

RADIX PEREGRA (MÜLLER, 1774) TATLISU SALYANGOZUNUN FOSFOLİPİT, DİAÇİLGLİSEROL, TRİAÇİLGLİSEROL VE TOTAL LİPİDİNİN YAĞ ASİDİ DAĞILIMI

İhsan Ekin^{1*}, Semra Kaçar², Mehmet Başhan³, Rıdvan Şeşen³

¹Şırnak Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Enerji Sistemleri Mühendisliği, Şırnak

²Mardin Artuklu Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Mardin

³Dicle Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 21280 Diyarbakır

*ekinihsan@gmail.com

Özet: Haziran 2009 tarihinde Sultanköy köyünden (Mardin) toplanan tatlısu salyangozu *Radix peregra*'nın (Gastropoda: Pulmonata) fosfolipit, diaçilgliserol, triaçilgliserol ve total lipit yağ asidi kompozisyonu kalitatif ve kantitatif olarak araştırıldı. Salyangozun tüm vücut lipitleri ince tabaka kromatografi ile fraksiyonlandı. Gaz kromatografi (GC) aleti kullanılarak salyangozun fosfolipit, diaçilgliserol, triaçilgliserol ve total lipit yağ asidi kompozisyonu analizlendi. Yüzde dağılımda en çok C16:0 (%20.98-%25.68), C18:1ω9 (%14.08-%18.41) ve C18:2ω6 (%8.27-%14.28) asitler tespit edildi. Eikosanoitlerin öncül maddesi olan C20:4ω6 (%9.05) ve C20:5ω3 (%8.48) asitlerin yüzde oranları fosfolipit fraksiyonunda daha yüksek bulundu. Total ÇDYA oranı en fazla fosfolipit fraksiyonunda; total TDYA ile total DYA oranı ise en fazla diaçilgliserol ve triaçilgliserol fraksiyonunda saptandı. Salyangozun diaçilgliserol ile triaçilgliserol fraksiyonları kalitatif ve kantitatif olarak benzerlik gösterdi.

Anahtar Kelimeler: *Radix peregra*, Yağ asitleri, Tatlısu salyangozu

Fatty Acid Composition of Phospholipid, Diacylglycerol, Triacylglycerol, and Total Lipid of Freshwater Snail *Radix peregra* (Müller, 1774)

Abstract: Quantitative and qualitative fatty acid composition of phospholipid, diacylglycerol, triacylglycerol and total lipid of freshwater snail *Radix peregra*, collected from Sultanköy village (Mardin) in June 2009, were investigated. Whole body lipids of the snail were fractionated by thin layer chromatography. The fatty acid compositions of phospholipid, diacylglycerol, triacylglycerol and total lipid of the snail were analyzed by using capillary gas chromatography (GC). In the percentages, C16:0 (20.98% - 25.68%), C18:1ω9 (14.08% - 18.41%) and C18:2ω6 (8.27% - 14.28%) acids were the most abundant components. The percentages of C20:4ω6 (9.05%) and C20:5ω3 (8.48%) acids, precursors of eicosanoids, were defined higher in the phospholipid fraction. The highest proportion of total PUFA was found in phospholipid; the highest proportion of total MUFA and total SFA were found in diacylglycerol and triacylglycerol fractions. Quantitative and qualitative content of diacylglycerol and triacylglycerol fractions of the snail were similar each other.

Keywords: *Radix peregra*, Fatty acids, Freshwater snail

1. GİRİŞ

Molluskler lipit içeriği ve yağ asiti bileşenleri bakımından ilginç bir canlı grubunu oluşturur [1]. Son yıllarda, biyokimyacılar ve endüstriyel araştırmacılar, yüksek oranda çoklu doymamış yağ asitleri (ÇDYA) ile nadir bulunan bazı yağ asitlerini içeren [2] bu canlılara özel ilgi göstermektedirler. Deniz mollusklerinin lipit içeriği ve metabolizması geniş bir şekilde çalışılmasına rağmen, tatlısu molluskleri ile ilgili çok az çalışma yapılmıştır [3-10].

