

POLSKIE TOWARZYSTWO FARMACEUTYCZNE

BROMATOLOGIA I CHEMIA TOKSYKOLOGICZNA

KWARTALNIK

2

TOM XLVII WARSZAWA 2014



BROMATOLOGIA I CHEMIA TOKSYKOLOGICZNA

Czasopismo poświęcone zagadnieniom badań ochrony
zdrowia i środowiska

Wersja internetowa wydawanego czasopisma jest wersją pierwotną

TOM XLVII

2014

Nr 2

TREŚĆ

<i>J. Biernat, M. Drzewicka, K. Łoźna, J. Hyla, M. Bronkowska, H. Grajeta</i> : Skład kwasów tłuszczowych orzechów i nasion dostępnych aktualnie w handlu w kontekście prozdrowotnych zaleceń żywieniowych	121
<i>L. Łyczko, Z. Walczak, M. Starzycki</i> : Fatty acid profile and fat content in selected types of mustards	130
<i>B. Paszczyk</i> : Kwasy tłuszczowe i izomery <i>trans</i> w serkach twarogowych do smarowania pieczywa	137
<i>B. Paszczyk</i> : Ocena profilu kwasów tłuszczowych oraz izomerów <i>trans</i> w serach twarogowych ..	144
<i>A. Telesiński, M. Płatkowski, D. Jadcak</i> : Właściwości przeciwutleniające owoców wybranych odmian dyni piżmowej (<i>Cucurbita moschata</i> Duch.)	150
<i>J. Cieślewicz, A. Grzelakowska</i> : Zawartość związków polifenolowych w wybranych gatunkach herbat zielonych	155
<i>S. Przybylska</i> : Wpływ jonów metali na barwę i zawartość β -karotenu w sterylizowanym przecierze marchwiowym	163
<i>M. Bilek, N. Matłok, J. Gorzelany, J. Kaniuczak</i> : Zastosowanie metody HPLC-ELSD i HPIC-CD do oceny składu chemicznego owoców pomidora szklarniowego	172
<i>M. Rajkowska-Myśliwiec, A. Pohoryło, M. Protasowicki</i> : Mikroelementy w grzybach jadalnych zebranych w lasach województwa zachodniopomorskiego	180
<i>E. Piotrowska, A. Broniecka, M. Frańczak, M. Bronkowska, J. Wýka, J. Biernat</i> : Wpływ warunków socjoekonomicznych na sposób żywienia i zwyczaje żywieniowe młodzieży 13–15-letniej z Wrocławia i okolic	186
<i>A. Broniecka, M. Habanova, E. Bator, J. Wýka, M. Bronkowska</i> : Porównanie wybranych elementów stylu życia i nawyków żywieniowych studentów polskich i słowackich	196
<i>Z. Goluch-Koniuszy</i> : Ocena wpływu, na modelu zwierzęcym, zmiany składu diety i jej suplementacji witaminami z grupy B na całkowity potencjał antyoksydacyjny osocza mierzony metodą FRAP	204
<i>K. Bielawska, M. Malinowska, M. Cyuńczyk</i> : Wpływ kumaryn na organizm człowieka	213
<i>I. Cieślik, E. Cieślik</i> : Zawartość dioksyn, furanów i polichlorowanych bifenyli w paszach i żywności	222
<i>J. Borawska, M. Darewicz, A. Iwaniak, P. Minkiewicz</i> : Biologicznie aktywne peptydy pochodzące z białek żywności jako czynniki prewencji wybranych chorób dietozależnych	230
<i>M. Protasiewicz, A. Iwaniak</i> : Alergie pokarmowe i alergeny żywności	237

*Jadwiga Biernat, Maria Drzewicka¹⁾, Karolina Łoźna, Joanna Hyla,
Monika Bronkowska, Halina Grajeta¹⁾*

SKŁAD KWASÓW TŁUSZCZOWYCH ORZECHÓW I NASION DOSTĘPNYCH AKTUALNIE W HANDLU W KONTEKŚCIE PROZDROWOTNYCH ZALECEŃ ŻYWIENIOWYCH

Katedra Żywienia Człowieka, Wydział Nauk o Żywności,
Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu
Kierownik: dr hab. *M. Bronkowska*

¹⁾ Katedra i Zakład Bromatologii i Dietetyki, Wydział Farmaceutyczny,
Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu
Kierownik: dr hab. *H. Grajeta*, prof. nadzw. UM

Celem badań była ocena zawartości tłuszczu ogółem i składu kwasów tłuszczowych w 8 gatunkach orzechów i 5 gatunkach nasion dostępnych aktualnie w różnych sieciach handlowych, pochodzących z różnych krajów. Najbogatszymi źródłami kwasów jednonienasyconych są orzechy: laskowe, makademia i nerkowca oraz nasiona: sezamu i lnu. Najwyższe ilości kwasów tłuszczowych wielonienasyconych stwierdzono w orzechach: włoskich, brazylijskich i pinii oraz w nasionach: lnu, maku i słonecznika.

Hasła kluczowe: tłuszcz, kwasy tłuszczowe, orzechy, nasiona, zalecane spożycie.
Key words: fat, fatty acids, nuts, seeds, recommended intake.

Jadalne orzechy i nasiona zaliczane są do produktów przekąskowych i znajdują coraz więcej zwolenników w różnych grupach społeczeństwa. Można je spożywać w postaci naturalnej, tylko po pozbawieniu okrywy nasiennej, lub poddane przetwarzaniu np.: suszeniu, rozdrabnianiu, karmelizowaniu, soleniu. Stanowią samodzielny produkt, ale także bardzo często są dodatkiem do różnych potraw, m.in: produktów śniadaniowych, pieczywa, produktów cukierniczych, deserów. Coraz powszechniejsze spożycie tej grupy produktów jest związane z zaleceniami prawidłowego żywienia, które w roku 2005 rozpowszechniła Harwardzka Szkoła Zdrowia Publicznego oraz Amerykański Departament Rolnictwa (USDA) (1, 2). W zaleceniach tych przedstawionych w postaci piramid, omówionych szczegółowo przez *Catlyniuk* i współpr. (3), uwzględniono m.in. konieczność codziennego spożywania produktów dostarczających tłuszczów o zróżnicowanym składzie kwasów tłuszczowych. Do produktów, które są źródłem korzystnie wpływających na organizm i stan zdrowia nienasyconych kwasów tłuszczowych zaliczono oleje roślinne, w tym m.in.: oliwkowy, rzepakowy, sojowy, słonecznikowy oraz tłuste ryby, a także orzechy i nasiona. Codzienne spożycie tych produktów powinno dostarczać należnych ilości kwasów tłuszczowych jednonienasyconych oraz wielonienasyconych z rodzin n-3 i n-6. Łącznie jednak tłuszcze roślinne, tłuszcze rybne wraz z tłuszczami zawartymi

w produktach pochodzenia zwierzęcego: chudych mięsach i przetworach mięsnych, odtłuszczonych produktach nabiałowych nie powinny przekraczać 30% należnego dziennego zapotrzebowania energetycznego każdego człowieka. Zalecenia dotyczące zawartości w całodzienniej racji pokarmowej różnych grup kwasów tłuszczowych spełniające wymogi prewencji chorób przewlekłych opracowane przez ekspertów FAO/WHO przedstawione zostały m.in. przez *Kłosiewicz-Latoszek* (4). W naszym kraju podobne zalecenia opracowano w IŻŻ i opublikowano w 2008 r. (5).

Zawartość tłuszczów i skład kwasów tłuszczowych w orzechach i nasionach są zróżnicowane i zależą m.in. od cech gatunku, metod i warunków uprawy, strefy klimatycznej, metod przechowywania i przetwarzania. W rodzimym handlu urozmaicenie tych produktów jest coraz lepsze, ceny są atrakcyjne i ciągle pojawiają się nowe gatunki, szczególnie – orzechów, co także sprawia, że zainteresowanie nimi wśród konsumentów wzrasta.

