

Dorota Martysiak-Żurowska, Łukasz Drapała
Politechnika Gdańska, Wydział Chemiczny
Katedra Chemii, Technologii i Biotechnologii Żywności
80-233 Gdańsk, ul. G. Narutowicza 11/12

STRUKTURA TRIACYLOGLICEROLI OLEJÓW Z NASION TRUSKAWKI, MALINY I CZARNEJ PORZECZKI

Streszczenie/Summary

Przedmiotem badań było określenie struktury triacylogliceroli olejów z nasion owoców roślin jadalnych: maliny, truskawki i czarnej porzeczki przy użyciu zmodyfikowanej metody Brockerhoffa. W TAG badanych olejów pozycje zewnętrzne *sn-1* i *sn-3* zajmują głównie kwasy nasycone: C16:0 i C18:0 oraz kwas C18:1(n-7) natomiast przeważająca ilość kwasu linolowego LA zawartego w badanych olejach zajmuje pozycję *sn-2*. Udział procentowy pozostałych KT w pozycjach *sn-2* i *sn-1,3* TAG badanych olejów jest bardziej zróżnicowany. Olej z nasion malin cechuje praktycznie statystyczne rozmieszczenie kwasu oleinowego między pozycje *sn-2* i *sn-1,3* TAG i przewaga udziału procentowego kwasu alfa-linolenowego ALA w pozycjach zewnętrznych (72,8%). Natomiast w oleju z nasion truskawki kwas oleinowy preferuje pozycję *sn-2* TAG (38,2%). W TAG tego oleju ALA również wykazuje tendencję obsadzania pozycji *sn-1,3* (ok.71%). W oleju z nasion czarnej porzeczki kwas oleinowy okupuje głównie pozycje wewnętrzną *sn-2* (47,5%), natomiast ALA dominuje w pozycjach *sn-1,3* (ok.84%). Występujący w oleju z nasion czarnej porzeczki kwas gamma-linolenowy GLA wykazuje tendencje obsadzania pozycji wewnętrznej TAG (37,4%), natomiast kwas stearidonowy STA preferuje pozycje zewnętrzne TAG (72,3%).

The object of this study was to determine the structure of triacylglycerols in oils from the seeds of fruit: raspberries, strawberries and blackcurrants with a modified Brockerhoffa method. In the tested oils external positions *sn-1* and *sn-3* of TAGs are mainly occupied by saturated acids: C16: 0 and C18: 0 or by C18: 1 (n-7). The large amount of linoleic acid LA contained in the oils occupied position *sn -2*. Percentage of the remaining FA in the positions *sn-2* and *sn-1, 3* TAG in oils from the seeds is more diversified. Raspberry seed oil is characterized by almost equally distribution of oleic acid between the position *sn-2* and *sn-1, 3* and predominance percentage alpha-linolenic acid ALA in the external positions (72.8%). In a strawberry seed oil oleic acid prefers *sn-2* position of TAG (38.2%). ALA also tends to occupied position *sn-1, 3* (ok.71%). In oil from the seeds of black currant oleic acid mainly occupies position *sn-2* (47.5%) whereas ALA prefers positions *sn-1, 3* (ok.84%). Found in black currant seed oil gamma-linolenic acid GLA tends filling positions inside TAG (37.4%), while the stearidonic acid STA prefers external positions (72.3%).

Wstęp

Oleje roślinne jako związki chemiczne to ciekłe tłuszcze będące mieszaniną triacylogliceroli TAG (ok. 99% masy) oraz frakcji nieacyloglicerolowej. TAG olejów roślinnych posiadają w swoim składzie głównie nienasycone kwasy tłuszczowe, w tym niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe NNKT. Właściwości chemiczne, fizyczne i funkcjonalne tłuszczów uwarunkowane są nie tylko składem kwasów tłuszczowych (KT) ale również ich rozmieszczeniem w cząsteczce triacylogliceroli. KT może zajmować pozycje zewnętrzne *sn-1* i *sn-3* lub pozycję wewnętrzną *sn-2*. W tłuszczach roślinnych występuje zwykle od 5 do 15 różnych KT tak więc liczba możliwych kombinacji położenia KT w TAG wynosi od 125 do 3375 (Drozdowski 1996). W większości naturalnych tłuszczów liczba różnych TAG osiąga 50 – 80% teoretycznie możliwych kombinacji (Drozdowski 1996).