Radix peregra yurdumuzda yaygın dağılışı gösteren bir tatlısu salyangoz türüdür. Ağır akan veya durgun tatlısularda yaşarlar. Boyları ortalama 10 mm olup, akciğer solunumu (Pulmonat) yaparlar. Bu çalışmada, *Radix peregra*'nın diaçilgliserol, triaçilgliserol, fosfolipit ve total lipit yağ asiti kompozisyonu araştırıldı. Yağ asiti analizlerinde, ince tabaka kromatografisi, gaz kromatografisi (GC) kullanıldı. Elde edilen veriler, salyangozların lipit kompozisyonu ile ilgili yapılan diğer çalışmalar ile karşılaştırıldı.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Örneklerin Alınması

R. peregra tatlısu salyangozları, 2009 yılının Haziran ayı içinde Mardin ilinin Sultanköy (Rakım: 920 m, Koordinat: N 37° 25.2' / E 41° 00.0') köyünün kanal sularından toplandı. Suyun sıcaklığı Haziran ayında 21 °C, suyun derinliği ortalama 40 cm olarak ölçüldü. Numuneler bir miktar doğal yaşam alanlarındaki su ile birlikte laboratuvara getirildi. Kabuklarından ayrılan salyangozlar, içinde kloroform-metanol (2:1) karışımı bulunan farklı kaplara konulup gruplara ayrıldı ve analiz edilinceye kadar -80 °C'de derin dondurucuda saklandı.

2.2. Lipit Ekstraksiyonu

R. peregra'nın diaçilgliserol, triaçilgliserol, fosfolipit ve total lipit yağ asiti analizleri 3 tekrar halinde yapılarak elde edildi. Her yağ asiti analizi için ortalama 3 gr numune (salyangoz) kullanıldı. Örnekler, kloroform-metanol karışımında (2:1), homojenizatör aleti ile 5 dakika süre boyunca homojenize edildi [11]. ÇDYA ların otooksidasyonunu önlemek için ekstraksiyon sistemine, kloroformda % 2 oranında hazırlanan bütülenmiş hidroksitoluen (BHT) maddesinden 50 µl ilave edildi. Çözücü azot altında buharlaştırıldıktan son-

ra, salyangozların total vücut lipit ekstraktları, silika-gel sürülmüş ince tabaka kromatografi pleytlerine (20x20 cm) tatbik edildi. Bu lipitler, petrol eteri-di-eter-asetik asit (80:20:1) karışımında yürütüldü. Pleytler, havada kurutulduktan sonra, 2'7' dikloroflorosein püskürtülerek lipit fraksiyonları UV altında görünür hale getirildi. Fosfolipit, diaçilgliserol ve triaçilgliserol ait bantlar kazılarak reaksiyon tüplerine aktarıldı. Her fraksiyona ayrı ayrı asitli metanol katılarak 90 dakika süre ile geri soğutucu altında 85 °C de ısıtıldı. Böylece yağ asitlerinin, yağ asiti metil esterlerine dönüşmesi sağlandı. Çözelti soğuduktan sonra metil esterleri hekzan kullanılarak ekstrakte edildi [12].

2.3. Yağ Asitlerinin Gaz Kromatografi Koşulları (GC)

Metil esterlerine dönüştürülen yağ örneklerinin yağ asitleri, analizleri HP 6890 model Gaz Kromatografi cihazında, alev iyonizasyon dedektörü (FID) ve DB-23 (Bonded % 50 cyanopropyl) (J & W Scientific, Folsom, CA, USA) kapiler kolon (60m x 0.25mm i.d x 0.250 µm film kalınlığı) kullanılarak yapılmıştır. Dedektör sıcaklığı, 280 °C; enjektör sıcaklığı, 270 °C; enjeksiyon: Split - model 1:20. Gaz akış hızları, taşıyıcı gaz olarak helyum 2.8 ml / dakika (sabit akış modeli); hidrojen, 30 ml / dakika; kuru hava, 300 ml / dakika; kolon (fırın) sıcaklığı: 130 °C de, bekleme süresi 1 dakika; 170 °C ye 6.5 °C / dakika; 215 °C ye 2.75 °C / dakika, bekleme süresi 12 dakika; 230 °C ye 40 °C / dakika, bekleme süresi 3 dakika; toplam analiz süresi: 38.8 dakika. Örnek, alete 1 mikrolitre enjekte edilmiştir. Yağ asitlerinin teşhisinde, standart olarak yağ asitlerinin metil esterleri karışımı (Sigma-Aldrich Chemicals) kullanılmıştır. Yağ asitleri metil esterlerinin kromatogramları ve toplam yağ asitleri miktarları bilgisayarda HP 3365 ChemStation bilgisayar programı ile elde edilmiştir. Analiz edilen örneklerin kromatogramındaki pikler, standarttaki bütün yağ asitlerinin metil esterlerinin alıkonma zamanları ile karşılaştırılarak teşhis edilmiştir. Sonuçlar kalitatif değer olarak % yağ asiti üzerinden verilmiştir.