Celem badań była ocena zawartości tłuszczu ogółem i składu kwasów tłuszczowych w 8 gatunkach orzechów i 5 gatunkach nasion dostępnych obecnie w różnych sieciach handlowych, pochodzących z różnych krajów.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły orzechy: arachidowe, laskowe, włoskie, nerkowca, brazylijskie, makadamia, pinii, pistacje – solone, a także nasiona roślin oleistych wykorzystywane do bezpośredniego spożycia lub jako dodatek do pieczywa, surówek i sałatek: słonecznika, dyni, sezamu, maku i lnu. Z każdego gatunku orzechów i nasion zakupiono w handlu po 6 opakowań jednostkowych, z których po wymieszaniu, zmieleniu i zhomogenizowaniu pozyskiwano po trzy próbki laboratoryjne do oznaczeń zawartości: suchej masy, tłuszczu ogółem oraz po dwie do badania składu kwasów tłuszczowych. Przed wykonaniem oznaczeń składu kwasów tłuszczowych próbki zamrażano w temp. -80°C . Krajami, z których najczęściej prowadzono orzechy i nasiona były: Chiny (orzechy arachidowe, pinii oraz nasiona słonecznika, dyni), Włochy i Gruzja (orzechy laskowe), Iran (pistacje), Indie (orzechy nerkowca, włoskie oraz nasiona sezamu), Boliwia (orzechy brazylijskie), Australia i RPA (orzechy makadamia), Polska (orzechy włoskie), Czechy (nasiona maku), Argentyna, Mołdawia (nasiona lnu).

Oznaczenia zawartości suchej masy i tłuszczu wykonywano bezpośrednio po rozdrobieniu próbek w trzech powtórzeniach dla każdej próbki laboratoryjnej. Zawartość suchej masy oznaczano w nasionach i orzechach metodą wagową susząc początkowo próbki w temp. 60°C przez 24h, a następnie dosuszając w temp. 105°C . Zawartość tłuszczu ogółem oznaczano metodą Soxhleta z zastosowaniem hydrolizy kwasowej z użyciem HCl o stęż. 4 mol/dm^3 wg Weibulla-Stoldta.

Skład kwasów tłuszczowych oznaczano metodą chromatografii gazowej, na aparacie Agilent Technology 6890N, po uprzedniej ekstrakcji tłuszczu z 1 g naważek metodą Folcha. Estrы metylowe kwasów tłuszczowych otrzymywano w procesie estryfikacji prowadzonym z użyciem $0,5 \text{ mol/dm}^3$ roztworu KOH w bezwodnym metanolu, następnie ekstrahowano je do n-heksanu. Rozdział estrów przeprowa-

dzano na kolumnie kapilarnej dł. 100 m pokrytej fazą stacjonarną SP-2560 o średnicy 0,25 mm, grubość filmu tej fazy wynosiła 0,2 μm . Jako gaz nośny stosowano wodór o szybkości przepływu 1,5 cm^3/min . Temperatura dozownika i detektora wynosiła 240°C. Analizę wykonywano w temp. programowanej od 165°C (10 min) do 220°C (10 min.) z narostem temp. 2°C/min. Identyfikację kwasów tłuszczowych przeprowadzano przez porównanie czasów retencji poszczególnych pików z czasami retencji pików wzorców odpowiednich kwasów. Stosowano mieszaninę 37 estrów metylowych kwasów tłuszczowych firmy Sigma–Aldrich. Udział procentowy poszczególnych kwasów tłuszczowych w sumie wszystkich kwasów (% sumy KT) obliczano za pomocą programu ChemStation v.B.04.02.SP2. Obliczenia statystyczne testem Tukey'a przeprowadzono z wykorzystaniem programu komputerowego Statistica ver. 10.0.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W tab. I przedstawiono zawartość suchej masy oraz tłuszczu w badanych orzechach i nasionach. Z uwagi na brak informacji o odmianach roślin oraz małą liczebność próbek orzechów i nasion pochodzących z tego samego kraju nie dokonywano porównań odmianowych i wpływu warunków klimatycznych na zawartość i skład tłuszczu w badanych próbkach. Produkty te należą do grupy żywności o niskiej zawartości wody, natomiast tłuszcz jest w nich dominującym składnikiem odżywczym, decydującym o ich stosunkowo wysokiej wartości energetycznej. Średnia zawartość suchej masy w badanych orzechach wynosiła 96,50%, natomiast w badanych nasionach zawartość ta była nieco niższa i wynosiła 95,15%. Najniższą zawartość suchej masy stwierdzono w orzechach laskowych (94,98%) i nasionach lnu (92,61%), natomiast najwyższą w orzechach pinii (98,78%) i nasionach sezamu (96,31%). Zawartość tłuszczu w przeliczeniu na świeżą masę w orzechach mieściła się w granicach 45,71–75,83%, natomiast w nasionach wynosiła od 34,45% do 62,24%. Najwięcej tłuszczu zawierały orzechy makadamia i nasiona słonecznika, natomiast najniższą zawartość tego składnika oznaczono w orzechach nerkowca i w nasionach lnu. We wszystkich badanych orzechach, zarówno w świeżej, jak i w suchej masie zawartość tłuszczu była wyższa niż w badanych nasionach. Uwzględniając to zalecenia prawidłowego żywienia przestrzegające aby tych produktów w dziennej racji pokarmowej było ok. 40 g (1).

Zarówno badania zawartości tłuszczu ogółem, jak i skład kwasów tłuszczowych orzechów oraz nasion są przedmiotem zainteresowania wielu naukowców, szczególnie w kontekście wpływu na te składniki warunków obróbki technologicznej i cech odmianowych. W badaniach zawartości tłuszczu i składu kwasów tłuszczowych opublikowanych przez *Maquire* i współpr. (6) podano ilość tłuszczu oznaczoną w świeżych orzechach (37,9–59,2%) i była ona znacznie niższa niż ilości oznaczone w tych samych gatunkach w niniejszych badaniach. Orzechy makadamia odznaczają się w niniejszych badaniach stosunkowo wysoką zawartością tego składnika co potwierdzają także bardzo wnikliwe badania składu tych orzechów przeprowadzone przez *Kaijser* i współpr. (7) z uwzględnieniem różnic odmianowych. Przebadano

7 odmian tych orzechów i stwierdzono, że różnice w zawartości tłuszczu pomiędzy poszczególnymi odmianami nie są znaczące i ilości te mieszczą się w granicach 69–68% s.m. Rosnące w Polsce orzechy włoskie badane przez *Borecką* i współpr. (8) odznaczały się podobną zawartością tłuszczu jak, pochodzące także z naszego kraju, orzechy badane w niniejszej pracy. Z kolei orzechy laskowe pochodzące z trzech odmian leszczyny pospolitej, uprawiane w naszym kraju, badane przez *Ciemieniowską* i *Ratusz* (9) odznaczały się niższą średnią zawartością tłuszczu w porównaniu do orzechów badanych w niniejszej pracy, a pochodzących z Włoch i Gruzji.

Tab e l a I. Zawartość suchej masy oraz tłuszczu ogółem w świeżej i suchej masie w badanych orzechów i nasion

Tab l e I. Total dry matter and fat content in selected nuts and seeds

Gatunek	Zawartość suchej masy (%)	Zawartość tłuszczu ogółem w świeżej masie (%)	Zawartość tłuszczu ogółem w suchej masie (%)
	$\bar{x}_{sr.} \pm SD$		
Orzechy arachidowe	97,13 ± 0,58	48,33 ± 1,02	46,94 ± 0,09
Orzechy laskowe	94,98 ± 0,20	65,79 ± 2,16	62,49 ± 1,11
Pistacje**	95,78 ± 0,00	51,32 ± 0,92	49,15 ± 0,00
Orzechy nerkowca	95,20 ± 0,81	45,71 ± 0,22	43,50 ± 0,33
Orzechy brazylijskie	96,71 ± 0,38	67,01 ± 0,77	64,81 ± 0,76
Orzechy macadamia	97,55 ± 0,05	75,83 ± 0,79	73,97 ± 0,77
Orzechy włoskie	95,84 ± 0,57	69,25 ± 1,40	66,37 ± 1,04
Nasiona słonecznika	95,53 ± 0,96	62,22 ± 6,17	59,42 ± 5,89
Pestki dyni	93,66 ± 1,05	45,86 ± 1,61	42,95 ± 1,47
Nasiona sezamu	96,31 ± 0,13	59,52 ± 1,58	57,32 ± 1,57
Nasion maku	93,53 ± 0,04	43,50 ± 0,22	40,69 ± 0,38
Nasiona lnu złocistego	92,61 ± 0,00	34,45 ± 0,00	31,90 ± 0,00
Nasiona lnu	93,30 ± 0,83	43,02 ± 0,24	40,14 ± 0,15
Orzeszki pinii	98,78 ± 0,21	62,24 ± 6,71	61,48 ± 6,92

