### 3.1 KRITERIJI ZA IZBOR MATER DAROVALK MLEKA

Matere darovalke je izbral specialist pediater (prim. M. Sedmak, dr. med.) na osnovi zdravstvene kartoteke (spričevala). Izpolnjevati so morale naslednje kriterije:

- starost med 20 in 34 let,
- v preteklosti ni bila odvisna od alkohola ali drog (mamil),
- nekadilka,
- mati je imela normalno nosečnost brez zdravstvenih tveganj kot so srčno-žilna obolenja, obolenje ledvic, sladkorna bolezen, nosečnostni diabetes, bolezen žolčnika; ni imela porodniških tveganj, kot so preeklampsija in prekomerno zadrževanje vode; po mnenju zdravnika ni imela prekomernega števila okužb dihal; je rodila le enega otroka (ne dvojčkov),
- da je med prenehanjem dojenja prejšnjega otroka in ponovno zanositvijo preteklo vsaj šest mesecev.

#### 3.2 IZVEDBA RAZISKAVE

V študijo je bilo vključenih skupno 74 zdravih, donošenih (gestacijska starost  $\geq 37$  tednov), izključno dojenih dojenčkov v času 1 – 3,5 mesecev po porodu. Med potekom raziskave sta bili izključeni dve materi, ker sta njuna dojenčka zbolela.

Imeli smo dve skupini doječih mater:

- kontrolno skupino, kamor smo uvrstili matere z ustrezno količino humanega mleka (skupina B, n=41) in
- skupino s hipogalaktijo (skupina A, n=31) (matere s prenizko količino mleka).

Namen študije je bil ugotoviti vsebnost *trans* maščobnih kislin v zrelem mleku slovenskih mater in jo primerjati s podatki iz drugih držav. Poleg tega pa smo želeli tudi ugotoviti, ali se *trans* maščobno-kislinska sestava zrelega mleka mater s hipogalaktijo (matere dojenčkov s slabšim napredovanjem na teži - skupina A,) razlikuje od *trans* maščobno-kislinske sestave zrelega mleka mater z dovolj mleka (matere dojenčkov z normalnim napredovanjem telesne teže - skupina B) (Fidler in sod., 2000)

Vzorci humanega mleka mamic dojenčkov, vključenih v študijo, so zbrali na Gastro enterološkem oddelku Pediatrične klinike Univerzitetnega kliničnega centra v Ljubljani (doc. dr. N. Fidler Mis, univ. dipl. inž. in A. Širca-Čampa, univ. dipl. inž), v obdobju od decembra 2000 do februarja 2004.

### 3.2.1 Zbiranje in shranjevanje vzorcev

Vse vzorce humanega mleka mamic dojenčkov, vključenih v študijo (skupini A in B), so odvzeli prvi dan po hospitalizaciji (sprejem v bolnico). Reprezentativen vzorec je bil odvzet tako, da so najprej zbrali vsaj 2,7 ml humanega mleka pred dojenjem in enako količino mleka, iz iste dojke, po dojenju. Enak volumen (2,7 ml ali manj, odvisno od količine mleka odvzetega po dojenju) še toplega mleka so odpipetirali v isto epruveto z brušenim robom. Vsebino zaprte epruvete so 10-krat premešali, ob tem pa pazili, da se mleko ni penilo. Takoj zatem, dokler je bila maščoba še enakomerno porazdeljena, so iz dobro premešanega mleka odpipetirali vsaj po 1,3 ml mleka v 4 eppendorf epruvetke, vzorce ustrezno označili in jih v najkrajšem času shranili v zamrzovalno skrinjo na -70 °C. (Fidler in sod., 2000)

### 3.2.2 Določanje maščobno-kislinske sestave humanega mleka

Analitski postopek določanja vsebnosti maščob in maščobno-kislinske sestave humanega mleka je potekal v treh stopnjah: ekstrakcija maščob, esterifikacija maščob in določitev metilnih estrov maščobnih kislin (MEMK) s plinsko-tekočinsko kromatografijo. Prvi dve stopnji analize so opravili v Biokemičnem laboratoriju na Pediatrični kliniki v Ljubljani (I. Hren, univ. dipl. inž. pod mentorstvom doc. dr. N. Fidler Mis, univ. dipl. inž.), tretjo stopnjo pa v Kemijskem laboratoriju na Inštitutu za prehrano na Rodici, Biotehniška fakulteta- Oddelek za Zootehniko (asist., dr. A. Levart, univ. dipl. kem.).

#### 3.2.2.1 Ekstrakcija maščob

Neposredno pred analizo odmrznemo vzorce mleka na sobno temperaturo in jih v vodni kopeli segrejemo na 38 °C (Jensen in sod., 1989). Vzorce premešamo, odpipetiramo 1 ml alikvotnega dela v epruveto in ekstrahiramo maščobo s pomočjo dvostopenjske ekstrakcije. V prvi stopnji ekstrakcije dodamo 100 µl raztopine kalijevega oksalata (3,5 g kalijevega oksalata na 100 ml destilirane vode), 1 ml etanola, 1 ml tercialnega-butyl-metiletra in 1 ml petroletra (točka vrelišča 40–60 °C). Po vsakem dodatku kemikalij dobro premešamo vzorce in nastalo zmes ločimo s centrifugiranjem v dve fazi. Zgornjo, organsko fazo, ki vsebuje lipidni ekstrakt, odpipetiramo v 4 ml zatemnjeno vialo. V drugi stopnji ekstrakcije preostalo, spodnjo fazo, ponovno ekstrahiramo z 1 ml tercialnega-butyl-metiletra in 1 ml petroletra in postopamo enako kot v prvi stopnji ekstrakcije. Organska topila evaporiramo iz lipidnega ekstrakta s pomočjo prepihanja z dušikom pri 37 °C v evaporatorju. Dobljeni ekstrakt maščob sušimo 24 ur v eksikatorju, nato pa določimo vsebnost maščob gravimetrično (s tehtanjem) (Roese-Gottlieb, 1989, modificirano po Brühl, 1994) (citirano po Fidler in sod., 2000).



### 3.2.2.2 Esterifikacija maščob (pretvorba maščobnih kislin v MEMK)

Lipidni ekstrakt raztopimo v 3 ml 3 molarne metanolne HCl, 1 ml metanola in 0,5 ml heksana. Zmes segrevamo eno uro pri 90 °C ter jo nato pustimo stati na sobni temperaturi, da se ohladi. Po dodatku 2 ml vode, dobljene MEMK ekstrahiramo v ustrezni količini heksana (1–3 ml, odvisno od vsebnosti maščob v vzorcu), ki vsebuje 0,2 % antioksidanta 2,6-ditercialni butil p-krezola (Koletzko in sod., 1988, Koletzko in sod., 1986) (Fidler in sod., 2000)

### 3.2.2.3 Plinsko-tekočinska kromatografija MEMK

Maščobno-kislinsko sestavo nastalih MEMK so v kemijskem laboratoriju Inštituta za prehrano, Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete analizirali s pomočjo kapilarne plinsko-tekočinske kromatografije (»Gass Liquid Chromatography« – GLC) in sicer z uporabo plinskega kromatografa Agilent 6890, opremljenega z avtomatskim injektorjem in podajalnikom vzorcev (Agilent 7683) in FID detektorjem.

Kolona za ločevanje metilnih estrov maščobnih kislin je bila CP-Select CB for FAME (Varian), kapilarna kolona dolžine 100 m, notranji premer 0,25 µm, debelina stacionarne faze pa 0,25µm.

Kromatografske podatke smo obdelali z uporabo programske opreme ChemStation Plus, revizijska številka A.08.0X (Levart, 2008)

#### 3.2.2.3.1 Kromatografski pogoji ločbe

##### Temperaturni program:

Začetna temperatura [°C]:	100
Začetni zadrževalni čas [min]:	10
Hitrost dviganja temperature [°C/min]:	1
Končna temperatura [°C]:	230
Končni zadrževalni čas [min]:	30
Temperatura injektorja [°C]:	250
Temperatura detektorja [°C]:	250

##### Pretoki plinov:

Helij (nosilni plin) [ml/min]:	1,0
Dušik (make-up plin) [ml/min]:	45
Vodik (gorilni plin) [ml/min]:	40
Sintetični zrak [ml/min]:	450

Volumen injiciranega vzorca: 1µl

Način injiciranja: split

Split razmerje: 20:1

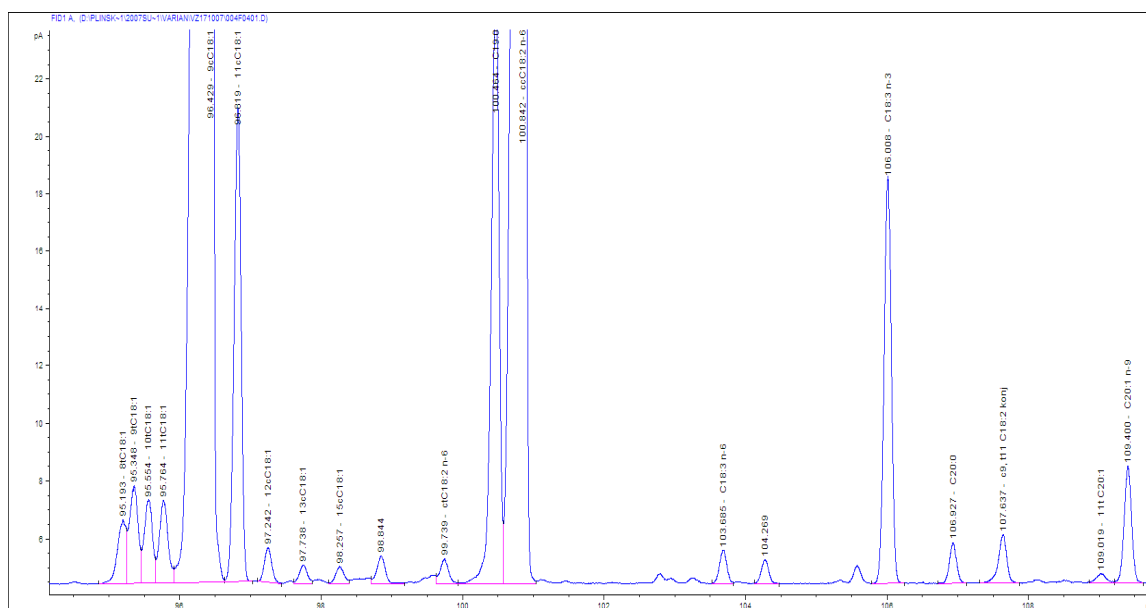
### 3.2.2.4 Identificiranje kromatografskih vrhov

Posamezne metilne estre maščobnih kislin identificiramo na osnovi primerjave retencijskih časov ločenih metilnih estrov v vzorcu z retencijskimi časi kromatografskih vrhov metilnih estrov v standardnih raztopinah.

#### 3.2.2.4.1 Kalibriranje inštrumenta

Za kalibriranje instrumenta smo uporabili naslednje standardne mešanice:

- GLC-85, GLC-411, GLC-80, GLC-546, GLC-68a, GLC-423 (proizvajalec Nuchek Prep, Elysian, MN, ZDA);
- Supelco 37 component FAME mix (proizvajalec Supelco, Bellefonte, PA, ZDA).



Slika 2: Primer plinskega kromatograma maščobnih kislin lipidov humanega mleka.