3. SONUÇLAR

R. peregra'nın fosfolipit, diaçilgliserol, triaçilgliserol ve total lipitindeki yağ asitlerinin yüzde dağılımı Tablo 1 de verilmiştir. Yapılan lipit analizlerinde; 8 doymuş, 3 tekli doymamış ve 7 çoklu doymamış olmak üzere toplam 18 çeşit yağ asiti tespit edildi.

R. peregra'da, fosfolipitte %33.78, diaçilgliserolde %40.03, triaçilgliserolde %40.74 ve total lipitte ise %35.05 oranında Σ DYA saptandı. C16:0 asit her dört analizde de major yağ asiti olup oranı %20.98 (fosfolipitte) ile %25.68 (triacilgliserolde) arasında değişti. Bu bileşenin oranı, Σ DYA ların yarısından fazlasını oluşturdu. C18:0 asit oranı %4.80 ile %6.39 arasında değişti. C14:0 asit DYAlar arasında üçüncü major yağ asiti olarak tespit edildi. Tek karbonlu DYAlardan olan C13:0, C15:0 ve C17:0 asitlerin yüzde oranları her dört analizde de %2'yi geçemedi.

Salyangozun Σ TDYA oranları, fosfolipitte %26.54, diaçilgliserolde %32.20, triaçilgliserolde %33.34 ve total lipitte ise %29.43 olarak bulundu. C16:1 ω 7 asit oranı analizlenen fraksiyonlarda %7.54 ile %9.59 arasında değişti. C18:1 ω 9 asit oranı fosfolipitte %14.08, diaçilgliserolde %18.41, triaçilgliserolde %17.70 ve total lipitte ise %16.12 olarak tespit edildi. Triaçilgliserolde %6.84 gibi bir oranda tespit edilen C20:1 ω 9 asit, fosfolipit, diaçilgliserol ve total lipitte ise yakın değerlerde bulundu.

R. peregra'nın Σ ÇDYA oranları, fosfolipitte %39.40, diaçilgliserolde %28.17, triaçilgliserolde %27.03 ve total lipitte ise %34.70 olarak saptandı. Her dört yağ asiti analizinde de C18:2 ω 6 asit yüzde dağılımda en fazla oranda saptandı. Bu bileşen fosfolipitte %14.28, diaçilgliserolde %10.11, triaçilgliserolde %8.27 ve total lipitte ise %11.90 olarak bulundu. C18:3 ω 3 asit en çok fosfolipit fraksiyonunda (%6.10), en az ise triaçilgliserol fraksiyonunda (%4.97) tespit edildi. Ayrıca, fosfolipitte %9.05 gibi yüksek bir değere sahip olan C20:4 ω 6 asit, diaçilgliserol (%5.36), triaçilgliserol (%6.10) ve total lipitte (%7.50) de önem arz eden oranlarda tespit edildi. C20:5 ω 3 (EPA) ise fosfolipitte %8.48, diaçilgliserolde %4.29, triaçilgliserolde %5.18 ve total lipitte ise %6.60 oranında bulundu. Genelde salyangozlarda düşük miktarda saptanan C22:6 ω 3 asit, *R. peregra*'nın yağ asiti analizlerinde de düşük oranlarda saptandı.

Tablo 1. *Radix peregra*'nın fosfolipit, diaçilgliserol, triaçilgliserol ve total lipit yağ asitlerinin yüzde dağılımı