**

W tab. II przedstawiono skład kwasów tłuszczowych w tłuszczu orzechów w postaci udziału procentowego poszczególnych grup kwasów oraz wybranych pojedynczych kwasów tłuszczowych w sumie wszystkich oznaczonych kwasów tłuszczowych. Nasycone kwasy tłuszczowe w badanych orzechach zawarte były w granicach od 9,52% (orzechy włoskie) do 24,40% sumy KT (orzechy brazylijskie). Różnice pomiędzy poszczególnymi gatunkami orzechów były w przewadze istotne statystycznie. Powyżej 20%-owy udział tych kwasów stwierdzono także w orzechach: arachidowych i piniowych. Kwasem nasyconym dominującym we wszystkich badanych orzechach był kwas C16-palmitynowy. Udział kwasów jednonienasyconych był w badanym materiale istotnie zróżnicowany w zależności od gatunku orzechów

Table II. Skład kwasów tłuszczowych w tłuszczu orzechów (% sumy wszystkich kwasów tłuszczowych)

Table II. Fatty acid content in nuts (% of total fatty acids)

Kwasy tłuszczowe	Orzechy arachidowe	Orzechy laskowe	Pistacje (solone)	Orzechy nerkowca	Orzechy brazylijskie	Orzechy macadamia	Orzechy włoskie	Orzeszki piniowe
	$x_{sr} \pm SD$; n=5	$x_{sr} \pm SD$; n=5	$x_{sr} \pm SD$; n=5	$x_{sr} \pm SD$; n=5	$x_{sr} \pm SD$; n=5	$x_{sr} \pm SD$; n=5	$x_{sr} \pm SD$; n=5	$x_{sr} \pm SD$; n=5
C 18:1 n9 cis	38,99 ^d ± 0,55	77,20 ^g ± 1,40	51,79 ^e ± 2,16	58,66 ^f ± 0,94	31,14 ^c ± 0,36	56,25 ^f ± 0,85	20,13 ^a ± 1,05	25,71 ^b ± 3,49
C 18:2 n6 cis	36,75 ^e ± 1,09	8,25 ^b ± 0,63	29,60 ^d ± 0,54	19,03 ^c ± 0,44	41,30 ^f ± 0,62	3,20 ^a ± 0,73	57,64 ^h ± 1,34	45,04 ^g ± 2,15
C 18:3 n3	0,79 ^b ± 0,07	0,28 ^{ab} ± 0,13	0,51 ^{ab} ± 0,05	0,23 ^{ab} ± 0,05	0,16 ^a ± 0,03	0,19 ^a ± 0,05	10,95 ^c ± 0,59	0,40 ^{ab} ± 0,15
Pozostałe kwasy	23,26 ^d ± 0,62	13,76 ^b ± 1,43	17,56 ^c ± 2,32	21,24 ^d ± 1,95	27,07 ^e ± 0,56	39,91 ^f ± 2,77	10,95 ^a ± 0,45	28,62 ^e ± 1,53
Σ SFA*	21,87 ^e ± 0,52	11,08 ^{ab} ± 1,18	12,75 ^b ± 1,32	19,79 ^d ± 0,67	24,40 ^f ± 0,38	16,45 ^c ± 0,32	9,52 ^a ± 0,54	23,84 ^f ± 1,41
Σ MUFA**	40,32 ^d ± 0,64	79,81 ^g ± 1,18	56,48 ^e ± 1,15	60,03 ^f ± 0,84	33,72 ^c ± 0,53	79,65 ^g ± 0,68	21,47 ^a ± 1,08	27,44 ^b ± 3,46
Σ PUFA***	37,54 ^e ± 1,12	8,53 ^b ± 0,57	30,11 ^d ± 0,50	19,26 ^c ± 0,46	41,46 ^f ± 0,60	3,39 ^a ± 0,78	68,58 ^h ± 0,81	46,12 ^g ± 2,06
Σ n6 PUFA	36,75 ^e ± 1,09	8,25 ^b ± 0,63	29,60 ^d ± 0,54	19,03 ^c ± 0,44	41,30 ^f ± 0,62	3,20 ^a ± 0,73	57,64 ^h ± 1,34	45,70 ^g ± 2,12
Σ n3 PUFA	0,79 ^b ± 0,07	0,28 ^{ab} ± 0,13	0,51 ^{ab} ± 0,05	0,23 ^{ab} ± 0,05	0,16 ^a ± 0,03	0,19 ^a ± 0,05	10,95 ^c ± 0,59	0,40 ^{ab} ± 0,15
Σ FA trans****	0,06 ^a ± 0,01	0,08 ^a ± 0,03	0,12 ^a ± 0,01	0,08 ^a ± 0,00	0,09 ^a ± 0,05	0,06 ^a ± 0,03	0,10 ^a ± 0,09	2,29 ^b ± 0,19

* Σ SFA – suma nasyconych kwasów tłuszczowych = C10 + C12 + C14 + C16 + C17 + C18 + C20 + C22 + C24

** Σ MUFA – suma jednonienasyconych kwasów tłuszczowych = C16:1 + C17:1 + C18:1 n9 + C18:1 n7 + C20:1 + C22:1 + C24:1

*** Σ PUFA – suma wielonienasyconych kwasów tłuszczowych = C18:2 n6 + C18:3 n3

**** Σ FA trans – suma izomerów trans nienasyconych kwasów tłuszczowych = C18:1t + C 18:2t

a,b,c... – tą samą literą oznaczono grupy jednorodnie statystycznie, test Tukey'a, p<0,05

i mieścił się w zakresie: 21,47–79,81%. Najniższe ilości tych kwasów stwierdzono w orzechach: włoskich, piniowych oraz brazylijskich, natomiast najwyższe w orzechach: laskowych, makadamia i nerkowca. W tej grupie kwasów największy udział miał kwas oleinowy C18:1; n9, który np. w orzechach laskowych wynosił 77,20% sumy KT. Udział oznaczanych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych był istotnie najwyższy w orzechach włoskich i wynosił 68,58% sumy KT. W pozostałych gatunkach udział ten mieścił się w granicach: 3,39–46,12%. Rodzinę n6 kwasów wielonienasyconych reprezentował kwas linolowy C18:2; n6 *cis*, natomiast rodzinę n3 – kwas alfa-linolenowy C18:3; n3 *cis*. Kwas linolowy największy udział w sumie kwasów tłuszczowych miał w orzechach włoskich, piniowych i brazylijskich, natomiast najmniejsze jego ilości stwierdzono w orzechach makadamia, laskowych i nerkowca. Kwas alfa-linolenowy miał najwyższy udział procentowy w sumie kwasów w tłuszczu orzechów włoskich, natomiast w wszystkich pozostałych jego ilości były istotnie niższe i mieściły się w zakresie od 0,19% (orzechy makadamia) do 0,79% sumy KT (orzechy arachidowe).

Ze względu na istotnie korzystne znaczenie w profilaktyce dyslipidemii (10), chorób układu sercowo naczyniowego (11, 12), cukrzycy (13), szczególnie – orzechy wspaniale są produktem, którego spożycie w ograniczonych ilościach powinno być zalecane w każdym wieku i w każdej grupie społecznej. Korzystny dla zdrowia skład kwasów tłuszczowych, głównie z uwagi na średnią zawartość kwasu linolowego i niską zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych, mają także orzechy: laskowe, pistacjowe (nie solone!) i brazylijskie.

W tab. III przedstawiono skład kwasów tłuszczowych w tłuszczu nasion, podobnie jak w orzechach, w postaci udziału procentowego poszczególnych grup kwasów oraz wybranych pojedynczych kwasów tłuszczowych w sumie wszystkich oznaczonych kwasów tłuszczowych. Nasycone kwasy tłuszczowe w badanych nasionach zawarte były w granicach od 11,01% (nasiona lnu) do 19,61% sumy KT (nasiona dyni). Kwasy nasycone dominującym we wszystkich badanych nasionach, podobnie jak w orzechach, był kwas C16-palmitynowy. Udział kwasów jednonienasyconych był w badanym materiale bardzo zróżnicowany w zależności od gatunku badanych nasion i mieścił się w zakresie: 18,85–41,51% sumy KT. Najniższe ilości tych kwasów stwierdzono w nasionach maku i lnu, natomiast najwyższe w nasionach sezamu i dyni. W tej grupie kwasów największy udział miał kwas oleinowy C18:1; n9, który np. w nasionach sezamu wynosił 41,51% sumy wszystkich kwasów tłuszczowych. Udział oznaczanych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych był istotnie wyższy w nasionach lnu i wynosił 68,32% co dorównywało udziałowi tych kwasów w orzechach włoskich. W pozostałych gatunkach nasion udział tej grupy kwasów był także wysoki ale mniej zróżnicowany niż w badanych orzechach i mieścił się w granicach: 40,85–66,97% sumy KT. Rodzinę n6 kwasów wielonienasyconych reprezentował kwas linolowy C18:2; n6 *cis*, natomiast rodzinę n3 – kwas alfa-linolenowy C18:3; n3 *cis*. Kwas linolowy największy udział w sumie kwasów tłuszczowych miał w nasionach: maku i słonecznika, natomiast najmniejsze jego ilości stwierdzono w nasionach lnu. Kwas alfa-linolenowy miał najwyższy udział procentowy w sumie kwasów w tłuszczu nasion lnu – 53,10%, natomiast w wszystkich pozostałych jego ilości były istotnie niższe i mieściły się w zakresie od 0,11% (nasiona maku) do 0,31% (nasiona dyni).