### 3.2.2.5 Statistična analiza

V poskusu zbrane podatke smo pripravili in uredili s programom EXCEL XP. Tako urejene podatke smo statistično obdelali z računalniškim programom SAS (SAS Software. Version 8.01, 1999) z multiplo analizo variance – postopkom GLM (General Linear Models).

Statistični model za maščobno-kislinsko sestavo mleka je vključeval vpliv različnih skupin (S) (model 1).

$$y_{ij} = \mu + S_i + e_{ij} \quad (\text{model 1}),$$

kjer je  $y_{ij}$  =  $i$ -to opazovanje,  $\mu$  = povprečna vrednost,  $S_i$  – vpliv skupine (A in B) in  $e_{ij}$  = ostanek.

Pričakovane povprečne vrednosti MK humanega mleka za eksperimentalne skupine so bile izračunane z uporabo testa LSM in so primerjane pri 5 % tveganju (SAS Software, 1999)

Literatura: SAS Software. Version 8.01. 1999. Cary, SAS Institute Inc.

## 4 REZULTATI

### 4.1. VSEBNOSTI TRANS MAŠČOBNIH KISLIN V MLEKU SLOVENSКИH MATER

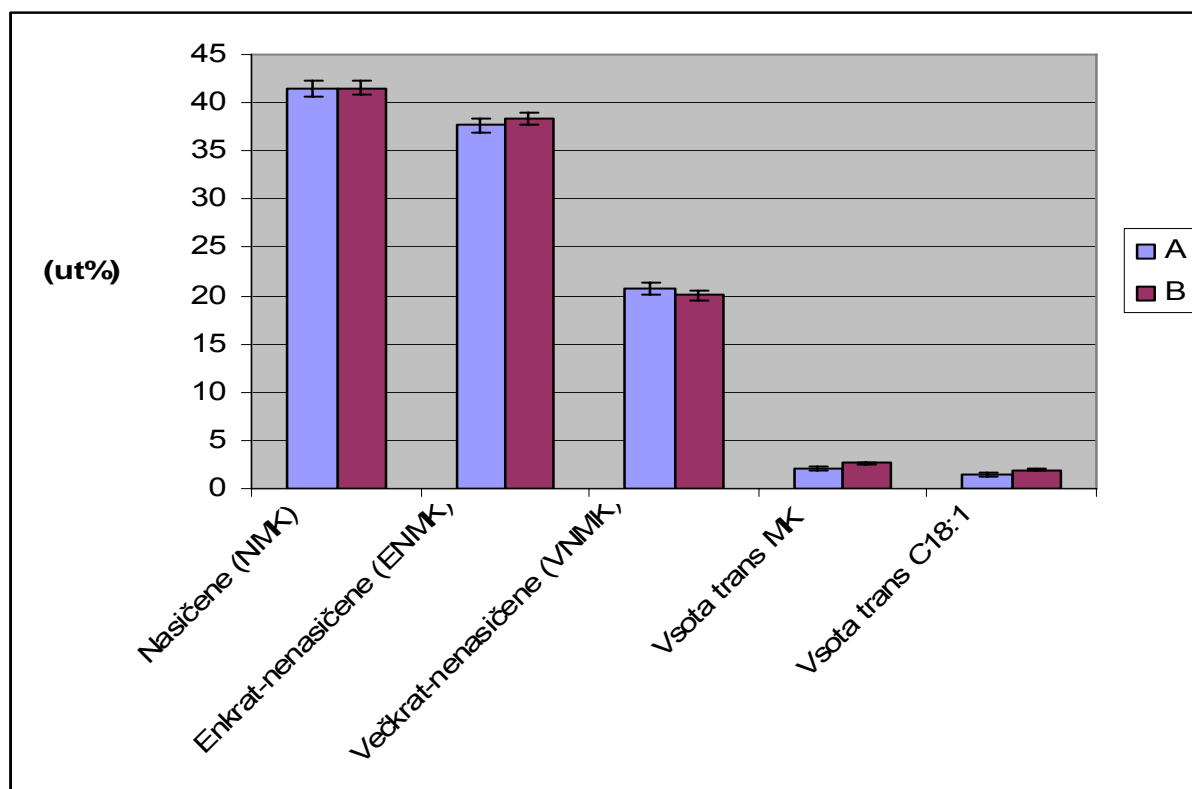
Količine *trans* maščobnih kislin v mleku A (matere s hipogalaktijo) in B (kontrolna skupina) skupine smo primerjali med seboj in ugotavljali razlike.

V preglednici 3 so podani rezultati o skupnih nasičenih, enkrat in večkrat-nenasičenih maščobnih kislin, skupnih *trans*-maščobnih kislin in *trans* C18:1 izomer v maščobi analiziranega mleka; v preglednicah 4 in 5 pa vsebnosti enkrat-nenasičenih in večkrat-nenasičenih *trans* maščobnih kislin. Vrednosti predstavljajo utežne % posameznih maščobnih kislin.

Preglednica 4: Vsebnosti (ut. %) nasičenih, enkrat-nenasičenih, večkrat-nenasičenih maščobnih kislin ter vsota *trans* maščobnih kislin in *trans* izomer C18:1 v lipidih mleka slovenskih mater dojenčkov, z neustreznim (A) in ustreznim (B) napredovanjem na telesni teži (povprečje  $\pm$  SD)

MAŠČOBNA KISLINA	A (ut %)	B (ut %)	ZNAČILNOST
Nasičene (NMK)	41,50 $\pm$ 0,87	41,57 $\pm$ 0,76	n. s.
Enkrat-nenasičene(ENMK)	37,71 $\pm$ 0,70	38,37 $\pm$ 0,61	n. s.
Večkrat-nenasičene (VNMK)	20,79 $\pm$ 0,67	20,05 $\pm$ 0,58	n. s.
Vsota <i>trans</i> MK	2,07 $\pm$ 0,17	2,60 $\pm$ 0,14	P < 0,05
Vsota <i>trans</i> C18:1	1,47 $\pm$ 0,15	1,92 $\pm$ 0,13	P < 0,05

Med skupinama A in B vzorcev humanega mleka ni bilo statistično značilnih razlik v deležu nasičenih, enkrat-nenasičenih in večkrat-nenasičenih maščobnih kislin. Statistično značilne razlike pa smo ugotovili pri deležu vseh *trans* maščobnih kislin, ter vsoti *trans* izomer C18:1 (P < 0,05). Maščoba mleka mater dojenčkov z neustreznim napredovanjem na telesni teži (A), je vsebovala statistično značilno nižji delež vseh *trans* maščobnih kislin, nižja pa je bila tudi vsota *trans* izomer C18:1 (P < 0,05).

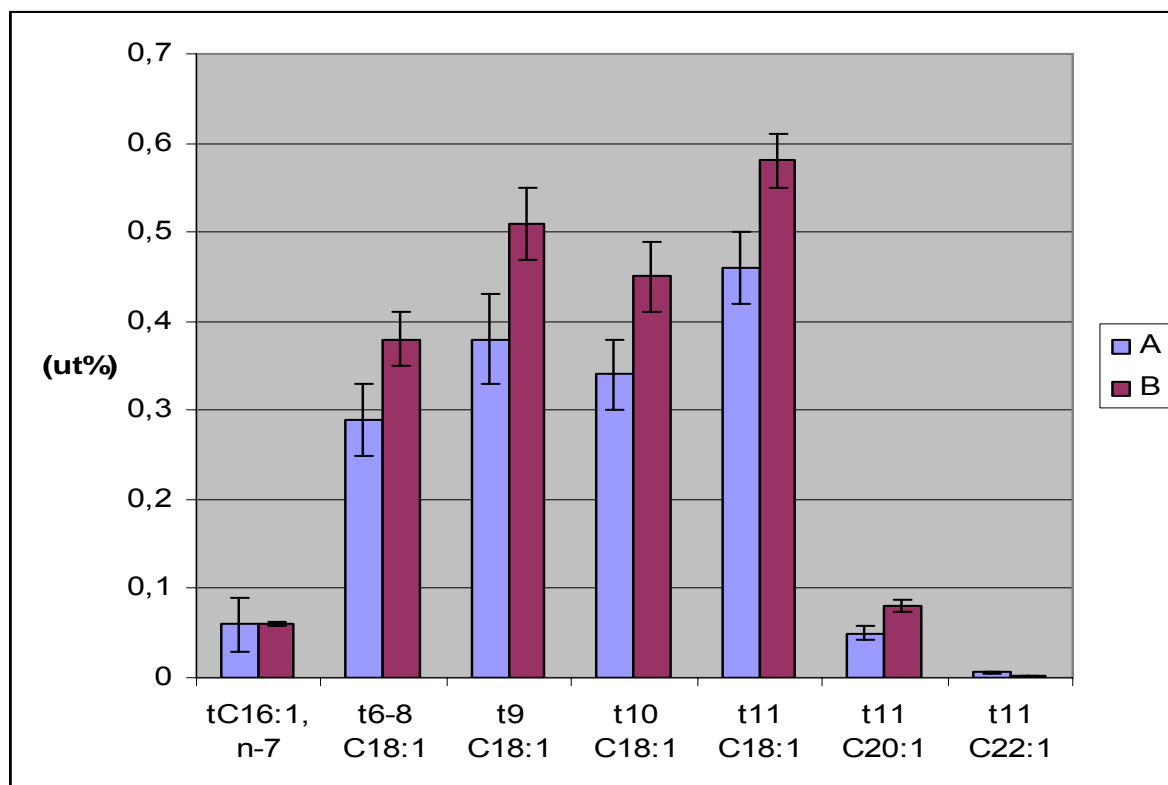


Slika 3: Primerjava vsebnosti vseh nasičenih, enkrat-nenasičenih, večkrat-nenasičenih maščobnih kislin, ter vsote vseh *trans*-maščobnih kislin in vsote vseh *trans* C18:1 MK v humanem mleku mater dojenčkov, z neustreznim (A) in ustreznim (B) napredovanjem na telesni teži

Preglednica 5: Enkrat-nenasičene *trans* maščobne kisline (ut %) v lipidih mleka slovenskih mater dojenčkov, z neustreznim (A) in ustreznim (B) napredovanjem na telesni teži

MAŠČOBNA KISLINA	A (ut %)	B (ut %)	ZNAČILNOST
tC16:1, n-7	0,06±0,003	0,06±0,002	n.s.
t6-8 C18:1	0,29±0,04	0,38±0,03	n.s.
t9 C18:1	0,38±0,05	0,51±0,04	n.s.
t10 C18:1	0,34±0,04	0,45±0,04	n.s.
t11 C18:1	0,46±0,04	0,58±0,03	P < 0,05
t11 C20:1	0,05±0,008	0,08±0,007	P < 0,01
t11 C22:1	0,006±0,001	0,002±0,001	P < 0,01

Med enkrat-nenasičenimi maščobnimi kislinami sta v obeh skupinah prevladovali vakcenska kislina, ki je predstavljala 0,46 ut % v skupini A in 0,58 ut % v skupini B, ter elaidinska kislina, z 0,38 ut % v skupini A in 0,51 ut % v skupini B. Čeprav so bile povprečne količine vseh analiziranih enkrat-nenasičenih *trans*-maščobnih kislinah nekoliko višje v skupini B pa smo statistično značilne razlike ( $P < 0,05$ ) med skupinama ugotovili le za vakcensko kislino (t11 C18:1), za t11 C20:1 imenovano tudi *trans* 11 ikozenojska kislina in za t11 C22:1.