Yağ Asitleri	Fosfolipit (ortalama*±S.S.)**	Diaçilgliserol (ortalama*±S.S.)**	Triaçilgliserol (ortalama*±S.S.)**	Total lipit (ortalama*± S.S.)**
C10:0	0.40±0.03a	0.62±0.05b	0.65±0.07b	0.20±0.01c
C12:0	0.82±0.06a	0.74±0.06a	0.37±0.03b	-
C13:0	0.55±0.04a	0.40±0.03b	0.30±0.02c	0.74±0.05d
C14:0	3.41±0.22a	4.40±0.33b	4.34±0.41b	3.90±0.21a
C15:0	0.90±0.09a	1.80±0.10b	1.70±0.16b	1.14±0.15c
C16:0	20.98±1.04a	24.06±1.08b	25.68±1.06b	23.47±1.08bc
C17:0	1.02±0.09a	1.82±0.09b	1.31±0.08a	0.80±0.07c
C18:0	5.70±0.44a	6.19±0.47b	6.39±0.52b	4.80±0.42c
ΣDYA	33.78±1.15a	40.03±1.20b	40.74±1.18b	35.05±1.14c
C16:1ω7	7.54±0.63a	9.59±0.90b	8.80±0.72c	7.91±0.74a
C18:1ω9	14.08±0.94a	18.41±1.00b	17.70±1.02b	16.12±0.82c
C20:1ω9	4.92±0.26a	4.20±0.30a	6.84±0.48b	5.40±0.44c
ΣTDYA	26.54±1.08a	32.20±1.12b	33.34±1.14b	29.43±1.04c
C18:2ω6	14.28±0.88a	10.11±0.90b	8.27±0.64c	11.90±0.72b
C18:3ω3	6.10±0.52a	5.80±0.48b	4.97±0.41c	5.58±0.52b
C20:2ω6	1.16±0.09a	1.15±0.08a	0.82±0.06b	0.90±0.07b
C20:3ω6	-	0.90±0.07a	1.25±0.08b	1.42±0.10b
C20:4ω6	0.05±0.67a	5.36±0.40b	6.10±0.46c	7.50±0.64d
C20:5ω3	8.48±0.62a	4.29±0.32b	5.18±0.50b	6.60±0.52c
C22:6ω3	0.33±0.02a	0.56±0.04a	0.44±0.03a	0.80±0.06b
ΣÇDYA	39.40±1.18a	28.17±1.10b	27.03±1.08b	34.70±1.41c

** Aynı satırda aynı harfle belirtilen değerler birbirinden farklı değildir. P>0.05

* Her veri üç tekrarin ortalamasıdır. Her tekrarda gaz kromatografisiyle 3 enjeksiyon yapılmıştır.

DYA: Doymuş Yağ Asitleri, TDYA: Tekli Doymamış Yağ Asitleri, ÇDYA: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri

4. TARTIŞMA

R. peregra'nın fosfolipit, diaçilgliserol, triaçilgliserol ve total lipit yağ asit analizlerinde saptanan yağ asitleri hem tatlısu hem de denizde yaşayan birçok mollusk türünde de saptanmıştır. [13-15]. C16:0, C18:0, C18:1 ω 9 ve C18:2 ω 6 asitler tatlısu salyangozları olan *Coretus carneus*, *V. viviparus*, *Radix auricularia*, *L. stagnalis* [4], *Goniobasis virginica*, *Physa sp.*, *Viviparus malleatus* [10], *Limnaea fragilis* [5] 'te major bileşenler olarak tespit edildiler. Japonya Denizi'nden toplanan 51 çeşit deniz omurgasızının yağ asiti ile ilgili bir çalışmada da hemen hemen analizlenen tüm omurgasız türlerinde C16:0 asit, major bileşen olarak saptanmıştır [16]. Dembitsky ve arkadaşları (1993a), tatlısu midyesi *Anadonta piscinalis* ile tatlısu salyangozu *Limnaea fragilis*'in total, fosfolipit ve nötral lipit fraksiyonlarındaki yağ asitlerini çalıştılar. C16:0 asitin yüzde oranını, *A. piscinalis*'in nötral lipit fraksiyonunda %19, *L. fragilis*'te ise %20 olarak buldular. Araştırma örneğimiz olan *R. peregra*'nın yağ asiti analizlerinde de C16:0 (%20.98- %25.68), C18:1 ω 9 (%14.08- %18.41) ve C18:2 ω 6 (%8.27- %14.28) asitler major bileşenler olarak saptandı.