Tabela III. Skład kwasów tłuszczowych w tłuszczu nasion jadalnych (% sumy wszystkich kwasów)

Table III. Fatty acid content in seeds (% of total fatty acids)

Kwasy tłuszczowe	Nasiona słonecznika	Nasiona dyni	Nasiona sezamu	Nasiona maku	Nasiona lnu
	$\bar{x}_{sr} \pm SD; n=6$				
C 18:1n9c	21,77 ^a ± 2,26	29,14 ^b ± 4,86	39,26 ^c ± 1,22	16,94 ^a ± 1,63	17,60 ^a ± 1,49
C18:2n6 c	64,01 ^d ± 2,73	48,52 ^c ± 3,48	40,56 ^b ± 1,32	66,87 ^d ± 1,80	15,22 ^a ± 2,45
C 18:3 n3	0,19 ^a ± 0,02	0,31 ^a ± 0,15	0,29 ^a ± 0,07	0,11 ^a ± 0,02	53,10 ^b ± 3,92
Pozostałe kwasy	13,63 ^a ± 1,74	21,58 ^d ± 2,45	19,37 ^c ± 1,24	15,88 ^b ± 0,81	13,22 ^a ± 1,17
Σ SFA	11,94 ^{ab} ± 0,76	19,61 ^d ± 1,11	16,97 ^c ± 0,58	13,15 ^b ± 0,35	11,01 ^a ± 0,90
Σ MUFA	23,35 ^a ± 2,58	30,98 ^b ± 4,62	41,51 ^c ± 1,21	19,48 ^a ± 1,66	18,85 ^a ± 1,46
Σ PUFA	64,20 ^c ± 2,73	48,82 ^b ± 3,57	40,85 ^a ± 1,37	66,97 ^c ± 1,80	68,32 ^c ± 2,36
Σ n6 PUFA	64,01 ^d ± 2,73	48,52 ^c ± 3,48	40,56 ^b ± 1,32	66,87 ^d ± 1,80	15,22 ^a ± 2,45
Σ n3 PUFA	0,19 ^a ± 0,02	0,31 ^a ± 0,15	0,31 ^a ± 0,11	0,11 ^a ± 0,02	53,10 ^b ± 3,92
Σ FA trans	0,12 ^a ± 0,06	0,13 ^a ± 0,02	0,14 ^a ± 0,06	0,19 ^a ± 0,12	0,96 ^b ± 0,42

Legenda: jak w tab. II

Zawartość zarówno poszczególnych kwasów tłuszczowych, jak i grup kwasów nasyconych, jednonienasyconych oraz wielonienasyconych jest zależna głównie od gatunku orzechów i nasion oraz strefy klimatycznej z jakiej pochodzą. Przegląd wyników różnych badań (6, 7, 14, 15) i porównanie ich z wynikami uzyskanymi w niniejszej pracy wskazuje jednak, że najczęściej różnice te nie są istotne statystycznie. Niewielu autorów wykazuje w składzie kwasów tłuszczowych obecność izomerów *trans* nienasyconych kwasów tłuszczowych co może wynikać z badania tylko świeżych produktów lub z warunków analizy. W niniejszej pracy badano skład orzechów i nasion w okresie ich przydatności do spożycia w postaci wysuszonej. Udział sumy izomerów *trans* w stosunku do sumy wszystkich kwasów tłuszczowych był w orzechach na ogół niski i z wyjątkiem orzechów piniowych nie przekraczał 0,1%. W badanych nasionach natomiast zawartość tych izomerów była wyższa niż w orzechach i mieściła się w zakresie 0,19–0,96% sumy KT. Obecność tych nienaturalnych związków jest prawdopodobnie skutkiem stosowanej obróbki cieplnej przy suszeniu tych produktów. Podobne wyniki zawartości izomerów *trans* uzyskano w badaniach zawartości różnych składników w orzechach i nasionach uprawianych w Grecji (15).

Podkreślić należy, że orzechy i nasiona swój korzystny wpływ na organizm zawdzięczają nie tylko jedno i wielonienasyconym kwasom tłuszczowym, ale także wielu innym prozdrowotnym składnikom w nich zawartym. Spośród nich istotne funkcjonalne znaczenie mają: tokoferole, karotenoidy, witaminy z grupy B, składniki mineralne: magnez, wapń, żelazo, fosfor oraz fitosterole, resweratrol, fenolokwasy, związki terpenowe, taniny i wiele innych. Białka zawarte w orzechach w ilościach od 10 do 20% oraz glikoproteidy o masie cząsteczkowej od kilku do kilkudziesięciu kilodaltonów, oprócz wzbogacania diety w ten składnik, mogą u osób z nadwrażliwością wywoływać reakcje alergiczne, najczęściej IgE-zależne (10, 11, 16).

WNIOSKI

1. Skład kwasów tłuszczowych wszystkich badanych orzechów i nasion odznaczał się wysoką zawartością egzogennych kwasów tłuszczowych, a ich ilość była zróżnicowana gatunkowo.
2. Najbogatszymi źródłami kwasów jednonienasyconych są orzechy: laskowe, makadamia i nerkowca oraz nasiona: sezamu i lnu.
3. Najbogatszymi źródłami kwasów tłuszczowych wielonienasyconych są orzechy: włoskie, brazylijskie i pinii oraz nasiona: lnu, maku i słonecznika.
4. Najkorzystniejszy dla zdrowia stosunek nienasyconych kwasów tłuszczowych n6/n3 stwierdzono w orzechach włoskich.

J. Biernat, M. Drzewicka, K. Łoźna, J. Hyla,
M. Bronkowska, H. Grajeta

CONTENT OF FATTY ACIDS IN COMMERCIALY AVAILABLE NUTS AND SEEDS
IN THE CONTEXT OF HEALTHY DIETARY GUIDELINES

Summary

The aim of this study was to determine the content of the fatty acids in nuts and seeds currently available commercially. The fat extracted from nuts and seeds was characterized by high content of polyunsaturated fatty acids (nuts: 8.53%-68.58%; seeds: 15.22%-66.97% and monounsaturated fatty acids (nuts 21.47%-79.81%; seeds: 18.85%-41.51%) and low content of saturated fatty acids (nuts: 11.08%-24.40%; seeds: 11.01%-19.61%). Hazelnuts, macadamia and cashew nuts and sesame and pumpkin seeds were the richest sources of monounsaturated fatty acids. The highest amounts of polyunsaturated fatty acids were found in walnuts and Brazilian nuts, and flax, poppy and sunflower seeds.