Pozycje *sn-1,2,3* nie są równocenne i istnieją pewne preferencje rozmieszczenia kwasów tłuszczowych w TAG w zależności od rodzaju tłuszczu. W olejach roślinnych

zewnątrzne pozycje *sn-1* i *sn-3* są prawie równocenne i zajmują je głównie kwasy nasycone. W pozycji wewnętrznej występują głównie kwasy nienasycone, osiemnastowęglowe. W olejach rybich pozycje *sn-1* i *sn-3* zajmują w przeważającej części kwasy monoenoowe, natomiast w pozycji *sn-2* dominują nasycone KT C14:0 (mirystynowy) i C16:0 (palmitynowy) oraz polienowe KT: C20:5 (EPA) i C22:6 (DHA). W przypadku tłuszczów zwierzęcych zależności nie są tak jednoznaczne (Drozdowski 1996). Położenie kwasów tłuszczowych w cząsteczce TAG istotnie wpływa na właściwości fizykochemiczne tłuszczów a więc i na ich właściwości użytkowe takie jak temperatura topnienia, zawartość fazy stałej, strukturę krystaliczną, szybkość utleniania i polimeryzacji (Drozdowski 1996, Ledóchowska i Wilczyńska 1998, Tynek i Ledóchowska 2003). Aktywność biologiczna olejów roślinnych nie zawsze jest współmierna do zawartości w nich aktywnie biologicznych KT. Równie istotne jest w jakim położeniu w cząsteczce triacylogliceroli znajduje się wielonienasycony kwas. Np. na syntezę prostaglandyn w organizmie ma wpływ szybkość syntezy w organizmie kwasu γ -linolenowego GLA z kwasu linolenowego LA. Aby „wspomóc” organizm GLA można przyjmować bezpośrednio, jako suplement diety. Wykazano, że szybkość syntezy prostaglandyn przy podawaniu oleju z wiesiołka zawierającego ok. 9,5% GLA jest ok. 10-krotnie szybsza niż przy podawaniu oleju z ogórecznika lekarskiego, który zawiera nawet do 23% GLA (Jenkins i wsp. 1988). Aktywność biologiczna tych olejów wynika więc nie tyle z zawartości GLA co z jego położenia w TAG - oleje te znacząco różnią się rozmieszczeniem GLA w cząsteczce TAG (Redden i wsp. 1995). Położenie acyli w cząsteczce TAG ma również duże znaczenie z punktu widzenia żywieniowego. Lipaza trzustkowa obecna w organizmie odszczepia KT z pozycji zewnętrznych, natomiast *sn-2* monoacyloglicerole wchłaniane są w stanie niezmienionym (Ziemiański i Budzyńska-Topolowska 1991, Hunter 2001).

W wielu działach przetwórstwa spożywczego wykorzystuje się owoce jagodowe (maliny, borówki, żurawina, porzeczki), których nasiona stanowią produkt uboczny. Pomimo zwykle stosunkowo niewielkiej zawartości oleju w tych nasionach; na poziomie 5 – 20% suchej masy nasion (Helbig i wsp. 2008, Oomah 2000, Tabela 1) oraz trudności w jego wydobyciu (małe rozmiary ziaren, twarde łuski) występuje co raz większe zainteresowanie odzyskiwaniem oleju. Ma to związek nie tylko z możliwością zagospodarowania odpadów. Oleje z nasion roślin jadalnych w wielu przypadkach posiadają specyficzny skład, w tym wysoką zawartość aktywnych biologicznie KT (Helbig i wsp. 2008) co pozwala wykorzystać je np. przy produkcji kosmetyków (oleje z nasion truskawek, czarnej porzeczki, melona).

Celem pracy było zbadanie struktury TAG olejów z nasion truskawki, maliny i czarnej porzeczki metodą enzymatyczną z wykorzystaniem lipazy trzustkowej, regiospecyficznego enzymu zdolnego do odszczepiania KT z pozycji *sn-1* i *sn-3* TAG.

Materiały i metody

Materiał do badań stanowiły nasiona wyizolowane z mrożonych owoców truskawki (*Fragaria ananasa*), czarnej porzeczki (*Ribes nigrum*) i maliny zwyczajnej (*Rubus idaeus*), dostępnych w sprzedaży detalicznej. Oznaczanie wilgotności nasion wykonano wg normy PN-EN ISO 662:2001 (2001). Olej z nasion wydobywano laboratoryjnie zmodyfikowaną metodą Folch'a wg Christie (Christie 1993). Oznaczono kwasowość (PN-EN 660:2009), liczbę jodową (PN-EN ISO 3961:2006) i liczbę



nadtlenkową (PN-EN ISO 3960:2009) uzyskanych olejów. Charakterystykę materiału do badań przedstawiono w tabeli (Tabela 1).