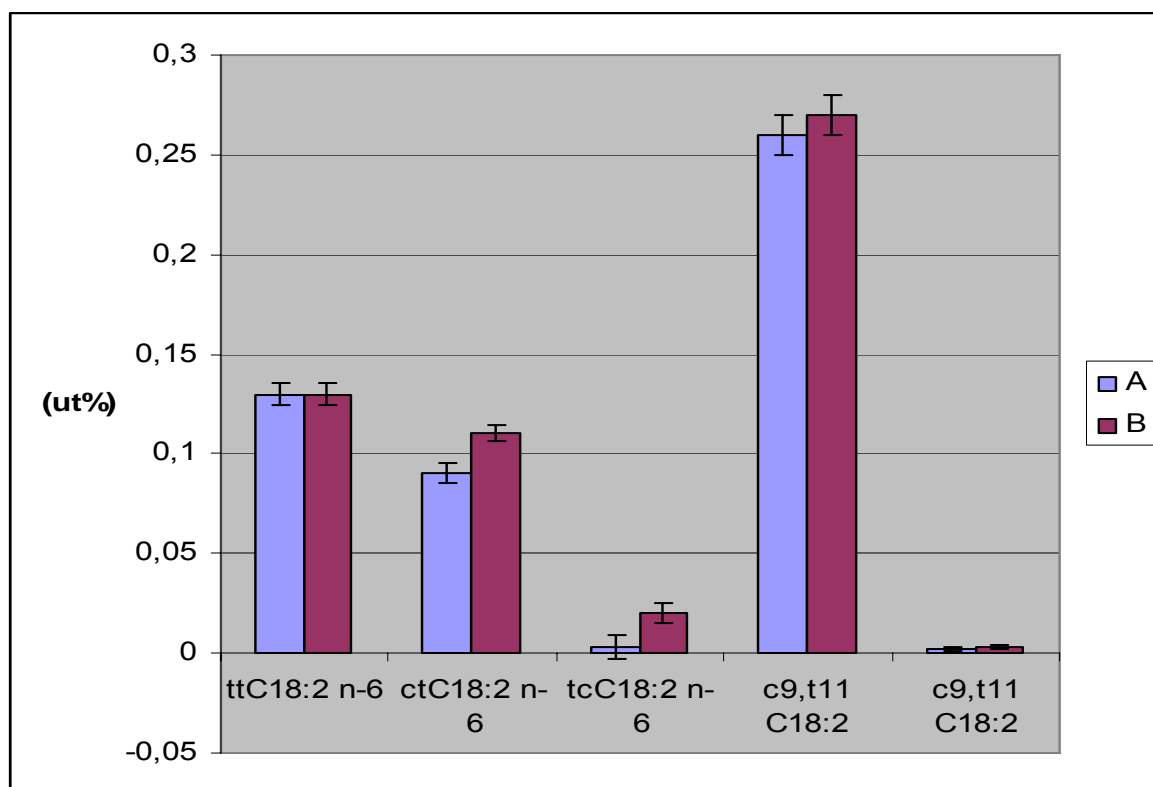


Slika 4: Primerjava vsebnosti enkrat-nenasičenih *trans* maščobnih kislin v humanem mleku doječih mater dojenčkov, z neustreznim (A) in ustreznim (B) napredovanjem na telesni teži

Preglednica 6: Večkrat-nenasičene *trans* maščobne kisline (ut %) v lipidih mleka slovenskih mater dojenčkov z neustreznim (A) in ustreznim (B) napredovanjem na telesni teži

MAŠČOBNA KISLINA	A (ut %)	B (ut %)	ZNAČILNOST
ttC18:2 n-6	0,13±0,006	0,13±0,006	n.s.
ctC18:2 n-6	0,09±0,005	0,11±0,004	n.s.
tcC18:2 n-6	0,003±0,006	0,02±0,005	P < 0,05
c9,t11 C18:2	0,26±0,01	0,27±0,01	n.s.
t10,c12 C18:2	0,002±0,001	0,003±0,001	n.s.

Med večkrat-nenasičenimi *trans* maščobnimi kislinami je v obeh skupinah prevladovala konjugirana linolna kislina (c9, t11 C18:2), ki je predstavljala 0,26 ut % v skupini A in 0,27 ut % v skupini B, vsebnost pa se med skupinama ni statistično značilno razlikovala. Edino statistično značilno razliko med skupinama smo ugotovili za vsebnost tcC18:2 n-6, ki jo je mleko skupine B vsebovalo kar 6,6-krat več kot mleko skupine A.



Slika 5: Primerjava vsebnosti večkrat-nenasičenih *trans* maščobnih kislin v humanem mleku doječih mater dojenčkov, z neustreznim (A) in ustreznim (B) napredovanjem na telesni teži

#### 4.2 PRIMERJAVA VSEBNOSTI TRANS MAŠČOBNIH KISLIN V MLEKU SLOVENSКИH MATER Z VREDNOSTMI IZ DRUGIH DRŽAV

V preglednici 6 so prikazani podatki o vsebnosti *trans* maščobnimi kislinami za tri evropske države (Nemčija, Poljska in Slovenija), dve ameriški (Brazilija in ZDA), dve afriški (Nigerija in Sudan) in tri azijske države (Iran, Kitajska in Kuvajt). Vsota *trans* maščobnih kislin v humanem mleku je najvišja v Iranu (11,3 ut %), sledi pa ji ZDA (7,0 ut %). Najnižje koncentracije so bile zabeležene pri vzorcih mleka mater iz Sudana in so znašale 0,61 ut %. Slovenija se z 2,60 ut % po vsebnosti *trans* maščobnimi kislinami uvršča nekje v sredino in je po vsebnosti *trans* maščobnih kislin v humanem mleku primerljiva z drugimi evropskimi državami, kot sta Poljska in Nemčija. Za primerjavo z drugimi državami smo upoštevali samo rezultate analiz vzorcev mleka darovalk, katerih dojenčki so normalno pridobivali telesno težo ( $n = 41$ ).



Preglednica 7: Vsota skupnih *trans* maščobnih kislin (ut%) v humanem mleku različnih evropskih, azijskih in ameriških držav (Brazilija, Iran, Kitajska, Kuvajt, Nemčija, Nigerija, Poljska, Slovenija, Sudan, ZDA)

REFERENCE	DRŽAVA	ŠTEVILO MATER	VSOTA TRANS MAŠČOBNIH KISLIN (UT %)
Silva et al. 2004	Brazilija	8	2.36± 1.76
Bahrami et al. 2004	Iran	52	11,3± 3,4
Chen et al. 1997	Kitajska – Hong Kong	51	2.80± 1.75
Hayat et al. 1999	Kuvajt	19	2.80± 1.75
Koletzko in sod. 1988	Nemčija	15	4.4
Glew et al. 2005	Nigerija	69	1.03
Mojska et al. 2003	Poljska	69	2.80
Laryea et al. 1995	Sudan	77	0.61
Mosley et al. 2005	ZDA	81	7,0±2,3
<b>Ta študija 2008</b>	<b>Slovenija</b>	<b>41</b>	<b>2,60± 0,14</b>

#### 4.3. PRIMERJAVA VSEBNOSTI TRANS MAŠČOBNIH KISLIN V MLEKU SLOVENSКИH MATER Z VREDNOSTMI HUMANEGA MLEKA IZ ZDA IN NEMČIJE

V preglednici 7 so podani rezultati vseh *trans* maščobnih kislin, ki smo jih analizirali v naših vzorcih. Rezultati zajemajo različne izomere, enkrat-nenasičenih *trans* maščobnih kislin, od C16:1 do C20:1, ter tri večkrat-nenasičene *trans* maščobne kisline. Vsaki posamezni izomer smo primerjali z vrednostmi istih izomer v humanem mleku, ki jih navajajo v raziskavah, opravljenih v ZDA in Nemčiji.

Iz preglednice 7 in iz slik 6 in 7 je razvidno, da sta v vseh vzorcih dominantna izomera C18:1 t9 in C18:1 t11, razen v primeru izomera C18:1 t10 v mleku ameriških mater, kjer je ta maščobna kislina najobilnejša. Teh dveh *trans* maščobnih kislin je v humanem mleku največ, še posebno visoka je vsebnost vakcenske kisline (C18:1 t11). Izjemi veljata samo za *trans* maščobne kisline C16:1 v vzorcih nemških mater, kjer je ta prisotna v visokih količinah (0,50 ut %), ter za C18:1 t10 v vzorcih ameriških mater, kjer je ta maščobna kislina prisotna v najvišji koncentraciji glede na vse ostale *trans* maščobne kisline. Rezultati za vse izomere *trans* maščobnih kislin, ki smo jih primerjali, so bili v vsakem primeru najvišji v mleku ameriških mater, razen C16:1 *trans* maščobne kisline, katere vrednost je bila najvišja pri mleku nemških mater, kot dokazuje slika 10.

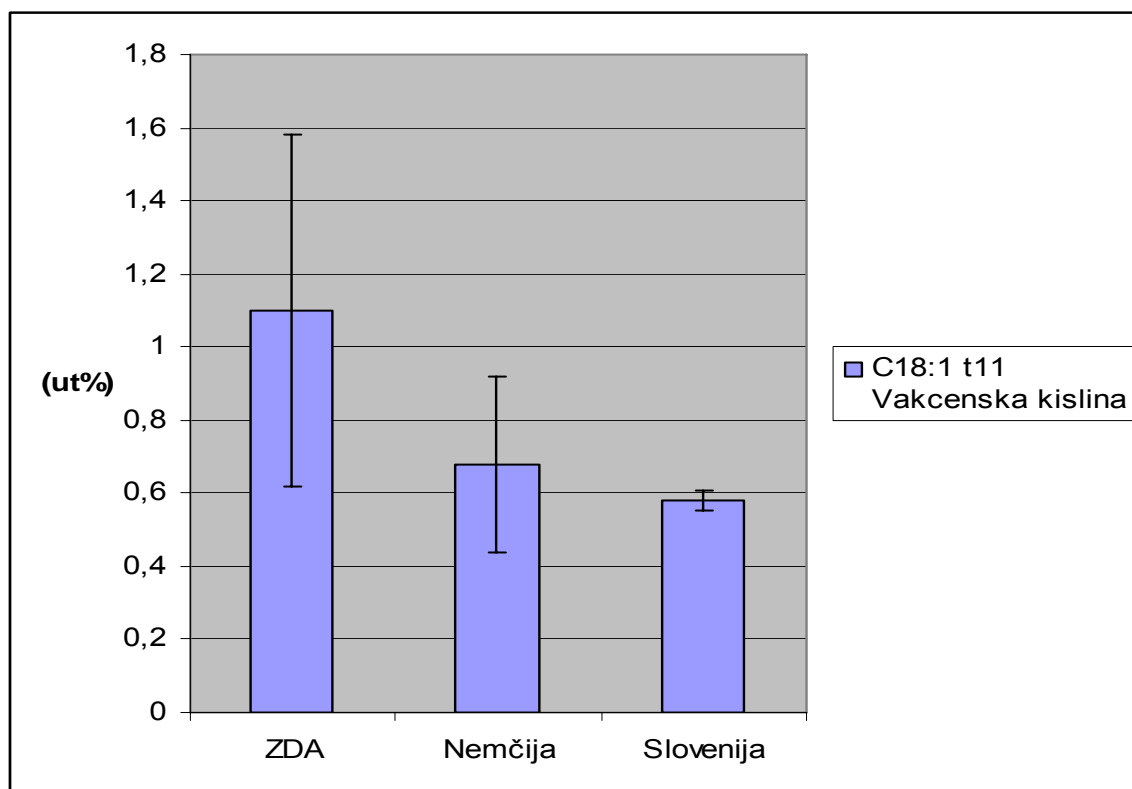
Poleg tega smo primerjali še vsebnosti CLA-ja in linoelaidinske kisline v mleku mater iz treh držav, kar prikazuje slika 9.