PIŚMIENNICTWO

1. *Willet W., Skerrett P.*: Eat, drink and be healthy. Simon & Schuster Inc. 2005. – 2. United States Department of Agriculture: My Pyramid 2005. <http://www.mypyramid.gov/>. – 3. *Całyniuk B., Grochow-ska-Niedworok E., Bialek A., Czech N., Kukielczak A.*: Piramida żywieniowa – wczoraj i dziś. Probl. Hig. Epidemiol., 2011; 92(1): 20-24. – 4. *Kłosiewicz-Latoszek L.*: Zalecenia żywieniowe w prewencji chorób przewlekłych. Probl. Hig. Epidemiol., 2009; 90(4): 447-450. – 5. *Jarosz M., Bulhak-Jachymczyk B.* (red.): Normy żywienia człowieka. Wydawnictwo Lekarskie PZWL. 2008. – 6. *Maquire L.S., O'Sullivan, S.M., Galvin K., O'Connor T.P., O'Brien N., M.*: Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and the macadamia nut. Int. J. Food Sci. Nutr. 2004; 55(3): 171-178. – 7. *Kaijser A., Dutta P., Savage G.*: Oxidative stability and lipid composition of macadamia nuts grown in New Zealand. Food Chem. 2000; 71: 67-70. – 8. *Borecka W., Walczak Z., Starzycki M.*: Orzech włoski (*Juglans regia* L.) – naturalne źródło prozdrowotnych składników żywności. Nauka Przyr. Technol. 2013; 7(2): 1-7. – 9. *Ciemińska H., Ratusz K.*: Charakterystyka orzechów laskowych trzech odmian leszczyny uprawianej w Polsce. Rośliny oleiste – Oilseed Crops. 2012; 33: 273-283. – 10. *Almaro R.U., Vonghavaravat V., Wong R., Kasim-Karakas E.K.*: Effects of walnut consumption on plasma fatty acids and lipoproteins in combined hyperlipidemia. Am. J. Clin. Nutr. 2001; 74: 72-79.
11. *Kris-Etherton P. M., Hu F.B., Sabate J.*: The role of tree nuts and peanuts in the prevention of coronary heart disease: multiple potential mechanisms. J. Nutr. 2008; 138: 1746S-1751S. – 12. *Ros E., Mataix J.*: Fatty acid composition of nuts – implications for cardiovascular health. Brit. J. Nutr. 2006; 96(supl.2): S29-S35. – 13. *Jiang R., Manson J.E., Stampfer M.J., Liu S., Willet W.C., Hu F.B.*: Nut and peanut butter composition and risk of type 2 diabetes in women. JAMA. 2002; 288(20): 2554-2560. – 14. *Kim J.K., Shin E.-Ch., Kim Ch. R., Park G.G., Choi S.J., Cho H.Y., Shin D.H.*: Composition of fatty

acids in commercially available tree nuts and their relationship with protective effects against oxidative stress – induced neurotoxicity. *Food Sci. Biotechnol.* 2013; 22(4): 1097-1104. – 15. *Kalogeropoulos N., Chiou A., Ioannou M. S., Karathanos T.*: Nutritional evaluation and health promoting activities of nuts and seeds cultivated in Greece. *Int. J. Sci. Nutr.* 2013; 64(6): 757-767. – 16. *Flaczyk E., Kobus-Cisowska J.*: Znaczenie orzechów w żywieniu człowieka. *Przem. Spoż.* 2010; 64(1): 26-29.

Adres: 51-630 Wrocław, ul. Chełmońskiego 37/41

Lidia Łyczko, Zbigniew Walczak, Michał Starzycki

FATTY ACID PROFILE AND FAT CONTENT IN SELECTED TYPES OF MUSTARDS

Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Koszalin
Chief: prof. dr hab. *J. Lewosz*

The were evaluated fat and cis of fatty acids (C16:0, C18:0, C18:1, C:18:2, C18:3, C20:1, C22:1) content in total fatty acids of mustards. It were studied mustards with a significant degree of fragmentation. Total fat was determined by Soxhlet method. Fatty acid profile was determined by gas chromatography method. The obtained data were statistically analysed with use Statistica 10 method of analysis of concentrating. It was found that fatty acids are inhomogeneous in analysed mustards. Fat content was on average 3,99%, SFA participation were on average 5,86%, PUFA participation were on average 26,07% and erucic acid participation was on average 12,95%. Fatty acids $\omega 6/\omega 3$ proportions were in accordance with current nutritional recommendations. Low fat and saturated fatty acids content, high polyunsaturated fatty acids content and appropriate proportions $\omega 6/\omega 3$ make mustards specific functional product.

Key words: mustard, fat, fatty acids, quality.

Słowa kluczowe: musztarda, tłuszcz, kwasy tłuszczowe, jakość.

Maintaining the high quality is particularly important in case of food. The food should not only be appealing in terms of taste, smell and look but also be healthy and have proper nutritional values. Condiments are also considered food and are used to impart or enhance flavour, aroma and colour of a dish they are added to. They can also influence the digestive system as well as have antibacterial, antifungal and antioxidant properties (1).

Mustard is a condiment with its main ingredient being seeds of white, black and brown mustard. The mustard is prepared by mixing and grinding the seeds and adding vinegar, salt, sugar and other spices. There are lots of types of mustard that differ in species of the seed, the degree of grinding and other ingredients, to mention some of them: sarepska (brown Indian mustard), kremska (semi-sweet white mustard), dijon (dijon mustard), francuska (French mustard), bawarska (sweet/Bavarian mustard), angielska (English mustard), delikatesowa (Gourmet/Yellow mustard), jerozolimska stołowa (mild mustard), węgierska (spicy mustard), rosyjska (Russian mustard), miodowa (honey mustard) and chrzanowa (horseradish mustard) (2, 3, 4, 5).

The origins of mustard date back to the ancient Rome. The mustard production method has hardly changed despite its 2000 years of history and the fact that it evolved from powder into a thick sauce of a significant stickiness (3, 4, 6). In the beginning mustard was mainly used as a medicine and later also as a meat seasoning. First mus-

tard factories in Poland were established at the turn of the 19th and 20th centuries. The National Mustard Museum was built in year 1992 in Hount Herb (Wisconsin) and in 2009 it has been relocated to Madison (Wisconsin). The Museum has a large collection of about 550 mustards from 50 different countries.

Apart from its smell and taste, mustard is also said to have medical properties (it prevents constipation and digestive disorders due to its high dietary fiber content). Mustard contains, antioxidants, which enhance brain functions; it is also rich in potassium that has beneficial influence on the nervous system (7). Another advantage is mustard's antibacterial and cleansing properties as well as the ability to lower the blood pressure. Curcumin is a food colouring and can be found in many types of mustard. It is an antioxidant and therefore it prevents skin aging and cancer; it has strong antibacterial, antifungal and anti-inflammatory properties (8). The glucosinolates that occur in mustard seeds also have healthful properties. The decay products of glucosinolates (isothiocyanates and indoles) influence the excretion and neutralization of carcinogens and mutagens by inducing enzymatic systems Phase I and Phase II of xenobiotic metabolism. However, there are also negative results of the products of decay of glucosinolates: toxic allyl isothiocyanates (in the seeds of black and brown Indian mustard), p-hydroxybenzyl isothiocyanate (in white mustard) and other derivatives can cause skin and intestine epithelium irritation, bronchitis, pneumonia, diarrhoea, miscarriage as well as have a negative effect on heart and kidney functions (9, 10).

Although there is a wide array of mustards, the most popular in Poland are just a few of them: brown Indian mustard and during the summer season – the ones that are suitable for barbecue. The production of mustard in 2010 in Poland amounted to 37.936 tons (11, 12).

The aim of this paper is to assess the fatty acids profile in selected types of mustards.

MATERIALS AND METHODS

The subject of the analysis (11 types of mustard available on the Polish market) was bought in November of 2011 in one of the supermarkets in Koszalin. All the products were fit for the consumption at the day of their purchase with the expiry date due in at least several months. The containers were clean, damage-free and bore no signs of having been opened before.

The subject of the analysis were the following mustards: 6 brown Indian mustards, 1 brown Indian gourmet mustard, 1 mild gourmet mustard, 2 gourmet mustards and 1 semi-sweet white mustard. The chosen condiments are made of finely grinded seeds (those made of whole seeds were deliberately avoided). The mustards are of two main types: 'popular' and 'gourmet'. It were studied mustards with a significant degree of fragmentation.

The analysed mustards were marked as follows: V1 – gourmet popular mustard, V2 – hot brown Indian mustard, V3 – hot brown Indian mustard, V4 – brown Indian mustard (new traditional recipe), V5 – (mild) gourmet mustard, V6 – semi-sweet white mustard, V7 – brown Indian popular mustard, V8 – brown Indian mustard, V9 – gourmet mustard, V10 – brown Indian mustard, V11 – gourmet mustard.

The fat content has been marked using the Soxhlet method (13) 3 times for each analysed sample. The analysis of the fatty acids composition has been carried out applying the gas chromatography. The fat was extracted from mustards using hexane. The esterification was performed using the alkaline methanolysis. The separation of fatty acid methyl esters (FAME) was performed using Hewlett Packard Gas Chromatograph 5890 (30m tubular column [RTX-225], hydrogen as a carrier gas [0.4 bar], temperature of a dispenser: 220°C, temperature of the detector: 300°C). The fatty acids identification was based on the retention time of fatty acid methyl esters mixture of a known composition (Wipol standard). In order to carry out the quantitative analysis, the sum of the chosen fatty acids (the ones with the highest percentage) was assumed to be 100% and the percentage of each of them was expressed as percentage by weight.