Tabela 1

Ogólna charakterystyka surowców.

	Malina	Truskawka	Czarna porzeczka
Zawartość nasion w owocach, $x \pm SD$ [%]	5,79 \pm 0,28	1,52 \pm 0,08	4,98 \pm 0,20
Wilgotność nasion, $x \pm SD$ [%]	23,50 \pm 0,69	31,28 \pm 0,91	27,00 \pm 0,78
Średnia zawartość tłuszczu w suchej masie nasion, $x \pm SD$ [%]	16,81 \pm 0,48	19,89 \pm 0,40	18,56 \pm 0,37
LK, $x \pm SD$	1,5 \pm 0,05	1,7 \pm 0,06	1,6 \pm 0,05
LJ, $x \pm SD$	175,77 \pm 4,25	174,59 \pm 3,79	164,01 \pm 3,55
LOO, $x \pm SD$ [milirówn. akt. tlenu/kg]	1,8 \pm 0,05	2,2 \pm 0,06	1,2 \pm 0,04

Strukturę TAG wyizolowanych tłuszczów oznaczono zmodyfikowaną metodą Brockerhoffa (Brockerhoff 1971) z modyfikacjami Drozdowskiego (Drozdowski 1974, Hazuka i in., 2003) z użyciem lipazy trzustkowej (Sigma-Aldrich).

W oparciu o wyniki składu KT w TAG wyjściowych oraz składu tych KT frakcji *sn-2* MAG zawartości procentowe poszczególnych KT w pozycjach zewnętrznych TAG wyliczono korzystając ze wzoru:

$$\text{Zawartość \% KT w pozycji } sn-1,3 = [3 (\% \text{ KT w TAG}) - \% \text{ KT w } sn-2 \text{ MAG}] / 2$$

gdzie:

% KT w *sn-2* MAG - % danego kwasu w pozycji *sn-2*,

% KT w TAG - % danego kwasu w TAG wyjściowych

Udział procentowy danego KT w pozycji *sn-2* wyliczono na podstawie składu kwasów tłuszczowych TAG wyjściowych oraz składu KT występujących w poz. *sn-2* MAG przy założeniu równocенności pozycji *sn-1* i *sn-3* wg wzoru Colemana (Hazuka i wsp. 2003):

$$\text{Udział \% KT w poz. } sn-2 = \% \text{ KT w } sn-2 \text{ MAG} / 3 (\% \text{ KT w TAG}) \times 100\%$$

$$\text{Udział \% KT w połączonych pozycjach } sn-1,3 = 100\% - \text{udział \% KT w poz. } sn-2$$

Kwasy tłuszczowe z TAG wchodzących w skład badanych olejów oraz z MAG powstałych w efekcie hydrolizy badanych olejów przeprowadzono w estry metylowe kwasów tłuszczowych EMKT zgodnie z normą PN-EN ISO 5509:2000 (2000).

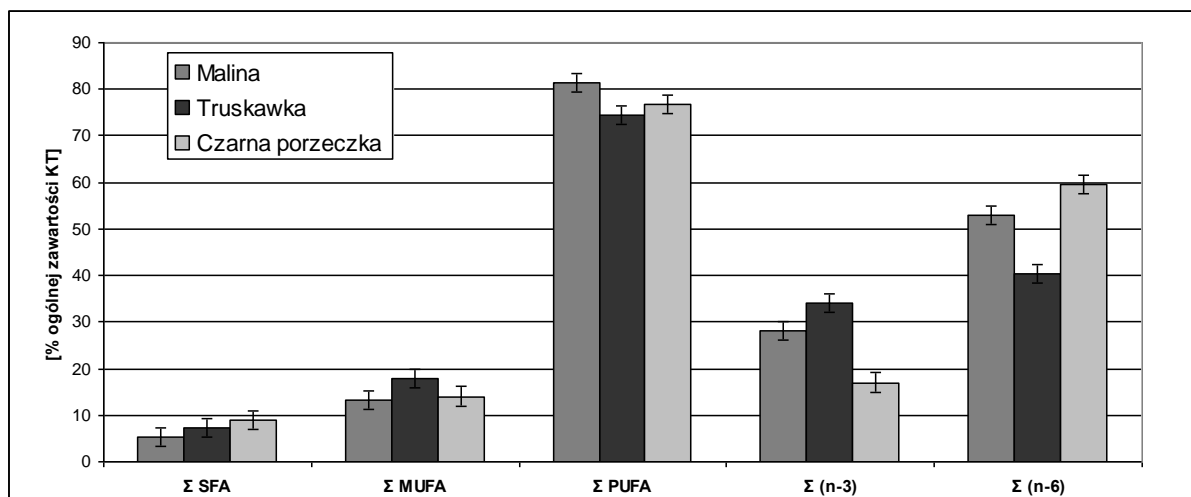
Skład KT badanych tłuszczów oznaczano metodą wysokosprawnej chromatografii gazowej z użyciem chromatografu gazowego Hewlett Packard. Rozdział KT wg długości łańcucha, stopnia nienasyconienia i położenia wiązania nienasyconego przeprowadzono na kolumnie RTX 2330 o długości 100m i średnicy wewnętrznej 0,25mm, z osadzoną polarną fazą ciekłą grubości 0,2 μ m. Temperatura kolumny wynosiła 180°C, dozownika i