Potrebno je dodati, da je mleko mater iz Slovenije vsebovalo nižje vrednosti pri skoraj vseh izomerih *trans* maščobnih kislin v primerjavi z Nemčijo in ZDA.

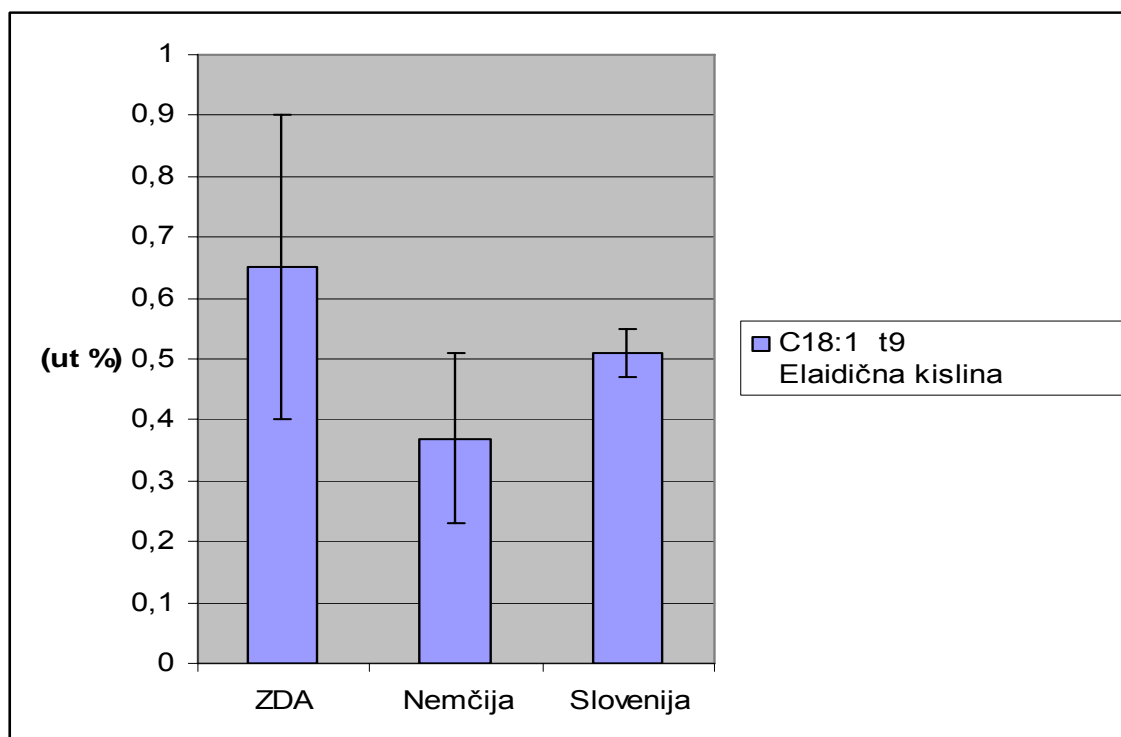
Preglednica 8: Primerjava vsot posameznih *trans* maščobnih kislin v humanem mleku  
 ZDA, Nemčije in Slovenije

MAŠČOBNA KISLINA	ZDA (Mosley, 2005) n=81 (ut %)	NEMČIJA (Precht in Molkentin, 1999) n=40 (Koletzko, 1989)** n= 15 (ut %)	SLOVENIJA (ta študija, 2008) n=41 (ut %)
C16:1	0,37±0,006	0,50±0,04**	0,06±0,002
C18:1 t 6-8	0,02±0,01- 0,43±0,21	0,21±0,09*	0,38±0,03
<b>C18:1 t 9</b>	<b>0,65±0,25</b>	<b>0,37±0,14*</b>	<b>0,51±0,04</b>
C18:1 t 10	1,5±0,59	0,32±0,12*	0,45±0,04
<b>C18:1 t 11</b>	<b>1,1±0,48</b>	<b>0,68±0,24*</b>	<b>0,58±0,03</b>
C18:2 c9 t11	0,43±0,1	0,40±0,09*	0,27±0,01
C18:2 t t	0,91±0,28	0,17±0,005**	0,13±0,006
C18:2 t10 c12	0,01±0,01	/	0,003±0,001
C20:1 t11	N.D.	0,05±0,02**	0,08±0,007

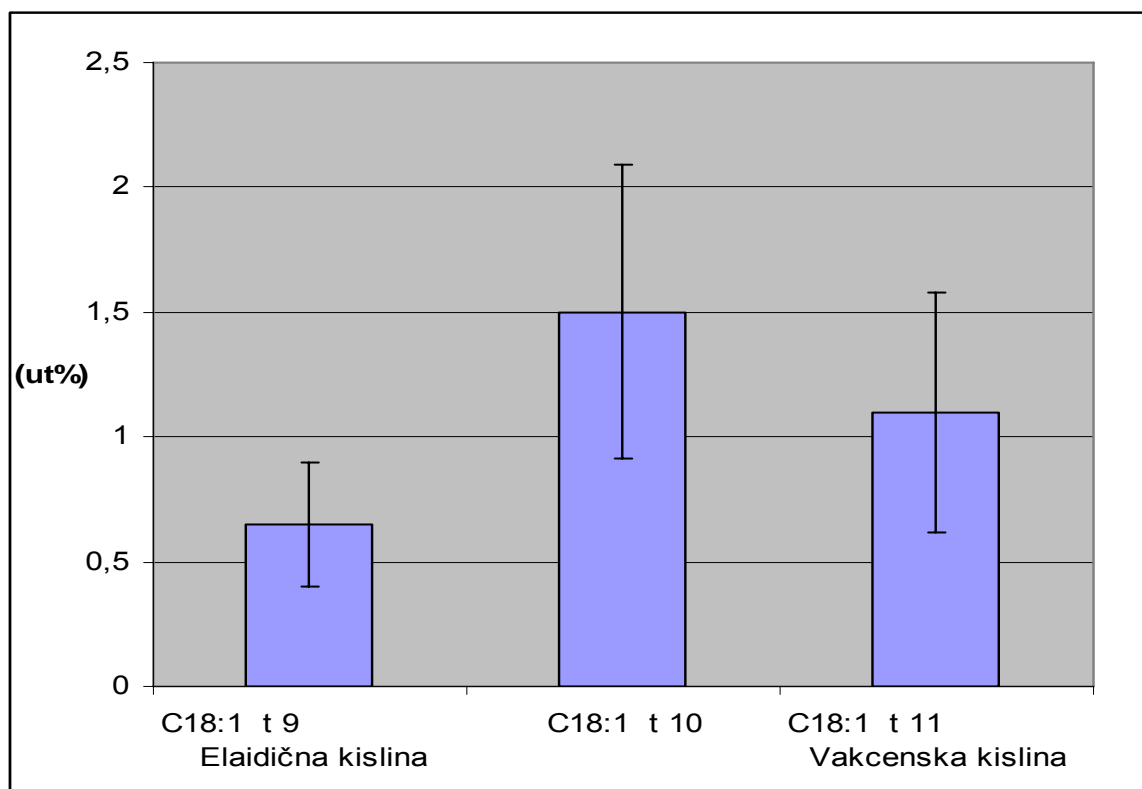
Izomera C18:1 t9 in t11 *trans* maščobnih kislin sta bili v vseh primerih najobilnejši, razen pri mleku ameriških mater, kjer je prevladovala C18:1 t10 maščobna kislina in pri mleku nemških mater, kjer je bilo največ *trans* C16:1 maščobne kisline. Izomere C18:1 t10 je bilo bistveno več od vakuenske in elaidinske kisline, kot je razvidno iz slike 8.



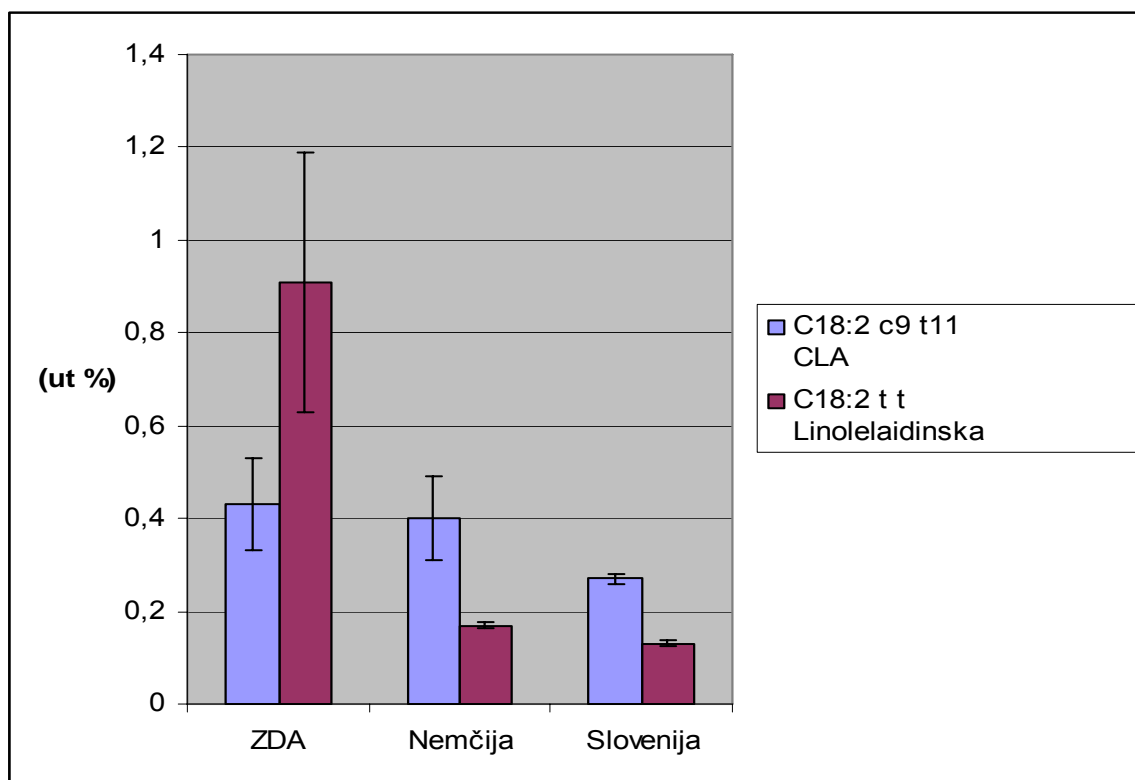
Slika 6: Primerjava vsebnosti *trans* vakcenske kisline (C18:1 t11) v humanem mleku med ZDA, Nemčijo in Slovenijo