In the analysed mustards the following *cis* fatty acids have been marked: palmitic acid (C16:0), stearic acid (C18:0), oleic acid (C18:1), linoleic acid (C18:2), α -Linolenic acid (C18:3), eicosenoic acid (C20:1) and erucic acid (C22:1). The marking has been repeated 3 times. The results underwent the statistical analysis applying the Ward's method (minimum variance criterion minimizes the total within-cluster variance) using the Statistica Version 10.

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the cluster analysis using Ward's method are shown in the picture 1. According to the analysis (Ward's method) of the fatty acids composition, the least homogeneous mustards (among the analysed types) are: V1 (gourmet popular mustard) and V10 (brown Indian mustard). The main differentiating factor was the percentage of oleic and erucic acids. The most homogeneous mustards proved to be V7 (brown Indian popular mustard) and V5 (mild gourmet mustard).

There are 4 groups comprising relatively homogeneous elements (with the bond distance <10). To the first group belong V10 (brown Indian mustard) and V9 (brown Indian gourmet mustard), to the second: V6 (semi-sweet white mustard) and V3 (hot brown Indian mustard), the third group consists of V11 (gourmet mustard) and V2 (hot brown Indian mustard) and the fourth is represented by V7 (popular brown Indian mustard), V5 (mild gourmet mustard), V8 (brown Indian mustard), V4 (brown Indian traditional mustard) and V1 (popular gourmet mustard) with V7 and V5 being the least homogeneous and V7 and V1 being the most homogeneous. The main differentiating factor was the percentage of erucic and oleic acids. The percentage of the rest of the acids is little diverse.

Fats play a crucial role in a human body. They are concentrated energy source (9 kcal/1g) and taste carriers. Fats also help in swallowing food, building cell membranes, they prevent from heat loss, determine the position of inner organs, provide with essential fatty acids (EFAs) that are essential for producing hormones, they are also a carrier of fat-soluble vitamin A, D and K (14; 15). Therefore the insufficient consumption of fats may result in diseases and vitamin A, D, E, K as well as EFAs deficiency (16). However, the excess of fats and lack of physical activity may cause overweight and obesity. It is recommended that the fats meet 20%-35% of the daily requirements for energy (depending on the age, weight and amount of physical effort) (17).

The percentage of fats in the analysed mustards was about 3,99%. The mustard that contains the most significant amount of fats is V8 (brown Indian mustard) – 5.1%, and the one that contains the least is V5 (gourmet mustard) – 3.1%.

The percentage of each fatty acid is shown in Table I. The differences within the groups were slight if taking into account the type of the mustard.

The saturated fatty acids (SFAs) are the main source of energy. The excessive SFA consumption correlates with the increase of low-density lipoproteins in blood that leads to cardiovascular diseases (18). The dietary guidelines allow <10% RDA of SFA. The analysis proved that the percentage of SFAs in analysed mustards amounts to 5.86%. The lowest SFA percentage represents V11 (gourmet mustard) – 4.9% and the highest was found in V4 (brown Indian traditional mustard) – 6.7%. The palmitic acid (C16:0) was the dominant.

Table I. Fat and fatty acids content in analysed mustards and proportion $\omega 6/\omega 3$

Tabela I. Zawartość tłuszczu i kwasów tłuszczowych w analizowanych musztardach oraz stosunek $\omega 6/\omega 3$

Sample	C16:0 (%)	C18:0 (%)	C18:1 (%)	C18:2 (%)	C18:3 (%)	C20:1 (%)	C22:1 (%)	Fat (%)	$\omega 6/\omega 3$
V 1	4,5 ±0,35	1,9 ±0,1	59,1 ±1,51	10,4 ±0,87	14,6 ±0,68	3,3 ±0,64	6,2 ±0,78	4,1 ±0,56	0,71:1
V 2	3,6 ±0,37	1,4 ±0,17	36,3 ±1,75	14,7 ±0,48	11,7 ±0,69	7,7 ±0,78	24,6 ±2,41	3,8 ±0,67	1,25:1
V 3	4,1 ±0,24	1,7 ±0,30	49,5 ±2,13	13,6 ±0,72	14,4 ±0,78	5,3 ±0,25	11,4 ±1,21	3,2 ±0,78	0,94:1
V 4	4,9 ±0,87	1,8 ±0,25	56,9 ±3,14	13,6 ±0,68	15,5 ±1,21	2,9 ±0,36	4,4 ±0,48	3,6 ±0,85	0,87:1
V 5	4,5 ±1,0	1,8 ±0,41	55,5 ±2,88	10,0 ±0,76	15,8 ±1,74	5,4 ±0,45	7,0 ±0,87	3,1 ±0,94	0,63:1
V 6	4,2 ±0,48	1,8 ±0,13	49,8 ±3,36	9,3 ±0,69	15,4 ±0,98	7,9 ±0,87	11,6 ±1,21	3,8 ±0,74	0,60:1
V 7	4,5 ±0,64	1,7 ±0,14	55,9 ±3,78	10,4 ±1,0	16,0 ±0,58	4,1 ±0,45	7,4 ±0,34	4,7 ±0,48	0,65:1
V 8	4,4 ±0,52	1,8 ±0,18	56,0 ±4,51	12,6 ±1,21	12,6 ±1,64	4,0 ±0,62	7,9 ±0,78	5,1 ±0,85	1:1
V 9	4,0 ±0,35	1,6 ±0,20	44,4 ±3,91	13,5 ±0,87	13,3 ±1,74	7,0 ±0,34	16,2 ±1,52	4,4 ±0,48	1,01:1
V 10	3,8 ±0,75	1,6 ±0,14	42,8 ±4,2	15,5 ±1,58	11,2 ±1,28	6,8 ±0,64	18,3 ±1,74	4,3 ±0,67	1,38:1
V 11	3,6 ±0,54	1,3 ±0,10	36,8 ±2,7	11,4 ±1,41	11,3 ±1,64	8,1 ±0,98	27,5 ±2,67	3,8 ±0,47	1:1

The percentage of monounsaturated fatty acids (MUFAs) in analysed mustards amounts to 68%. MUFAs can be used as an energy source and oleic acid (C18:1), which belongs to that group, has a beneficial influence on health by lowering the level of cholesterol in blood (19). It is even recommended so that they meet the 25% of requirements for energy (20). The highest level of MUFAs was found in V1 (popular gourmet mustard) – 59.1% and the lowest (12.3%) in V2 (hot brown Indian mustard).

Traces of erucic acid (C22:1) have been found in each of the analysed products with its highest percentage (27.5%) in V11 (gourmet mustard) and lowest (4.4%) in V4 (brown Indian traditional mustard). In 2003 the Food Standards Australia (21) established the PTDI (Provisional Tolerable Daily Intake) of erucic acid [500mg/day] due to the concern of its adverse effect to the heart. The eicosenoic acid (C20:1) had the slightest impact on the percentage of MUFAs of all analysed mustards, with its percentage being 5.68%. Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) determine the fat nutrition value. They (all combined) should provide up to 10% RDA of energy (out of which 4-8% should come from omega-6 and 2% from omega-3) (20). PUFAs can be classified in various groups with two of them being ω -6 (C18:2) and ω -3 (C18:3). Their percentage in analysed mustards was at the level of 26.07%. The lowest level (22.7%) of PUFAs has been found in V10 (brown Indian mustard), yet the highest (29.1%) in V3 (hot brown Indian mustard). Fat acid ω -6 (C18:2) has a beneficial impact on the cardiovascular system. The lowest amount (9.3%) of linoleic acid (C18:2) was found in V6 (semi-sweet white mustard), the highest (15.5%) was found in V10 (brown Indian mustard). The α -Linolenic acid (C18:3) is a MUFA belonging to the ω -3 group and has a beneficial impact on immunological system, thrombocytes, tissues of smooth muscles, endothelium, liver and heart as well as on osteoblasts and nerve cells. It also has anti-inflammatory properties (14). The deficiency of the α -Linolenic acid may cause dermatitis, weakness of the nervous system and neurodegenerative diseases as well as the vision impairment. The highest percentage of α -Linolenic acid (ω -3) was found in V7 (popular brown Indian mustard) and the lowest (11.2%) in V10 (brown Indian mustard).