detektora FID 250°C. Identyfikacji poszczególnych EMKT dokonano poprzez porównanie względnych czasów retencji analitów i składników mieszanin wzorcowych EMKT - Supelco 37 Component FAME mix (Bellefonte, Pennsylvania, USA), Larodan Fine Chemicals (Malmö, Sweden) (Martysiak-Żurowska 2008). Procentowy skład kwasów tłuszczowych obliczono przy użyciu programu ChemStation.

Wyniki i ich omówienie

Udział masy nasion w masie całego owocu jest charakterystyczną cechą danej rośliny. Dane literaturowe wskazują, że jest to również cecha odmian rośliny (Johansson i wsp. 2000). Z pośród badanych roślin najmniejszy udział masy nasion w masie owocu występuje w truskawkach – jedynie 1,52%. Zawartość tłuszczu w suchej masie nasion wynosiła od 16,8% w przypadku maliny, do blisko 20% w nasionach truskawki (Tabela 1).

Główne tendencje w składzie KT oleju są cechą charakterystyczną danej rośliny, jednak zawartość poszczególnych KT może zmieniać się w pewnym zakresie w przypadku odmian rośliny. Ma to również związek z warunkami, w jakich roślina wzrasta m.in. z temperaturą (Oomah i wsp. 2000, Parry i wsp. 2005). Stwierdzono, że oleje z nasion truskawki, maliny i czarnej porzeczki charakteryzują się podobnym składem procentowym poszczególnych grup KT (od 5,4 do 9,1 % nasyconych KT oraz od 13,4 do 17,9 monoenowych KT) ze znaczącą przewagą wielonienasyconych KT, które stanowią od 74,5 do 81,3 % ogólnego składu KT (Rysunek 1). Stosunek zawartości KT rodziny n-6 do KT rodziny n-3 wynosi dla oleju z nasion truskawki 1,2; dla oleju z nasion maliny 1,9 a w przypadku oleju z nasion czarnej porzeczki - blisko 3,5.



Rysunek 1. Zawartość poszczególnych grup KT [% ogólnej zawartości KT] - KT nasyconych (SFA), jednonienasyconych (MUFA), wielonienasyconych (PUFA), KT rodziny n-6 i KT rodziny n-3 w oleju z nasion maliny, truskawki i czarnej porzeczki.

Głównym KT występującym w badanych olejach jest kwas linolowy LA, który w oleju z nasion truskawki występuje na poziomie 40 %, w oleju z nasion czarnej porzeczki – 46% a w oleju z nasion malin – blisko 53%. W oleju z nasion maliny występują trzy główne KT: oprócz wspomnianego kwasu linolowego jest to kwas α -linolenowy ALA (około 28,2%) oraz kwas oleinowy (około 12,2%) (tabela 2). Olej ten charakteryzuje się ponad 81% zawartością wielonienasyconych KT, w tym 28,2% KT rodziny n-3. Kwasy:



linolowy, α -linolenowy oraz oleinowy są również głównymi KT oleju z nasion truskawki. Związki aktywne tj. wielonienasycone KT stanowią w tym oleju blisko 74,5%, w tym 34,1% to KT należące do rodziny n-3.

Tabela 2

Skład kwasów tłuszczowych oleju z nasion maliny, truskawki i czarnej porzeczki.