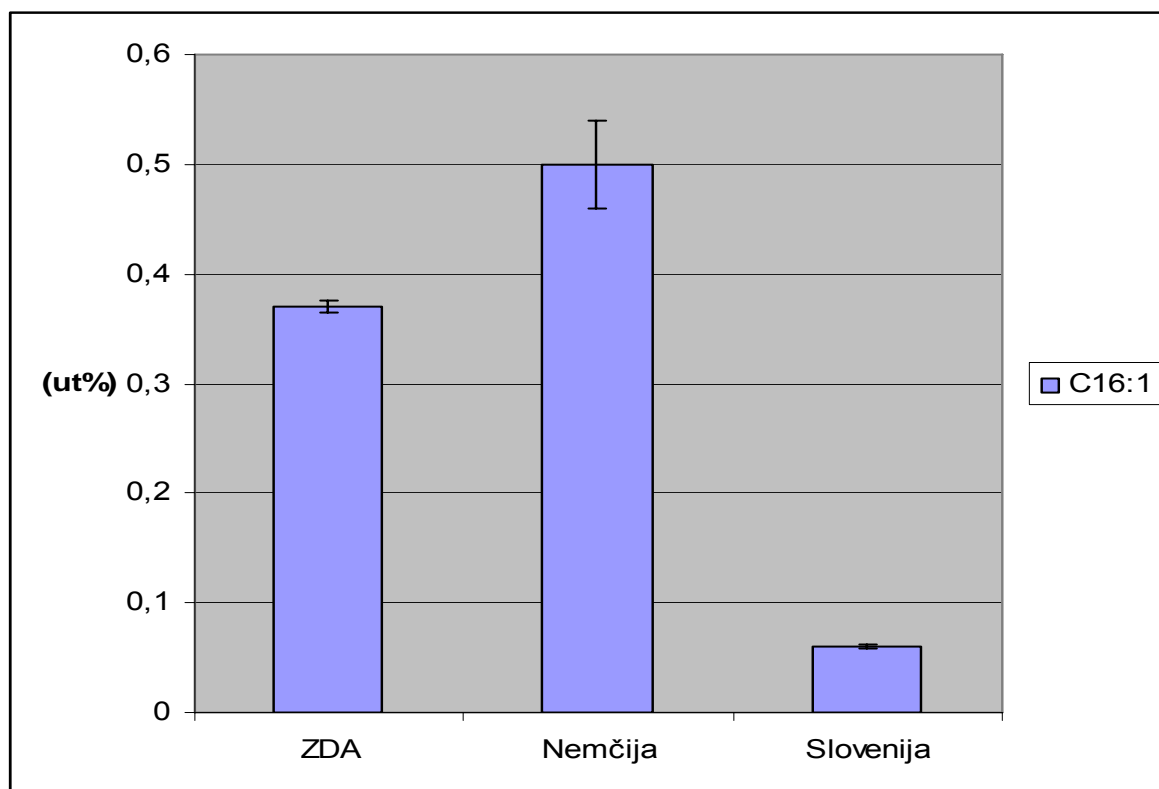
Slika 7: Primerjava vsebnosti elaidinske kisline (18:1 t9) v humanem mleku med ZDA, Nemčijo in Slovenijo



Slika 8: Primerjava vsebnosti izomer C18:1 *trans* maščobnih kislin v mleku ameriških mater



Slika 9: Primerjava CLA in linoelaidinske kisline med ZDA, Nemčijo in Slovenijo



Slika 10: Primerjava vsebnosti C16:1 *trans* maščobne kisline med ZDA, Nemčijo in Slovenijo



## 5 RAZPRAVA IN SKLEPI

### 5.1 RAZPRAVA

V diplomski nalogi smo preučevali *trans* maščobno-kislinsko sestavo mleka slovenskih mater. Zanimalo nas je kakšne so vsebnosti teh maščobnih kislin v mleku mater, katerih dojenčki so ustrezno napredovali na telesni teži (skupina B) in kakšne so v mleku mater, katerih dojenčki niso ustrezno napredovali na telesni teži (skupina A-hipogalaktija). Želeli smo primerjati vsebnosti obeh skupin, ter ugotoviti kakšne so podobnosti in razlike. Poleg tega smo primerjali rezultate naših vzorcev z rezultati iz drugih držav po Svetu.

*Trans* maščobno-kislinsko sestavo v vzorcih mleka smo določili z uporabo plinskega kromatografa Agilent 6890, opremljenega z avtomatskim injektorjem in podajalnikom vzorcev (Agilent 7683) in FID detektorjem. Posledično s statistično analizo smo želeli ugotoviti ali so razlike v vsebnosti *trans* maščobnih kislin v različnih skupinah statistično značilne.

Iz dobljenih rezultatov lahko podamo določene ugotovitve in potrdimo oz. ovržemo postavljene hipoteze. Razpravo o dobljenih rezultatih, statističnih ugotovitvah, ter primerjavah z obstoječimi rezultati iz literature smo delili na sledeča sklopa: primerjava med skupinama B (referenčna skupina) in A (hipogalaktija), ter primerjava vsebnosti *trans* maščobnih kislin med našimi rezultati in rezultati iz drugih držav.

#### 5.1.1 Primerjava med skupinama A in B

Predstavljena študija daje prvi podrobni vpogled v *trans* maščobno-kislinsko sestavo 72-ih vzorcev mleka, katere smo razdelili v dve skupini. 41 vzorcev smo uvrstili v skupino B (referenčna skupina), 31 pa v skupino A (hipogalaktija).

Vsebnost *trans* maščobnih kislin v vzorcih mleka smo določili s kapilarno plinsko kromatografijo. S to metodo smo tako določili skupne vsebnosti nasičenih, enkrat-nenasičenih, večkrat-nenasičenih maščobnih kislin, ter skupnih *trans* maščobnih kislin in skupnih C18:1 *trans* izomerov. Poleg tega smo dobili še podrobnejše rezultate in sicer vsebnosti nekaterih posameznih enkrat in večkrat-nenasičenih *trans* izomerov, katerih število ogljikovih atomov znaša od 16 do 22. Rezultate smo podali v utežnih %.

Primerjanje rezultatov obeh skupin nam je podalo zanimive zaključke o maščobno-kislinski sestavi humanega mleka slovenskih mater. Izkazalo se je, da so razlike v vsebnosti (ut %) vsote nasičenih, enkrat-nenasičenih, ter večkrat-nenasičenih maščobnih kislin med skupinama A in B minimalne in statistično neznačilne. To kaže, da ni statistično značilnih razlik v vnosu vsote utežnega deleža tovrstnih maščobnih kislin med dojenčki, ki zaužijejo ustrezno količino mleka (skupina B) in dojenčki, ki zaužijejo prenizko ustrezno količino mleka (skupina A).

Glede utežnega deleža skupnih *trans* maščobnih kislin, pa smo zasledili statistično značilne razlike med skupinama. V skupini B je bil utežni % skupnih *trans* maščobnih kislin, kot tudi skupnih C18:1 *trans* izomerov višji kot v skupini A.

Primerjali smo tudi razlike v vsebnostih posameznih izomerov *trans* maščobnih kislin. Opazili smo, da pri enkrat-nenasičenih *trans* maščobnih kislinah, ki so imele nižje število ogljikovih atomov (med 16 in 18) ni bilo statistično značilnih razlik (razen pri vakcenski kislini C18:1 t11). Pri izomerih *trans* maščobnih kislin z višjim številom ogljikovih atomov (C20:1 in C22:1) pa smo zasledili statistično značilne razlike. Zanimivo pa je, da se je v

vseh primerih (razen za C22:1) izkazalo, da so vsebnosti višje v skupini B. To nam daje spet zanimiv pogled nad celotno sliko, zaradi katere lahko sklepamo, da dojenčki, ki uživajo mleko iz skupine B istočasno uživajo večje količine enkrat-nenasičenih *trans* maščobnih kislin.

Izomere večkrat-nenasičenih *trans* maščobnih kislin pa smo med sabo primerjali in nismo zasledili statistično značilnih razlik med rezultati obeh skupin (razen za C18:2 tc). Tudi v tem primeru je bil trend višje vsebnosti na strani skupine B. Treba pa je poudariti, da čeprav smo zasledili statistično značilne razlike v vsebnosti *trans* izomera C18:2 tc, je v obeh skupinah tega bilo zelo malo.

### 5.1.2 Primerjava z rezultati iz drugih držav

V drugem delu študije smo se osredotočili na primerjanje naših rezultatov z rezultati o vsebnosti *trans* maščobnih kislin v mleku mater iz drugih držav po Svetu.

Pri primerjanju deležev *trans* maščobnih kislin v mleku slovenskih mater z ostalimi podatki smo upoštevali rezultate vzorcev mleka mater iz skupine B (n=41), ne pa tudi iz skupine A zaradi hipogalaktije.

Podatki iz literature kažejo, da se vrednosti močno razlikujejo glede na to, kje se država na Svetu nahaja (klimatski in kulturni dejavniki) pa tudi glede na njeno gospodarsko stanje in splošno zdravstveno stanje prebivalcev. V naši raziskavi smo primerjali rezultate študij, opravljenih v treh evropskih državah (Nemčija, Poljska in Slovenija), dveh ameriških (Brazilija in ZDA), dveh afriških (Nigerija in Sudan) in treh azijskih državah (Iran, Kitajska in Kuvajt).

Najvišje vsebnosti (ut %) smo zasledili v mleku mater iz Irana. Bahrami in sod. (2004) navajajo, da so tako visoke vsebnosti *trans* maščobnih kislin v vzorcih iranskega humanega mleka posledica velike potrošnje delno hidrogeniranih olj, ki vsebujejo ogromno *trans* maščobnih kislin (do 38 % vseh maščobnih kislin), med katerimi prednjači elaidinska kislina kot glavna *trans* maščobna kislina. Takoj za Iranom sledita Kanada in ZDA. V prvi naj bi bilo v povprečju prisotnih v humanem mleku 7.1 ut % *trans* maščobnih kislin, kar je tudi zelo visoka vrednost (Chen, 1997). Podobno vrednost navajajo Mosley in sod. (2005) za ZDA, saj so v mleku ameriških mater ugotovili v povprečju 7,0 ut % *trans* maščobnih kislin. V obeh primerih naj bi bil razlog za tako visoke vsebnosti *trans* maščobnih kislin slaba oz. t. i. hitra hrana (fast food), ki je dandanes zakoreninjena v navadah severnoameriških populacij in je glavni ter bogati vir *trans*-maščobnih kislin.

Po drugi strani smo zasledili najnižje koncentracije vsebnosti *trans* maščobnih kislin v vzorcih mleka mater iz Sudana, ki so znašale 0,61 ut % (Laryea in sod., 1995). Tudi tukaj visoka koncentracija elaidinske kisline (0,43 ut %), kot najobilnejše *trans* maščobne kisline med vsemi maščobnimi kislinami, kaže na porabo hrane, ki vsebuje delno hidrogenirane rastlinske maščobe. Vsekakor je tako nizka koncentracija skupnih *trans* maščobnih kislin nižja od priporočil D-A-CH-a (ni citata) Poudariti pa je potrebno, navajajo Laryea in sod. (1995), da so bile med razlogi za tako nizke vrednosti *trans* maščobnih kislin tudi nizke količine skupnih maščob, ki so jih zaužile matere darovalke.