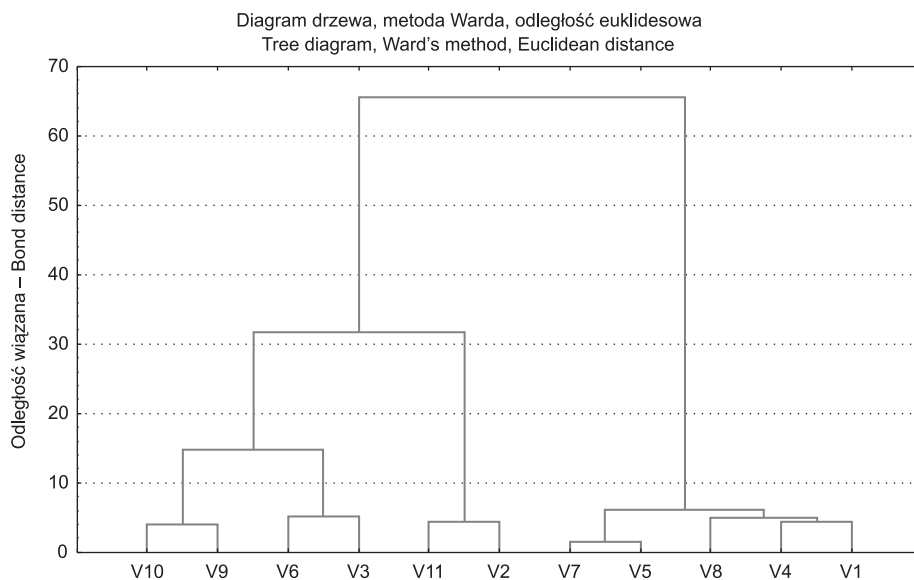


Fig. 1. Diagram of analysis of concentrating on the mustards studied made by the method of agglomeration (V1-V11 tab.I).

Ryc. 1. Diagram analizy skupień badanych musztard wykonany metodą aglomeracji (V1-V11 tab.I).

Polskie Forum Profilaktyki Układu Chorób Krążenia (Polish Organization for Prevention of Cardiovascular Diseases) (22) established the ω -6/ ω -3 ratio to be equal 4:1 or 5:1 due to the fact that nowadays people eat more and more highly processed foods thereby disturbing the ω -6/ ω -3 proportions in their diet. The recent studies show that such disproportion (excess of ω -6) may result in an inflammatory condition, allergy, proliferation of cancer cells and nipple, prostate and large intestine tumors, as well as cause the blood vessels to narrow (23). In all of the analysed mustards this ratio complies with the dietary guidelines and amounts to 0.91:1 (from 0.61:1 for V6 (semi-sweet white mustard) to up to 1.38:1 for V10 (brown Indian mustard). (Table I)

CONCLUSIONS

1. The analysed mustards vary in terms of the fatty acids percentage, showing that the mustard producers use different components.
2. Low fat, high polyunsaturated fatty acids content and appropriate proportions ω 6/ ω 3 make mustards specific functional product.

L. Łyczko, Z. Walczak, M. Starzycki

ZAWARTOŚĆ TŁUSZCZU ORAZ PROFIL KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W WYBRANYCH TYPACH MUSZTARD

Streszczenie

Oceniono zawartość tłuszczu oraz *cis* kwasów tłuszczowych (C16:0, C18:0, C18:1, C:18:2, C18:3, C20:1, C22:1) w sumie kwasów tłuszczowych wybranych typów musztard. Przebadano musztardy o znacznym stopniu rozdrobnienia. Zawartość tłuszczu oznaczono metodą Soxhleta, a profil kwasów tłuszczowych metodą chromatografii gazowej. Wykazano niejednorodność kwasów tłuszczowych w analizowanych musztardach. Zawartość tłuszczu wynosiła średnio 3,99%. Udział kwasów nasyconych wynosił średnio 5,86%, wielonienasyconych 26,07%, a kwasu erukowego 12,95%. Stosunek ω -6/ ω -3 we wszystkich analizowanych musztardach był zgodny z aktualnymi zaleceniami żywieniowymi. Niska zawartość tłuszczu, niski udział nasyconych kwasów tłuszczowych, wysoki udział wielonienasyconych kwasów tłuszczowych o odpowiednich proporcjach czyni musztardy specyficznym produktem o właściwościach funkcjonalnych

REFERENCES

1. Remiszewski M, Kulczak M., Jeżewska M., Korbas E., Czajkowska D.: Wpływ procesu dekontaminacji z zastosowaniem pary wodnej na jakość wybranych przypraw. ZNTJ., 2006; 3(48): 23-34. – 2. Juszcak L., Witczak M., Fortuna T., Banyś A.: Rheological properties of commercial mustards. J. Food. Eng., 2004; 63: 209-217. – 3. Sawicka B., Kotiuk E.: Evaluation on health safety of mustards in the aspect obligatory norms. Acta. Sci. Pol., Technol. Aliment., 2006; 5(2): 165-177. – 4. Sawicka B., Kotiuk E.: Evaluation of raw material for musztard production in middle-east Poland conditions. Nauka Przyr. #6. – 5. Vilmos R.: Rośliny przyprawowe i przyprawy węgierskiej kuchni. PWRiL, Warszawa, 1998; 4-26. – 6. Kotiuk E., Sawicka B., Karwowska M., Zmiany lepkości oraz wyróżników barwy musztardy w czasie przechowywania. Nauka Przyr. Technol., 2010; 4, 3, #40. – 7. Andraka I.: <http://www.sekretydiety.pl/dieta/albumwymieniownikow-50kcal/okazjonalny/rozne/musztarda> (dostępny 05.08.2013). – 8. Goel A., Kunnumakkara A., Aggarwal B.: Curcumin as “Curecumin”: From kitchen to clinic. Biochem. Pharmacol., 2008; 75(4):787-809. – 9. Lamy E., Schmitz S., Krumbein A., Mersch-Sundermann V.: Iso-

thiocyanate-containing mustard protects human cells against genotoxins in vitro and in vivo. *Mutat. Res.*, 2011; 726: 146-150. – 10. *Sawicka B., Kotiuk E.*: Gorczyce jako rośliny wielofunkcyjne. *Acta Sci. Pol., Agricultura.*, 2007; 6(2): 17-27.

11. *Rocznik Statystyczny Rzeczypospolitej Polski*. Główny Urząd Statystyczny, Warszawa, 2011. – 12. *Boruc R.* http://www.kotlin.com.pl/files/napisali_o_nas/artyluly_scany/Raport_PoradnikHandlowca_mazec2009.pdf (dostępny 05.08.2013). – 13. *Pn-En Iso 659:1999*. Nasiona oleiste. Oznaczanie zawartości oleju (Metoda odwoławcza). PKNMiJ, Warszawa. – 14. *Kolanowski W.*: Długołańcuchowe wielonienasycone kwasy tłuszczowe omega-3 – znaczenie zdrowotne w obniżaniu ryzyka chorób cywilizacyjnych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2007; 40(3): 229-237. – 15. *Krygier K.*: Olej rzepakowy – jego wartość żywieniowa i użytkowa. *Przem. Spoż.*, 2009; 7(63): 16-18. – 16. *Ostrowska L.*: Leczenie dietetyczne otyłości – wskazówki dla lekarzy praktyków. *Forum Zaburzeń Metabolicznych*. 2010; 1(1): 22-30. – 17. *Jarosz M.*: Normy żywienia dla populacji Polskiej – nowelizacja. *IŻŻ*, Warszawa, 2012; 44-58. – 18. *Ascherio A, Willett W.C.*: Health effects of trans fatty acids. *Am. J. Clin. Nutr.* 1997; 66(4 Suppl): 1006-1010. – 19. *Mińkowski K., Grześkiewicz S., Jerzewska M.*: Ocena wartości odżywczej olejów roślinnych o dużej zawartości kwasów linolenowych na podstawie składu kwasów tłuszczowych, tokoferoli i steroli. *ZNTJ.*, 2011; 2(75): 124–135. – 20. *Skoczyńska A.*: Znaczenie żywienia w leczeniu chorych z rozpoznaniem zespołu metabolicznego. *Endokrynologia Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii*. 2011; 7(1): 25-33.

21. *Food Standards Australia New Zealand*. 2003. Erucic acid In food: A Toxicological Review and Risk Assessment. Technical report series. – 22. *Krygier K.*: Współczesna margaryna – aspekty technologiczne i żywieniowe, WN-T, Warszawa, 2011: 21-29. – 23. *Cichosz G., Czczot H.*: Rzekomo zdrowe tłuszcze roślinne *Merk. Lek.* 2011; 31: 239-243.