Kwasy tłuszczowe	Malina	Truskawka	Czarna porzeczka
	x \pm SD [%]		
16:0	3,30 \pm 0,06	4,51 \pm 0,06	7,08 \pm 0,06
18:0	1,22 \pm 0,02	1,70 \pm 0,02	1,76 \pm 0,02
20:0	0,58 \pm 0,01	1,12 \pm 0,01	0,22 \pm 0,01
22:0	0,30 \pm 0,05	0,27 \pm 0,05	ns
nasycone KT	5,39	7,32	9,05
15:1	0,26 \pm 0,02	ns	0,11 \pm 0,02
16:1 (n-7)	0,07 \pm 0,01	0,09 \pm 0,01	ns
18:1 (n-9)	12,23 \pm 0,07	17,08 \pm 0,07	13,02 \pm 0,07
18:1 (n-7)	0,81 \pm 0,04	0,72 \pm 0,04	0,93 \pm 0,04
jednonienasycone KT	13,37	17,89	14,06
18:2 (n-6) LA	52,91 \pm 0,11	40,44 \pm 0,11	46,14 \pm 0,11
18:3 (n-6) GLA	ns*	ns	13,40 \pm 0,03
Σ (n-6)	52,91	40,44	59,53
18:3 (n-3) ALA	28,16 \pm 0,06	34,09 \pm 0,06	14,45 \pm 0,06
18:4 (n-3) STA	ns	ns	2,59 \pm 0,05
Σ (n-3)	28,16	34,09	17,04
20:2(n-9)	0,18 \pm 0,03	ns	0,32 \pm 0,03
wielonienasycone KT	81,25	74,53	76,89

* ns – nie stwierdzono

Na szczególną uwagę zasługuje olej z nasion czarnej porzeczki, który oprócz wysokiej zawartości kwasu linolowego (ponad 46,1%), α -linolenowy (ponad 14,4%) i oleinowego (ponad 13,0%) zawiera rzadko występujące w świecie roślin, kwasy: stearidonowy (18:4 n-3) i γ -linolenowy C18:3(n-6). Kwas stearidonowy STA zaliczany do metabolitów KT rodziny n-3 występuje również w oleju z nasion żmijowca (Berti i wsp.2007), a kwas γ -linolenowy GLA, metabolit KT rodziny n-6 w oleju z nasion wiesiołka (Redden i wsp. 1995). Olej z nasion czarnej porzeczki również charakteryzuje się wysoką zawartością kwasów wielonienasyconych przy mniejszym jednak, niż w przypadku oleju z nasion truskawki i maliny, udziale KT rodziny n-3 (około 17,0%).

Uzyskane wyniki dotyczące rozmieszczenia głównych KT w pozycjach zewnętrznych *sn*-1 i 3 oraz wewnętrznej *sn*-2 TAG olejów z nasion badanych roślin przedstawiono w tabeli oraz na diagramie.