Çalışmamızda Σ DYA (%40.74) ile Σ TDYA oranı (%33.34) en çok triaçilgliserol fraksiyonunda saptandı. Bu oranlar diaçilgliserol fraksiyonundaki oranları yakındı. Σ ÇDYA oranı (%39.40) ise en çok fosfolipit fraksiyonunda bulundu. İki ve daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinden oluşan Σ ÇDYA ların hücre ve organel zarlarının yapısal bileşenlerinden olan fosfolipitte daha yüksek oranda olması gayet doğal olup beklenen bir sonuçtu. Özellikle *R. peregra*'nın diğer fraksiyonlarına göre fosfolipit fraksiyonunda daha yüksek oranda tespit edilen C18:2 ω 6 (%14.28), C20:4 ω 6 (%9.05) ve C20:5 ω 3 (%8.48) asitler bu yüksek orana katkıda bulundu. *Limnaea fragilis* [5], *Coretus carneus*, *Viviparus viviparus*, *Radix auricularia*, *Limnaea stagnalis* [4] gibi tatlısu salyangozları ile ilgili çalışmalarda da ÇDYA ların en çok fosfolipit fraksiyonunda biriktiği vurgulanmıştır. Dembitsky ve arkadaşları (1993a), tatlısu midyesi *Anadonta piscinalis* ile tatlısu salyangozu *Limnaea fragilis*'in total, fosfolipit ve nötral lipit fraksiyonlarındaki yağ asitlerini çalıştılar. Bu canlıların fosfolipit fraksiyonundaki Σ DYA oranını %7-9 gibi bir değer ile düşük oranda buldular. Σ TDYA oranını en fazla nötral lipit fraksiyonunda (% 40); Σ ÇDYA oranını ise en fazla fosfolipit fraksiyonunda (%50) saptadılar. Başka bir çalışmada da *Baicalia oviformis* salyangozunda Σ ÇDYA ların oranı fosfolipitte %62.86, nötral lipitte %7.98; *Benedictia baicalensis*'te ise Σ ÇDYA ların oranı fosfolipitte % 63.40; nötral lipitte %8.33 olarak saptandı [6].

Daha öncede belirtildiği gibi, *R. peregra*'nın diaçilgliserol ve triaçilgliseroldeki Σ SFA ve Σ TDYA oranları, fosfolipit ve total lipitteki orandan daha yüksek bulundu. Bu doğal bir sonuç olarak görüldü. Çünkü sterol, sterol esterleri, serbest yağ asitleri, yağ asiti esterleri, monoaçilgliserol, diaçilgliserol ve triaçilgliseroller nötral lipitler olarak bilinirler ve bu lipitler enerji rezervi olarak kullanıldıklarından, SFA ile TDYA ları daha fazla miktarda içerirler. Organizmaların çoğu, diaçilgliserol ve triaçilgliserol lipitlerini depo lipiti olarak muhafaza edip, fizyolojik ve metabolik ihtiyaçlarına göre enerji için kullanırlar.

Go ve arkadaşları (2002) Galilee Gölü'ndeki salyangoz türlerinin (*Melanoides tuberculata*, *Theodoxus jordani*, *Pyrgula barroissi*, *Melanopsis praemorsum*) total lipitlerinde gastropodlarda sıkça rastlanan C20:5 ω 3 asiti ortalama % 2.6 oranında tespit ettiler ve tatlısu salyangozlarındaki bu bileşenin oranı birçok deniz salyangozundan daha yüksek olduğunu bildirdiler. Fried ve arkadaşları da (1992), tatlısu salyangozu *Biomphalaria glabrata*'nın total yağ asiti kompozisyonu ile ilgili çalışmalarında da C20:4 ω 6 ve C20:5 ω 3 asitleri kayda değer oranlarda tespit ettiler. Bilindiği gibi C20:4 ω 6 ve C20:5 ω 3 asitler eikosanoidlerin sentezinde kullanılan öncül maddelerdir. Eikosanoidlerden olan prostaglandinler tatlısu salyangozlarında yumurta oluşumunu uyarmaktadır. C20:4 ω 6 asit, fosfoditinositol gibi fosfolipitlerin önemli bir bileşeni olup [17] sodyum alımı düzenlemesi ile ilgili prostaglandinlerin sentezi için kullanılmaktadır. Çalışma materyalimizi oluşturan *R. peregra*'nın fosfolipit fraksiyonunda, C20:4 ω 6 (%9.05) ve C20:5 ω 3 (%8.48) asitler yüksek oranda tespit edildiler. Diaçilgliserol, triaçilgliserol ve total lipit analizlerinde de C20:4 ω 6 ve C20:5 ω 3 asitler önem arz edecek oranlarda bulundu (Tablo 1). Bu bileşenlerin *R. peregra*'da yüksek oranda bulunması önemli bir bulgudur.