Zanimiv je podatek glede deleža *trans* maščobnih kislin v humanem mleku na Kitajskem; tudi tukaj je podana vrednost zelo nizka in znaša 0,88 ut % in je takšna koncentracija zelo ugodna. Vsekakor je treba dodati, da je tukaj razlog za tovrstni nizki delež *trans* maščobnih kislin predvsem v drugačnem načinu prehranjevanja na tem območju. Poraba delno hidrogeniranih rastlinskih olj in mlečnih izdelkov je precej nižja kot v mnogih drugih

območjih sveta (čeprav še vedno glavni viri *trans* maščobnih kislin v humanem mleku), poleg tega je precej velika poraba morskih rib, kar pripomore k izboljšanju maščobno-kislinske sestave mleka mater darovalk (Chen in sod., 1997).

Pri primerjavi naših rezultatov, se Slovenija uvršča nekje v sredino. Naši rezultati znašajo 2,60 ut % in so primerljivi z drugimi evropskimi državami, kot sta Poljska in Nemčija, in tudi z neevropskimi, kot sta Brazilija in Kuvajt.

V Sloveniji so prehranske navade še vedno zakoreninjene v neki vzhodnoevropski model prehranjevanja, vendar se relativno hitro spreminjajo in vse bolj se tudi pri nas uveljavlja način hitrega, industrijskega in poceni prehranjevanja. V povprečju je skupni delež *trans* maščobnih kislin v mleku mater nad priporočili, kar seveda kaže na vedno večjo potrošnjo izdelkov, ki vsebujejo veliko *trans* maščobnih kislin. Izmed vsemi *trans* maščobnimi kislinami je količinsko najbolj prisotna vakuenska kislina (C18:1 t 11), kar dejansko kaže, da matere v Sloveniji večinoma pridobivajo *trans* maščobne kisline iz izdelkov, kjer so naravno prisotne (meso, mleko). Poleg tega tudi visoka vsebnost elaidinske kisline (C18:1 t 9) in izomera C18:1 t10 kaže na visoko porabo industrijsko sintetiziranih *trans* maščobnih kislin, kar ne ustreza priporočilom zdrave prehrane.

Vsekakor se lahko Slovenija primerja s Poljsko, kjer se vrednosti gibljejo okoli 2,80 ut % (Mojska in sod., 2003), medtem ko so vrednosti za Nemčijo precej višje od naših in znašajo 4,4 ut % (Koletzko in sod., 1988), kar kaže na višjo porabo *trans* maščobnih kislin v skladu s t. i. »zahodno« prehrano, pri čemer pa je potrebno opozoriti, da so to podatki izpred desetih let.

Pri analiziranju in primerjavi naših rezultatov smo prišli do zelo zanimivih zaključkov glede deležev *trans* maščobnih kislin v humanem mleku. Količinsko je bilo največ prisotne vakuenske kisline (C18:1 t11) in sicer 0,58 ut %, kar pa je v primerjavi z Nemčijo nižja vrednost (0,68 ut %). Zanimiva pa je primerjava z ZDA, kjer je delež te *trans* maščobne kisline kar okoli 1,1 ut % in je skoraj dvakrat večji kot v vzorcih mleka slovenskih mater. Treba pa je še dodati, da so standardni odkloni vrednosti, ki jih navajajo avtorji za humano mleko v ZDA, precej veliki (slika 6).

Poleg deleža vakuenske kisline je najbolj izstopal delež elaidinske kisline (C18:1 t9). Te *trans* maščobne kisline je bilo v povprečju 0,51 ut % v mlečni maščobi slovenskih mater, kar je v primerjavi z nemškimi materami nekoliko višji delež (0,31 ut %). To načeloma kaže, da matere v Nemčiji zaužijejo manj *trans* maščobnih kislin, ki nastanejo med tehnološkimi postopki s parcialno hidrogenacijo rastlinskih olj (Precht in Molquentin, 1999). V primerjavi z Nemčijo in Slovenijo pa poraba teh maščob za ameriške matere ostaja še vedno visoka (slika 7).

K visokem deležu *trans* maščobnih kislin v naših vzorcih sta prispevala tudi izomera C18:1 t6-8 (0,38 ut %) ter C18:1 t10 (0,45 ut %). Zanimivo je, da se vsebnosti izomera C18:1 t6-8 ne razlikujejo veliko med državami, medtem ko izomer C18:1 t10 v materinem mleku v ZDA zelo odstopa od količin prisotnih v mleku slovenskih in nemških mater, saj predstavlja kar 1,5 ut %, kar je zelo visoka količina enega samega izomera *trans* maščobne kisline (Mosley, 2005). To še dodatno dokazuje, kako se glede na prehranske navade (tipične za zahodni svet) odraža kakovost maščobno-kislinske sestave v humanem mleku.

Velja še dodati, da se v vzorcih humanega mleka različnih držav razlikuje tudi delež konjugirane linolne kisline (CLA-izomer C18:2 c9 t11). Ta je največji v mleku mater iz ZDA in znaša 0,49 ut % medtem ko v mleku nemških mater se vrednosti gibljejo okoli 0,40 ut %. Pri naših vzorcih se je pokazalo, da je CLA v povprečju 0,27 ut %, kar je še vedno dokaj visoka vrednost, vendar skoraj polovična glede na delež CLA v maščobi

mleka ameriških mater. V zadnjih letih se na CLA gleda z vedno večjim zanimanjem in je dobrodošla zaradi njenih pozitivnih učinkov, kot so npr. kemoprotektivne lastnosti (inhibicija karcinogeno inducirane neoplazije) in sposobnost zmanjšanja akumulacije telesnih maščob, kar je bilo dokazano v različnih eksperimentalnih modelih (Larqué in sod., 2001). Mnogo mehanizmov delovanja CLA je še nepojasnjenih in jih bo potrebno še potrditi.

Deleži ostalih *trans* maščobnih kislin v vzorcih mleka slovenskih mater so nizki in nimajo velikega vpliva na skupni delež *trans* maščobnih kislin v humanem mleku. Linolelaidinska kislina (C18:2 n-6 t t) predstavlja le manjši delež (0,13 ut %) v vzorcih mleka slovenskih mater, kar je primerljivo z Nemčijo, kjer znaša količina okoli 0,17 ut %. Posebnost predstavlja mleko mater iz ZDA, kjer je vrednost tudi te *trans* maščobne kisline dokaj visoka in znaša v povprečju 0,91 ut % (slika 9).

Ostali dve dolgoverižni *trans* maščobni kislini, C18:2 t10 c12 in C20:1 t11 (*trans*-11 ikozenojska kislina) sta v vseh treh državah v razmeroma nizkih, skoraj zanemarljivih koncentracijah.

Zanimivo pa je, da je delež srednjeverižne *trans* maščobne kisline C16:1 v vzorcih mleka slovenskih mater zelo nizek (0,06 ut %), še posebno, če ga primerjamo z deležem v mleku nemških in ameriških mater, kjer so količine te *trans* maščobne kisline izredno visoke in sicer 0,37 ut % pri ameriških in še višje pri nemških, kjer je celo 0,50 ut% (Slika 10).

## 5.2 SKLEPI

Na osnovi rezultatov lahko zaključimo:

- Humano mleko mater s hipogalaktijo (skupina A) vsebuje manj skupnih *trans* maščobnih kislin kot humano mleko mater z normalnimi količinami mleka (skupina B).
- Med skupinama A in B ni statistično značilnih razlik v vsebnosti (ut %) enkrat-nenasičenih *trans* maščobnih kislin z nizkim številom ogljikovih atomov (16 do 18 z izjemo vakcenske kisline), ter večkrat-nenasičenih *trans* maščobnih kislin (z izjemo C18:2 tc). Trend višje vsebnosti pa je vedno na strani skupine B.
- Obstajajo statistično značilne razlike v vsebnostih (ut %) enkrat-nenasičenih *trans* maščobnih kislin z višjim številom ogljikovih atomov (20 in 22), vakcenske kisline, ter *trans* izomerov C18:2 tc med skupinama A in B.
- Slovenija se glede vsebnosti (ut %) *trans* maščobnih kislin v primerjavi z drugimi državami uvršča nekje v sredino
- Izmed vseh izomerov sta bili količinsko (ut %) največ prisotni vakcenska in elaidična kislina.
- *Trans* maščobne kisline so lahko naravno prisotne v živilih (meso, mleko), ali pa so prisotne v (industrijsko) predpripravljeni hrani, kjer izhajajo iz hidrogeniranih rastlinskih maščob in olj. Glede na uživanje enih ali drugih s strani doječih mater, je posledično v materinem mleku prisotne več vakcenske (naravna živila) ali elaidinske kisline (industrijska živila).
- V naravnih živilih (meso, mleko) so količine *trans* maščobnih kislin zadostne, zaradi tega se bi morale doječe matere izogniti vsem ostalim virom *trans* maščobnih kislin (industrijsko pridobljena hrana). Primeri teh živil so: piškoti, peciva, torte, prigrizki, kremni namazi, rogljički, krekerji, čipsi, popovke itd.
- Doječe matere naj bi pretežno uživale kvalitetna rastlinska olja, zlasti olivno olje, olje oljne repice, sojino olje ter ribje olje. Pomembno je, da olja niso bila termično obdelana in/ali hidrogenirana. Čim bolj pa naj se izogibajo vsem oljem in maščobam, ki so popolnoma hidrogenirana kot tudi vsem izdelkom iz njih (piškoti, krekerji, rogljički, čipsi ipd.).

## 6 POVZETEK

Dojenje je najbolj naraven in zdrav način prehranjevanja dojenčkov, zato ima kakovost materinega mleka velik vpliv na razvoj dojenčka. Maščobe imajo zelo veliko vlogo v razvoju novorojenčka, zato pridobivajo vse večjo pozornost. Posebno pozornost pa se dandanes polaga na *trans* maščobne kisline zaradi njihovih potencialno škodljivih učinkih, saj se tudi te izločajo v materino mleko in postanejo del dojenčkove prehrane.

V diplomski nalogi smo želeli ugotoviti in predstaviti vsebnosti *trans* maščobnih kislin v materinem mleku v Sloveniji. Naši rezultati so prvi in edini glede tovrstne tematike v Sloveniji in eni izmed redkih na Svetu. Želeli smo analizirati vsebnost (ut %) *trans* maščobnih kislin v 72-ih vzorcih mleka, ki smo predhodno razdelili v dve skupini (A in B), primerjati rezultate med sabo in s podatki iz drugih držav.

Poskus smo opravili tako, da smo z uporabo *trans* esterifikacije iz lipidov 72-ih vzorcev zrelega humanega mleka pripravili MEMK, ter jih analizirali s kapilarno plinsko kromatografijo. Vzorce smo predhodno razdelili v dve skupini: skupina A (mleko mater, katerih dojenčki niso ustrezno napredovali na telesni teži zaradi hipogalaktije) in skupina B ali kontrolna skupina (mleko mater, katerih dojenčki so ustrezno napredovali na telesni teži). Tako dobljene rezultate smo najprej primerjali med sabo in ugotavljali podobnosti in razlike.

Rezultati obeh skupin so se razlikovali predvsem v utežnem deležu skupnih *trans* maščobnih kislin. Več jih je bilo v mleku skupine B (kontrolna skupina: 2,60 ut %), kot pa v skupini A (2,07 ut %). V obeh primerih pa se je izkazalo, da deleži *trans* maščobnih kislin presegajo meje priporočil, kar kaže na neustrezno prehranjevanje doječih mater in morebitno grožnjo za razvoj in zdravje dojenčka.