Tabela 3

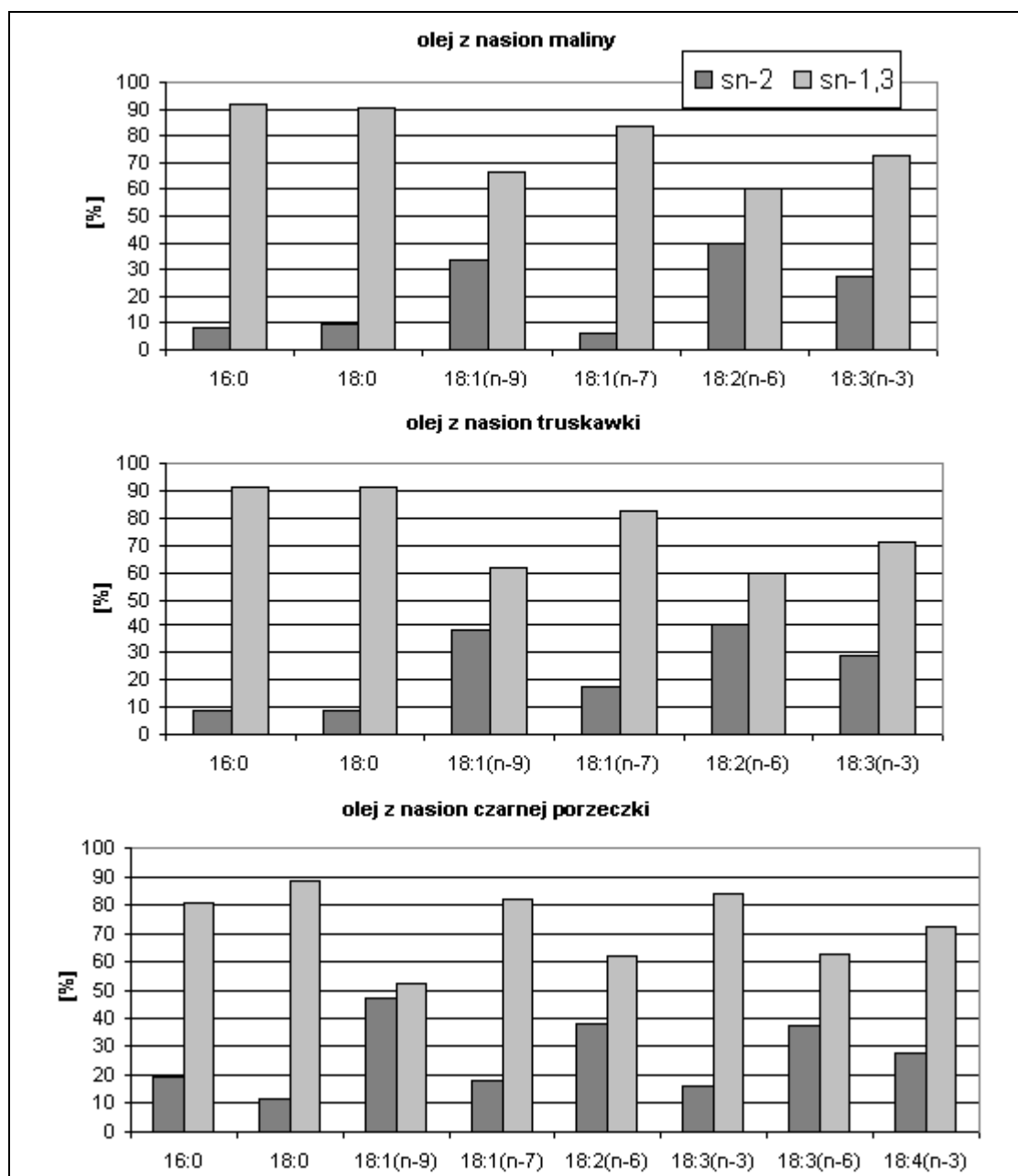
Zawartość poszczególnych KT oraz udział procentowy danego KT w pozycjach zewnętrznych i wewnętrznych badanych olejów z nasion roślin jadalnych.

KT	Zawartość KT [%]		Udział procentowy KT [%]	
	w poz. <i>sn-2</i>	w poz. <i>sn- 1 i</i>	w poz. <i>sn-2</i>	w poz. <i>sn- 1 i</i>
Olej z nasion maliny				
16:0	0,81	4,54	8,3	91,7
18:0	0,35	1,66	9,6	90,4
18:1(n-9)	12,37	12,16	33,7	66,3
18:1(n-7)	0,39	1,02	6,1	83,9
18:2(n-6) LA	63,02	47,86	39,7	60,3
18:3(n-3) ALA	23,08	20,54	27,2	72,8
Olej z nasion truskawki				
16:0	1,14	6,20	8,5	91,5
18:0	0,43	4,12	8,6	91,4
18:1(n-9)	19,56	15,84	38,2	61,8
18:1(n-7)	0,36	0,90	17,2	82,8
18:2(n-6) LA	48,73	36,30	40,2	59,8
18:3(n-3) ALA	29,79	36,24	29,1	70,9
Olej z nasion czarnej porzeczki				
16:0	4,19	8,53	19,5	80,5
18:0	0,60	2,34	11,3	88,7
18:1(n-9)	18,45	10,31	47,5	52,5
18:1(n-7)	0,49	1,15	18,0	82,0
18:2(n-6) LA	52,27	43,08	37,8	62,2
18:3(n-6) GLA	14,84	12,68	37,4	62,6
18:3(n-3) ALA	7,06	18,15	16,3	83,7
18:4(n-3) STA	2,13	2,82	27,7	72,3

Analizując uzyskane wyniki stwierdzono, że pozycje zewnętrzne TAG badanych olejów obsadzone są w zdecydowanej przewadze przez kwasy nasycone – palmitynowy C16:0 i stearynowy C18:0 (od 80,5 do ponad 91%) co jest charakterystyczne dla olejów roślinnych (Drozdowski 1996, Hazuka i wsp.203). Również kwas C18:1(n-7) umiejscowiony jest głównie w pozycjach *sn-1* i *sn-3* TAG. Udział kwasu oleinowego w poszczególnych pozycjach nie jest tak jednoznaczny. W oleju z nasion truskawki i czarnej porzeczki występuje głównie w pozycji wewnętrznej *sn-2*, w oleju z nasion

maliny jego rozkład w cząsteczce TAG jest praktycznie równomierny (33,7 % w pozycji *sn-2* i 66,3% w pozycji *sn-1 i 3*).