5. KAYNAKLAR

- [1]. Ackman, R.G. 1989. Fatty acids in Marine Biogenic Lipids, Fats and Oils (Edited by Ackman, R.G.), 1, s. 103-137, CRC press, Boca Raton, Florida.
- [2]. Johns, R. B., Nichols, P. D. and Perry, G. J. 1980. Fatty acid components of nine species of molluscs of the littoral zone from Australian waters. *Comp. Biochem. Physiol.*, 65B, 207-214.
- [3]. Hagar, A. F. and Dietz, T. H. 1986. Seasonal changes in the lipid composition of gill tissue from the freshwater mussel *Carunculina texasensis*. *Physiol. Zool.*, 59(4), 419-428.
- [4]. Dembitsky, V. M., Kashin, A.G. and Stefanow, K. 1992. Comparative investigation of phospholipids and fatty acids of freshwater molluscs from Volga River Basin. *Comp. Biochem. Physiol.*, 102B (1), 193-198.

- [5]. Dembitsky, V. M., Rezanka, T. and Kashin, A. G. 1993a. Fatty acid and phospholipids composition of freshwater molluscs *Anadonta piscinalis* and *Limnaea fragilis* from the River Volga. *Comp. Biochem. Physiol.*, 105B, 3(4), 597-601.
- [6]. Dembitsky, V. M., Rezanka, T. and Kashin, A.G. 1993b. Comparative study of the endemic freshwater fauna of Lake Baikal-I. Phospholipids and fatty acid composition of two mollusc species, *Baicalia oviformis* and *Benedictia baicalensis*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 106B (4), 819-823.
- [7]. Dembitsky, V. M., Rezanka, T. and Kashin, A. G., 1994. Comparative study of the endemic freshwater fauna of lake Baikal-IV. Phospholipids and fatty acid composition of two gastropod molluscs of the genus *Valvata*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 107B, 325-330.
- [8]. Misra, K.K., Shkrob, I., Rakshit, S. and Dembitsky, V. M. 2002. Variability in fatty acids and fatty aldehydes in different organs of two prosobranch gastropod molluscs. *Biochem. Syts. and Ecol.*, 30, 749-761.
- [9]. Fried, B., Rao, S.K. and Sherma, J. 1992. Fatty acid composition of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae) fed hen's egg yolk versus leaf lettuce. *Comp. Biochem. Physiol.*, 101A, 351-352.
- [10]. Fried, B., Rao, K.S., Sherma, J. and Huffmani, J. E. 1993. Fatty acid composition of *Goniobasis virginica*, *Physa* sp. and *Viviparus malleatus* (Mollusca: Gastropoda) from lake Musconetcong, New Jersey. *Biochem. Syts. and Ecol.*, 21(8), 809-812.
- [11]. Bligh, E.G. and Dyer, W. J. A., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37, 911-917.
- [12]. Stanley-Samuelson, D. W. and Dadd, R. H. 1983. Long chain polyunsaturated fatty acids: Patterns of occurrence in insects. *Biochemistry*, 13, 549-558.
- [13]. Misra, S., Ghosh, K. M., Choudhury, A., Dutta, K.A., Pal, K.P. and Ghosh, A. 1985. Fatty acids from *Macoma* sp. of bivalve mollusc. *J. Sci. Food Agric.*, 36, 1193-1196.
- [14]. Go, J. V., Rezanka, T., Srebnik, M. and Dembitsky, V. M., 2002. Variability of fatty acid component of marine and freshwater gastropod species from the littoral zone of the Red Sea, Mediterranean Sea and Sea of Galilee. *Biochem. Syts. and Ecol.*, 30, 819-835.
- [15]. Pollero, R. J., Irazu, C. E. and Brenner, R. R., 1983. Effect of sexual stage on lipids and fatty acids of *Diplodon delodontus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 76B, 927-931.
- [16]. Isay, V. S. and BUSAROVA, N.G., 1984. Study on fatty acids composition of marine organisms-I. Unsaturated fatty acids of Japan Sea invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.*, 77B, (4), 803-810.
- [17]. Tocher, D. R. and Sargent, J. R., 1984. Analysis of lipids and fatty acids in ripe-roes of some Northwest European marine fish. *Lipids*, 19, 492-499.