Statistično značilne razlike smo opazili tudi pri primerjanju enkrat-nenasičenih in večkrat-nenasičenih *trans* maščobnih kislin. Pri enkrat-nenasičenih *trans* maščobnih kislinah smo opazili statistično značilne razlike v vsebnostih tistih maščobnih kislin z višjim številom ogljikovih atomov (20 in 22), ter vakcenske kisline (C18:1 t11). Slednji podatek je še posebno zanimiv, ker nam podaja informacijo o višji vsebnosti te kisline v skupini B in je ponavadi naravno prisotna v živilih kot sta meso in mleko. Pri večkrat-nenasičenih *trans* maščobnih kislinah pa nismo zasledili nobenih statistično značilnih razlik med dvema skupinama razen za *trans* izomer C18:2 tc katerega je bilo skoraj 7 krat več v mleku skupine B, čeprav je v obeh primerih v zanemarljivo majhnih deležih.

Med ostalimi izomeri (bodisi enkrat kot večkrat-nenasičenih) *trans* maščobnih kislin ni statistično značilnih razlik, treba pa je poudariti, da so pri vseh primerjavah bile vsebnosti višje v skupini B.

V drugem delu naloge smo želeli primerjati rezultate, ki smo jih dobili, s podatki iz drugih držav. Upoštevati smo le rezultate iz skupine B (kontrolna skupina). Najprej smo primerjali vsebnost skupnih *trans* maščobnih kislin z različnimi državami po svetu; v to skupino smo zajeli tri evropske države (Nemčija, Poljska in Slovenija), dve ameriški (Brazilija in ZDA), dve afriški (Nigerija in Sudan) in tri azijske države (Iran, Kitajska in Kuvajt). Pri primerjavi rezultatov skupnih *trans* maščobnih kislin v različnih državah sveta smo prišli do zaključka, da se vsebnosti v mleku slovenskih mater uvrščajo v neko sredino (2,60 ut %). Države, kjer je povprečna skupna vsebnost *trans* maščobnih kislin v mleku doječih mater nižja kot pri materah v Sloveniji so: Kitajska (0,88 ut %), Nigerija (1,03 ut %) in Sudan (0,61 ut %). Države, ki imajo višje deleže *trans* maščobnih kislin v mleku doječih

mater so: Iran (11,3 ut %), Nemčija (4,4 ut %) in ZDA (7,0 ut %). Države s katerimi smo lahko primerjali rezultate *trans* maščobnih kislin naših vzorcev so Brazilija (2,36 ut %), Kuvajt (2,80 ut %) in Poljska (2,80 ut %).

Nazadnje smo želeli še poglobiti študijo in primerjati *trans* izomere, ki smo jih mi določili z izomeri iz drugih držav. Primerjali smo s podatki iz Nemčije in ZDA, ker samo pri teh dveh državah smo zasledili dovolj podrobne podatke s katerimi smo lahko primerjali naše.

Najobilnejši izomer izmed vsemi *trans* izomeri v treh državah je izomer C18:1 t10. Tega izomera so v mleku ameriških mater določili 1,5 ut %, kar je trikrat več kot v mleku slovenskih mater (0,45 ut %) in petkrat več kot v mleku nemških mater (0,32 ut %). Zanimalo nas je tudi kakšni so deleži vakuenske in elaidinske kisline v Nemčiji in ZDA primerjavi z našimi rezultati. V vseh treh primerih se je izkazalo, da so deleži vakuenske kisline višji od deležev elaidinske v posamezni državi. To kaže na višjo porabo živil, kjer so *trans* maščobne kisline naravno prisotne (meso, mleko). Zanimivo pa je, da mleko slovenskih mater vsebuje približno polovico vakuenske kisline (0,58 ut %) v primerjavi z mlekom ameriških mater (1,1 ut %). Po drugi strani pa je zaskrbljujoče, da je delež elaidinske kisline v mleku slovenskih mater (0,51 ut %) primerljiv z deležem vakuenske kisline. Pri ostalih dveh državah pa je delež elaidinske kisline skoraj polovičen v primerjavi z deležem vakuenske kisline (ZDA- 0,65 ut %; Nemčija 0,37 ut %). Zaradi tega lahko sklepamo, da doječe matere v Sloveniji uživajo poleg *trans* maščobnih kislin, ki so naravno prisotne v izdelkih skoraj enake količine *trans* maščobnih kislin, ki izvirajo iz industrijsko pridobljenih živil.

Poleg tega smo primerjali tudi deleže CLA-ja (C18:2 c9,t11) v mleku. Tudi tukaj so bile količine večje v mleku ameriških mater (0,41 ut %), kar je pozitiven podatek glede na zdravilne učinke, ki jih lahko CLA ima. Delež v mleku nemških mater je bil primerljiv (0,40 ut %), medtem ko pa v mleku slovenskih mater smo izmerili 0,27 ut %, kar je za približno 40 % nižja vrednost kot v mleku ameriških mater.

Ostalih *trans* izomerov je v vseh treh primerih bilo razmeroma malo. Velja samo omeniti, da je delež *trans* izomera C18:2 tt v mleku ameriških mater 0,91 ut %, kar je visoka vrednost, ter da smo zasledili v mleku nemških mater visoki delež kratkoverižne *trans* maščobne kisline C16:1 (0,50 ut %).

Iz celotne slike lahko sklepamo, da je *trans* maščobno-kislinska sestava materinega mleka v Sloveniji nižja v primerjavi z drugimi zahodnimi državami, čeprav še vedno nad dopustno mejo. Zaradi tega bi morale doječe matere (tako v Sloveniji kot v drugih državah) polagati večjo pozornost na količino in še posebno na kakovost maščob, ki jih vsakodnevno zaužijejo, da bi lahko znižale delež *trans* maščobnih kislin v mleku in izboljšale maščobno-kislinsko sestavo mleka. Prvo navodilo je popolno izogibanje hidrogeniranim maščobam, ki se v velikih količinah nahajajo v industrijsko proizvedeni hrani (piškoti, krekerji, prigrizki, popovke itd.). Polagati večjo pozornost na rastlinska olja (olivno olj, olje oljne repice,sojino olje), ki niso termično obdelana ali hidrogenirana, ter uživati raje morskoro hrano in ribja olja. Zmerno uživati ostale živalske maščobe in ob maščobah po možnosti uživati kompleksne ogljikove hidrate in vlaknino, ki pripomorejo k boljši prebavi maščob.

V naši delovni hipotezi smo predpostavili, da bo delež *trans* maščobnih kislin v humanem mleku ameriških mater višji kot v naših vzorcih. To smo dokazali in s tem hipotezo potrdili. Razlog za to naj bi bil v načinu prehranjevanja, ki prednjači na tem delu Sveta in sicer je to poceni hrana, ki z vidika kakovosti vsebuje veliko nezdravih maščob med

katerimi so tudi *trans* maščobne kisline.

Kakovost mleka nemških mater pa je primerljiva s kakovostjo mleka slovenskih mater. To potrjuje našo delovno hipotezo, pri kateri smo predpostavili, da bo delež *trans* maščobnih kislin v mleku slovenskih mater primerljiv z deležem mleka mater iz druge zahodnoevropske države oz. nemških mater.



## 7 ZAHVALA

- Mojim staršem, ki so mi stali ob strani tekom celega študija in mi omogočili, da sem danes tukaj
- Ostalim članom moje družine, ki so vedno bili prisotni v mojem življenju ( nona, teta, stric, Jan, Niko)
- Vsem sošolcem, prijateljem in kolegom, ki so mi pomagali in me podpirali v vseh teh letih ( Beno, Blaž, Etjen, Eva, Gregor, Jimena, Lujan, Maja, Medja, Nadja, Nino, Pablo, Peter, Roby, Samo, Sašo, Širca, Tomaž, Vania, Vasilij, Vid, Urška....in še in še)
- Posebno zahvalo za Belén, ki mi je v obdobju pred diplomom pomagala, me motivirala in potrpeala
- Vsem profesorjem in strokovnjakom, ki so mi nudili pomoč in nasvete za realizacijo diplomskega dela
- Nenazadnje.....TEBI VERONIKA!

## 8 VIRI

- AHA. 2009. *Trans* fatty acids. Dallas, AHA- American Heart Association (januar 2009)  
[www.americanheart.org](http://www.americanheart.org) (januar 2009): 1 str.
- Albers M. J., Harnack L. J., Steffen L. M. Jacobs D. R. 2006. Marketplace survey of *trans* fatty acid content of margarines and butters, cookies and snack cakes and savoury snacks. *Journal of the American Dietetic Association*, 108: 367–370
- Boatella J., Afecas M., Codony R., Gibert A., Rivero M., Tormo R., Infante D, Sanchez-Valverde F. 1993. *Trans* fatty acids content of human milk in Spain. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 16: 432–434
- Cattaneo A., Gut-Gumberger M.. 2008. The new WHO child growth standards: possible effects on exclusive breastfeeding in the first six months. *Breastfeeding Review*, 16 ,3: 9-12
- Chappel J. E., Clandinin M. T., Kearney-Volpe C. 1985. *Trans* fatty acids in human milk lipids: influence of maternal diet and weight loss. *American Journal of Clinical Nutrition*, 42:49–56
- Chen S., Chen K., Lien H. 1999. Determination of fatty acids in vegetable oil by reversed-phase liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography*, 849: 357–369
- Chen Z. Y., Kwan K. Y., Tong K. K., Ratnayake W. M. N., Li H. Q., Leung S. S. F. 1997. Breast milk fatty acid composition: A comparative study between Hong Kong and Chongqing Chinese. *Lipids*, 32, 10: 1061–1067
- Craig-Schmidt M. C., Weete J., Faircloth S. A., Wickwire M. A., Livant E. J. 1984. The effect of hydrogenated fat in the diet of nursing mothers on lipid composition and prostaglandin content of human milk. *American Journal of Clinical Nutrition*, 39:778–786
- Decsi T., Olah Sz., Molnar S., Burus I. 2000. Fatty acid composition of human milk in Hungary. *Acta Paediatrica*, 89:1394–1395
- Demmelair H, Sauerwald T., Fidler N., Baumheuer M., Koletzko B. 2001. Polyunsaturated fatty acids metabolism during lactation. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 88: 184-189
- Denmark's *trans* fat law: Executive order no. 160 of 11 march 2003 on the content of *trans* fatty acids in oils and fats etc, english translation. 2003. Copenhagen. Department of Chemistry, Danish Institute for Food and Veterinary Research  
[www.tfx.org.uk](http://www.tfx.org.uk) (marec 2003): 1 str.
- Dlouhý P., Tvrzická E., Stanková B., Buchtíkova M., Pokorný R., Wiererova O., Bílkova D., Rambousková J., Anđel M. 2002. *Trans* fatty acids in subcutaneous fat of pregnant

women and in human milk in the Czech Republic. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 967: 544–547

Ellias S. L., Innis S. M. 2001. Infant plasma *trans*, n-6 and n-3 fatty acids and conjugated linoleic acids are related to maternal plasma fatty acids, length of gestation and birth weight and length. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73: 807–814

Fidler M.N., Salobir K., Stibilj V. 2000. Fatty acid composition of human milk in different regions of Slovenia. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 44: 187-193

Food and Drugs Administration. 2003. Food labelling: *trans* fatty acids in nutritional labelling, nutrient content claims and health claims. Final rule. *Federal Register*, 68, 133: 41433-41506

Gama M. A. S., Garnsworthy P. C., Griinari J. M., Leme P. R., Rodriguez P. H. M., Souza L.W.O., Lanna D. P. D. 2007. Diet-induced milk fat depression: Association with changes in milk fatty acid composition and fluidity of milk fat. *Livestock Science*, 115: 319–33