Cechą wspólną analizowanych olejów z nasion owoców jadalnych jest fakt, że kwas linolowy LA zajmuje w przeważających proporcjach położenie wewnętrzne w TAG – od 37,8% w oleju z czarnej porzeczki do 40,2 % w oleju z nasion truskawek. W oleju z nasion maliny i truskawki kwas alfa-linolenowy jest praktycznie w równych proporcjach rozmieszczony w poszczególnych pozycjach *sn* TAG, z niewielką tylko przewagą w dążeniu do obsadzania pozycji zewnętrznych (odpowiednio 72,8 i 70,9 %). Natomiast w oleju z nasion czarnej porzeczki 83,7% ALA występuje w pozycjach *sn-1,3*.



Rysunek 2. Udział procentowy KT w pozycji wewnętrznej *sn-2* i zewnętrznych *sn-1,3* cząsteczek TAG olejów z nasion owoców roślin jadalnych.

W wyniku wykonanych analiz określono, że ponad 37% GLA występującego w oleju z nasion czarnej porzeczki umiejscowionych jest w pozycji *sn-2* TAG, natomiast kwas stearidonowy preferuje pozycje zewnętrzne TAG (72,3%). Ogólnie stwierdzić można, że w badanych olejach z nasion roślin jadalnych KT z rodziny (n-6) mają tendencje do obsadzania pozycji wewnętrznej *sn-2* TAG, natomiast KT rodziny (n-3) występują głównie w pozycjach zewnętrznych TAG.

Podsumowanie

Oleje z nasion truskawki, maliny i czarnej porzeczki są niezwykle bogate w wielonienasycone KT, w tym w KT rodziny (n-3) - odpowiednio 28,16%, 34,09% oraz 17,04% ogólnego składu KT. W oleju z nasion czarnej porzeczki występuje kwas stearidonowy C18:4(n-3) oraz kwas gamma-linolenowy C18:3(n-6), KT stanowiące przejściowe metabolity w szlaku syntezy LC PUFA.

Dotychczas brak było danych literaturowych dotyczących rozmieszczenia KT w TAG olejów z nasion maliny, truskawki i czarnej porzeczki. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że w badanych olejach pozycje zewnętrzne *sn-1* i *sn-3* zajmują głównie kwasy nasycone co jest to zgodne z ogólnymi zasadami panującymi w świecie roślinnym. Udział procentowy monoenowych i polienowych KT w pozycji *sn-2* w badanych olejach jest natomiast bardzo zróżnicowany. Kwas C18:1(n-7) zajmuje głównie pozycje *sn-1,3* TAG, kwas oleinowy – w oleju z nasion truskawki i czarnej porzeczki preferuje pozycje wewnętrzną *sn-2*, w oleju z nasion maliny jego rozkład w cząsteczce TAG jest praktycznie równomierny. Wszystkie badane oleje charakteryzują się wysoką zawartością kwasu linolowego, położonego w przeważających proporcjach w pozycji *sn-2* TAG.

W oleju z nasion maliny i truskawki kwas alfa-linolenowy jest praktycznie równomiernie rozmieszczony w poszczególnych pozycjach *sn* TAG, z niewielką tylko przewagą w dążeniu do obsadzania pozycji zewnętrznych. Natomiast w oleju z nasion czarnej porzeczki 83,7% ALA występuje w pozycjach *sn-1,3* TAG.

Przydatność kosmetyczna olejów określana jest na podstawie zawartości w nich biologicznie aktywnych, wysokonienasyconych kwasów tłuszczowych. Największą aktywność kosmetyczną wykazują oleje bogate w kwas linolowy LA i gamma-linolenowy GLA (Ziboh i Chapkin 1987). TAG badanych olejów zawierają co najmniej 40% LA a w oleju z nasion czarnej porzeczki suma zawartości LA i GLA stanowi około 60 % zawartości KT. Ze względu na bardzo wysokie zawartości wielonienasyconych KT, w tym (n-3), można stwierdzić, że oleje z nasion maliny, truskawki oraz czarnej porzeczki mogą być z powodzeniem stosowane nie tylko w przemyśle kosmetycznym ale również jako suplementy diety.