Glew R. H., Herbein J. H., Moya M. H., Valdez J. M., Obadofin M., Wark W. A., VanderJagt D. J. 2006. *Trans* fatty acids and conjugated linoleic acids in the milk of urban woman and nomadic Fulani of northern Nigeria. *Clinica Chimica Acta*, 367: 48–54

Hayat L., Al-Sughayer M., Afzal M. 1999. A comparative study of fatty acids in human breast milk substitutes in Kuwait. *Nutrition Research*, 19,6: 827–841

Hayat L., Al-Sughayer M. A., Afzal M. 1999. Fatty acid composition of human milk in Kuwaiti mothers. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 124: 261–267

Innis S. M. 1999. Maternal diet, length of gestation and long\_chain polyunsaturated fatty acid status of infants at birth. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70: 181–182

Innis S. M. 2000. Essential fatty acids in infant nutrition: lessons and limitations from animal studies in relation to studies on infant fatty acid requirements. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71, Supl. S: 238S–244S

Innis S. M., Elias S. L. 2003. Intakes of essential n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids among pregnant Canadian women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77: 473–478

Innis S. M., Gilley J., Werker J. 2001. Are human milk long-chain polyunsaturated fatty acids related to visual and neural development in breast-fed term infants? *Journal of Pediatrics*, 139, 4: 532–538

Innis S. M., King D.J. 1999. *Trans* fatty acids in human milk are inversely associated with concentrations of essential all-cis n-6 and n-3 fatty acids and determine *trans*, but not n-6 and n-3, fatty acids in plasma lipids of breast-fed infants. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70:383–390

Innis S. M., Uauy R. 2003. Mechanisms of action of LCPUFA effects on infant growth and neurodevelopment: perinatal biochemistry and physiology of LCPUFA discussion. *Journal of Pediatrics*, 143, Supl. S: S96–S109

Jahreis G., Fritsche J., Mockel P., Schöne F., Moller U., Steinhart H. 1999. The potential anticarcinogenic conjugated linoleic acid, *cis*-9, *trans*-11 C18:2 in milk of different species: cow, goat, ewe, sow, mare, woman. *Nutritional Research*, 19, 10: 1541–1549

Jensen R. G., Ferris A. M., Lammi-Keffe C. J. 1992. Lipids in human milk and infant formulas. *Annual Review of Nutrition*, 12: 417-441

Jensen R. G., Ferris A. M., Lammi-Keffe C. J., Henderson R. A. 1989. Lipids of bovine and human milk: a comparison. *Journal of Dairy Science*, 73: 223–240

Jensen R. G., Hagerty M., McMahon K. E. 1978. Lipids of human milk and infant formulas: a review. *American Journal of Clinical Nutrition*, 31: 990–1016

Katan M. B., Zock P. L., Mensink R. P. 1994. Effects of fats and fatty acids on blood lipids in humans: an overview. *American Journal of Clinical Nutrition*, 60,6, Supl. S: 1017S–1022S

Koletzko B. 2001. Fatty acids and early human growth. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73:671–672

Koletzko B., Abiodun P. O. 1992. The fatty acid composition of human milk in Europe and Africa. *Journal of Pediatrics*, 120, Part 2 Supl. S: S62–S70

Koletzko B., Mvotzek M., Bremer H. J. 1988. Fatty acid composition of mature human milk in Germany. *American Journal of Clinical Nutrition*, 47: 954–959

Koletzko B., Bremer H. J. 1989. Fat content and fatty acid composition of infant formulas. *Acta Paediatrica*, 78: 513–521

Koletzko B., Thiel I., Abiodun P. O. 1991. Fatty acids composition of mature human milk in Nigeria. *Zeitschrift fuer Ernährungswissenschaft*, 30:289–297

Larqué E., Zamora S., Gil A. 2001. Dietary *trans* fatty acids in early life: a review. *Early Human Development*, 65, Supl. S: S 31–S 41

Laryea M. D., Leichsenring M., Mrotzek M., El-Amin E. O., El Kharib A. O., Ahmed H. M., Bremer H. J. 1995. Fatty acid composition of the well-nourished Sudanese women. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 46: 205–214

Levart A. 2008. Kromatografske metode. Interno gradivo. Domžale, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Lobb D.K., Dorrington J. 1992. Intraovarian regulation of follicular development. *Animal Reproduction Science*, 28: 343-354

Luna P. Juarez M., de la Fuente M. A. 2006. Conjugated linoleic acid content and isomer distribution during ripening in three varieties of cheeses protected with designation of origin. *Food Chemistry*, 103: 1465–1472

Lutter C. K. 2005. Breast feeding. V: *Encyclopedia of human nutrition*. Vol. 1. 2<sup>nd</sup> ed. Caballero B., Allen L., Prentice A., (eds.). Amsterdam, Elsevier/Academic Press: 232–236

Mahan L. K., Escott-Stump S. 2000. *Food, nutrition & diet therapy*. 10<sup>th</sup> ed. Philadelphia, W.B.Saunders Company: 185–188

Martin J.C., Bougnoux P., Antoine J.M., Lanson M., Couet C. 1993. Triacylglycerol structure of human colostrum and mature milk. *Lipids*, 28, 7: 637-643

Marín M. C., Sanjurjo A., Rodrigo M. A., de Alianiz M. J. T. 2005. Long-chain polyunsaturated fatty acids in breast milk in La Plata, Argentina: Relationship with maternal nutritional status. *Prostaglandines, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 73: 355–360

Mensink R.P., Zock P.L., Kester A.D., Katan M.B. 2003. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and lipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77, 5: 1146-1155

Mojska H., Socha P., Socha J., Soplinska E., Jaroszevska-Balicka W., Szponar L. 2003. *Trans* fatty acids in human milk in Poland and their association with breastfeeding mothers diet. *Acta Paediatrica*, 92:1381–1387

Mosley E. E., McGuire M. K., Williams J. E., McGuire M. A. 2006. Cis-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid is synthesized from vaccenic acid in lactating women. *Journal of Nutrition*, 136: 2297–2301

Mosley E. E., Wright A. L., McGuire M. K., McGuire M. A. 2005. *Trans* fatty acids in milk produced by women in the United States. *American Journal of Clinical Nutrition*, 82:1292–1297

Mozaffaian D., Katan M.B., Ascherio A., Stampfer M.J., Willett W.C. 2006. *Trans* fatty acids and cardiovascular disease. *New England Journal of Medicine*, 354, 15: 1601-1613

Mozzon M., Frega N.G., Fronte B., Tocchini M. 2002. Effect of dietary fish oil supplements on levels of n-3 polyunsaturated fatty acids, *trans* acids and conjugated linoleic acid in ewe milk. *Food Technology and Biotechnology*, 40, 3: 213-219

Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the commission related to the presence of *trans* fatty acids in food and effect on human health of the consumption of *trans* fatty acids. 2004. *EFSA Journal*, 81: 1-49

PAHO. 2007. Nutrition expert call on food industry to support “*Trans* fat free Americas“. Washington, PAHO- Pan American Health Organisation (september 2007)  
[www.new.paho.org](http://www.new.paho.org) (september 2007)

Precht D., Molckentin J. 1999. C18:1, C18:2 and C18:3 *trans* and *cis* fatty acids isomers including conjugated *cis*  $\delta$ 9, *trans*  $\delta$ 11 linoleic acid (CLA) as well as total fat composition of German human milk lipids. *Nahrung*, 43, 4: 233–244

Referenčne vrednosti za vnos hranil. 2004. Ljubljana, Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije: 215 str.

Rolfes S. R., Pinna K., Whitney E. 2006. Understanding normal and clinical nutrition. 7<sup>th</sup> ed. Belmont, Thomson/Wadsworth: 511–515

Sadler M. J. 2005. *Trans* fatty acids. V: Encyclopedia of human nutrition. Vol. 4. 2<sup>nd</sup> ed. Caballero B., Allen L., Prentice A. (eds.). Amsterdam, Elsevier/Academic Press: 230–236

Sala-Vila A., Castellote A. I., Rodriguez-Palmero M., Campoy C., Lopez-Sabater C. 2005. Lipid composition in human breast milk from Granada (Spain): Changes during lactation. *Nutrition*, 21: 467–473

Salminen I., Mutanen M., Jauhiainen M., Aro A. 1998. Dietary *trans* fatty acids increase conjugated linoleic acid levels in human serum. *Nutritional Biochemistry*, 9:93–98

SAS Software. Version 8.01. 1999. Cary, SAS Institute Inc.: Software

Seppanen-Laakso T., Laakso I., Backlund P., Vanhanen H., Viikari J. 1996. Elaidic and *trans*-vaccenic acids in plasma phospholipids as indicators of dietary intake of 18:1 *trans* fatty acids. *Journal of Chromatography B*, 687: 371–378

Serra G., Marletta A., Bonacci W., Campone F., Bertini I., Lantieri P.B., Risso D., Ciangherotti S. 1997. Fatty acid composition of human milk in Italy. *Biology of the Neonate*, 72: 1–8

Silva M. H. L., Silva M. T. C., Brandão S. C. C., Gomes J. C., Peternelli L. A., Franceschini S. C. C. 2004. Fatty acid composition of mature breast milk in Brazilian women. *Food Chemistry*, 93: 297–303

Smolin L. A., Grosvenor M.B. 2008. Nutrition: science and applications. Holoken, John Wiley&Sons: 577–586

Souci S.W., Fachman W., Kraut H. 2008. Food composition and nutrition tables. 7<sup>th</sup> revised and completed ed. Stuttgart, Medpharm Scientific Publishers: 6–8

Spear M.L., Hamosh M., Bitman J., Wood D.L. 1992. Milk and blood fatty acid composition during two lactations in the same woman. *American Journal of Clinical*

Nutrition, 56, 1: 65-70

Stanfield P. S., Hui Y. H. 1997. Nutrition and diet therapy. 3<sup>rd</sup> ed. Boston, London, Singapore, Jones and Bartlett Publisher: 142–145

Van Tol A., Zock L. P., Van Gent T., Scheek L. M., Katan B. M. 1995. Dietary *trans* fatty acids increase serum cholesteryl ester transfer protein activity in man. Atherosclerosis, 115: 129–134

Vidmar G. 2007. *Trans* maščobne kisline. Cenim.se (maj 2007)  
[www.cenim.se](http://www.cenim.se) (maj 2007)

TACD. 2005. Resolution on *trans* fatty acids. Global strategy on diet, physical activity and health. V: 7<sup>th</sup> Annual Meeting of the *Trans* Atlantic Consumer Dialogue April 16 – 19, 2005, Washington D.C. Washington D.C., TACD – *Trans* Atlantic Consumer Dialogue  
[www.tacd.org](http://www.tacd.org) (marec 2005) : 7 str.

Xiang M. Harbige L. S., Zetterstrom R. 2005. Long-chain polyunsaturated fatty acids in Chinese and Swedish mothers: Diet, breast milk and infant growth. Acta Paediatrica, 94: 1543–1549

Zock P. L., Katan M. B. 1996. Butter, margarine and serum lipoproteins. Atherosclerosis, 131: 7–16

ZPS. 2004. Hrana in pijača-VIP-ov test: *trans* maščobne kisline v izdelkih. Ljubljana, ZPS – Zveza potrošnikov Slovenije  
[www.zps.si](http://www.zps.si) (september 2007): 1 str.