Piśmiennictwo

1. Berti M., Johnson B.L., Dash S., Fischer S., Wilckens R., Hevia F. 2007. Echium: A source of steridonic acid adapted to the Northern great plains in the US. Issues in new crops and new uses J. Janick and A. Whipkey (eds.) ASHS Press, Alexandria, VA.
2. Brockerhoff H., 1965. A stereospecific analysis of triglycerides. J. Lipid Res. 6, 7-9.
3. Christie W.W., 1993. Extraction of lipids from samples. Lipid Technology, 5, 18.
4. Drozdowski B., 1974. Wpływ budowy glicerydów i występujących w nich kwasów tłuszczowych na mechanizm hydrolizy enzymatycznej. Zeszyty Naukowe Politechniki Gdańskiej Nr 217, Chemia XXV, Gdańsk, 3-86



5. Drozdowski B., 1996. Lipidy. w Chemiczne i fizyczne właściwości składników żywności. Pod redakcją: Sikorski Z.E., WNT Warszawa, s.182-186.
6. Hazuka Z., Ledóchowska e., Jurkowska A., 2003. Porównanie metod oznaczania struktury triacylogliceroli z wykorzystaniem lipazy trzustkowej – metody Brokerhoffa i metody ISO. *Tłuszcze Jadalne* 38, 1-2, 31-41.
7. Helbig D., Böhm V., Wagner A., Schubert R., Jahreis G., 2008. Berry seed press residues and their valuable ingredients with special regard to black currant seed press residues, *Food Chemistry*, 111, 1043-1049.
8. Hunter J.E., 2001. Studies on effects of dietary fatty acids as related to their position on triglycerides. *Lipids* 36 (7), 655 – 668.
9. Jenkins D.K., Mitchell J.C., Manku M.S., Horrobin D.F., 1988. Effects of different sources of gamma-linolenic acid on the formation of essential fatty acids and prostanoid metabolites. *Med Sci. Res.* 16, 525-526.
10. Johansson A., Laine T., Linna M - M., Kallio H., 2000. Variability in oil content and fatty acid composition in wild northern currants. *European Food Research and Technology*, 211, 277 – 283.
11. Ledóchowska E., Wilczyńska E., 1998. Comparison of the oxidative stability of chemically interestrified fats. *Feet/Lipid* 100, 343-348.
12. Martysiak-Żurowska D., 2008. Content of odd-numbered carbon fatty acids in the milk of lactating women and in infant formula and follow-up formula. *Acta Sci.Pol., Technol. Aliment.* 7 (2), 75-82.
13. Oomah B. D., Ladet S., Godfrey D. V., Liang J., Girard B., 2000. Characteristics of raspberry (*Rubus ideaus* L.) seed oil. *Food Chemistry*, 69, 187-193.
14. Parry J., Su L., Luther M., Zhou K., Yurawecz M. P., Whittaker P., 2005. Fatty Acid Composition and Antioxidant Properties of Cold-Pressed Marionberry, Boysenberry, Red Raspberry, and Blueberry Seed Oils. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 566-573.
15. PN-EN ISO 3960:2009 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby nadtlenkowej. Jodometryczne (wizualne) oznaczanie punktu końcowego.
16. PN-EN ISO 3961:2006 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby jodowej
17. PN-EN ISO 5509, Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Przygotowanie estrów metylowych kwasów tłuszczowych.
18. PN-EN ISO 660:2009 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie liczby kwasowej i kwasowości.
19. PN-EN ISO 662:2001 Oleje i tłuszcze roślinne oraz zwierzęce. Oznaczanie zawartości wody i substancji lotnych.
20. Redden P.R., Lin X.L., Fahey J., Horrobin D.F. , 1995. Stereospecific analysis of the major triacylglycerol species containing gamma-linolenic acid in Evening Primrose oil and borage oil. *Journal of Chromatography A.* 704 , 99-111.
21. Tynek M., Ledóchowska E., 2003. Zmiana właściwości fizycznych tłuszczu mlecznego oraz jego wysokotopliwej frakcji w wyniku przeestryfikowania olejem słonecznikowym. *Tłuszcze jadalne*, 38 (3-4).
22. Ziboh V.A., Chapkin R.S. , 1987. Biologic significance of polyunsaturated fatty acids in the skin. *Arch Dermatol.* 123(12), 1686-1690.
23. Ziemiański Ś., Budzyńska –Topolowska J., 1991. *Tłuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe.* Wyd. Nauk. PWN, W-wa.