Adres: 75-620 Koszalin, ul. Raławicka 15-17

Beata Paszczyk

KWASY TŁUSZCZOWE I IZOMERY *TRANS* W SERKACH TWAROGOWYCH DO SMAROWANIA PIECZYWA

Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
Kierownik: prof. dr hab. *E. Gujska*

Przedmiotem badań była ocena składu kwasów tłuszczowych, z uwzględnieniem nienasyconych kwasów tłuszczowych o konfiguracji trans w serkach twarogowych do smarowania pieczywa, dostępnych na rynku w Olsztynie.

Badane produkty odznaczały się zróżnicowaną zawartością tłuszczu oraz zróżnicowanym składem poszczególnych grup kwasów tłuszczowych krótkołańcuchowych, nasyconych, jednonienasyconych oraz wielonienasyconych. Wszystkie badane produkty zawierały izomery trans kwasu C18:1 i C18:2, a większość z nich zawierała też sprzężony kwas linolowy cis-9,trans-11 C18:2.

Słowa kluczowe: serki twarogowe, skład kwasów tłuszczowych, izomery *trans*, CLA.

Key words: cottage cheeses, fatty acids, *trans* isomers, CLA.

Tłuszcze pożywienia pod względem budowy chemicznej są to nierozpuszczalne w wodzie substancje organiczne, w większości triacyloglicerole (1). Głównym składnikiem triacylogliceroli są kwasy tłuszczowe, które stanowią ok. 95% wagowych cząsteczki triacyloglicerolu. Od składu kwasów tłuszczowych wchodzących w skład danego tłuszczu w największym stopniu zależą jego właściwości m.in. stan skupienia, szybkość ulegania procesom utleniania oraz wpływ tłuszczu na zdrowie człowieka (2). Kwasy tłuszczowe wchodzące w skład tłuszczu dzielą się na dwie zasadnicze grupy: nasycone i nienasycone. Kwasy nasycone spożywane w nadmiarze są niezdrowe, przede wszystkim podwyższają ryzyko miażdżycy, cukrzycy czy nadciśnienia tętniczego (3). Nienasycone kwasy tłuszczowe dzielą się na jednonienasycone i wielonienasycone. Jakość nienasyconych kwasów tłuszczowych zależna jest od stopnia nienasylenia oraz od położenia i konfiguracji geometrycznej wiązań nienasyconych wchodzących w ich skład. W zależności od ustawienia rodników w stosunku do osi wiązania podwójnego kwasy tłuszczowe mogą mieć konfigurację *cis* lub *trans* (1). Kwasy tłuszczowe w naturalnych tłuszczach roślinnych występują głównie w formie *cis*. W tłuszczach przetworzonych przemysłowo (uwodornionych) mogą znajdować się znaczne ilości izomerów *trans* nienasyconych kwasów tłuszczowych. W tłuszczach zwierzęcych kwasy o konfiguracji *cis* są dominujące, ale występuje w nich do kilku procent kwasów o konfiguracji *trans* (2). Ilość izomerów *trans* w tłuszczu mleka krowiego stanowi w zależności od pory roku od 2,01% do 6,54% (4). Niektóre z izomerów *trans*, zwłaszcza te które powstają podczas przemysłowego utwardzania

olejów mogą wpływać niekorzystnie na nasze zdrowie (5, 6). Z drugiej strony dominujący izomer *trans* kwasu C18:1 tłuszczu mlekowego, kwas wakcenyowy (*trans*-11 C18:1) posiada właściwości antynowotworowe i antymiażdżycowe (7). Obecny w tłuszczu mlekowym kwas linolowy o sprzężonym układzie podwójnych wiązań kwas *cis*-9, *trans*-11 C18:2 (CLA) odznacza się wieloma pozytywnymi dla zdrowia właściwościami (8, 9, 10, 11).

Spożywane przez człowieka izomery *trans* pochodzą głównie z uwodornionych tłuszczów roślinnych zawartych w margarynach i innych produktach, w niewielkich ilościach z tłuszczów zwierzęcych. Ważnym źródłem izomerów *trans* nienasyconych kwasów tłuszczowych oraz sprzężonego kwasu linolowego *cis*-9, *trans*-11 C18:2 (CLA) w diecie człowieka jest mleko oraz jego przetwory (masło, różne rodzaje serów czy mleczne napoje fermentowane).

Serek do smarowania pieczywa (twarogowy lub śmietankowy), pełnoziarniste pieczywo oraz dodatki np. pomidor, ogórek lub szczypiorek, jest nie tylko smacznym, ale również wartościowym pomysłem na śniadanie. Asortyment serków twarogowych do smarowania pieczywa obecnych w sklepach jest bardzo zróżnicowany. W ofercie znajdują produkty pochodzące od kilku, a nawet kilkunastu producentów, dodatkowo większość z nich występuje w kilku wariantach smakowych. Warto jednak bliżej przyjrzeć się składowi serków i wybrać ten najzdrowszy.

Stąd też, analiza składu kwasów tłuszczowych, ze szczególnym uwzględnieniem zawartości izomerów *trans* nienasyconych kwasów tłuszczowych w tłuszczu wydzielonym z serków twarogowych do smarowania pieczywa dostępnych na naszym rynku, była celem pracy.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły serki twarogowe przeznaczone do smarowania pieczywa dostępne na rynku w Olszynie. Przebadano 14 rodzajów serków twarogowych pochodzących od różnych producentów. Badane produkty zakupiono w sklepach detalicznych na terenie Olsztyna w okresie od stycznia do lutego 2013 r. Zakupiono po dwie próbki każdego rodzaju serka różniące się datą przydatności do spożycia. Łącznie przeanalizowano 28 produktów.

Do wydzielenia tłuszczu z badanych produktów zastosowano metodę Folcha (12).

Z wydzielonego tłuszczu przygotowywano estry metylowe wg metody IDF, stosując metanolowy roztwór KOH (13).

Skład kwasów tłuszczowych oznaczano metodą chromatografii gazowej (GC) na 100 m kolumnie kapilarnej z fazą stacjonarną CP Sil 88. Średnica kolumny 0,25 mm, grubości filmu 0,20 μm .

Oznaczenia przeprowadzano w następujących warunkach: temp. kolumny 60°C (przez 1 min) do 180°C, $\Delta t = 5^\circ\text{C}/\text{min.}$, temp. detektora 250°C, temp. dozownika 225°C, gaz nośny hel, przepływ gazu 1,5 cm^3/min , split: 100:1.

Udziały procentowe oznaczonych kwasów tłuszczowych przedstawiono w % masowych (jako procentowy udział poszczególnych kwasów tłuszczowych w stosunku do ogólnej ilości kwasów tłuszczowych). Wszystkie oznaczenia przeprowadzano w dwóch równoległych powtórzeniach. W programie Excel obliczono wartości średnie

wybranych grup kwasów tłuszczowych i oznaczonych izomerów *trans* nienasyconych kwasów tłuszczowych oraz odchylenia standardowe.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Łączy udział grup kwasów tłuszczowych (krótkołańcuchowych, nasyconych, jednonienasyconych i wielonienasyconych) tłuszczu wydzielonego z analizowanych serków twarogowych zamieszczono w tab. I. W tabeli podano też deklarowaną na opakowaniu zawartość tłuszczu w badanych serkach. Sumaryczną zawartość oznaczonych izomerów *trans* kwasu C18:1 i kwasu C18:2 oraz udział sprzężonego kwasu linolowego *cis*-9, *trans*-11 C18:2 (CLA) w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych tłuszczu badanych produktów przedstawiono na ryc. 1.

Analizowane serki twarogowe odznaczały się różnicowaną zawartością tłuszczu. Według deklaracji producentów tylko dwa serki (produkt nr 11 i produkt nr 12) spośród czternastu poddanych analizie zawierały tłuszcz w ilości poniżej 10%. W pozostałych dwunastu produktach tłuszcz stanowił od 12% (produkt nr 9, nr 10 oraz produkt nr 13) do 30% (produkt nr 14) (tab. I).

Tab e l a I. Zawartość tłuszczu i udział w nim poszczególnych grup kwasów tłuszczowych (% w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych) w tłuszczu badanych produktów

Table I. Fat content of the examined products and percentages of some groups of fatty acids (% of total fatty acids)

Numer produktu	Zawartość tłuszczu* (%)	Σ kwasów krótkołańcuchowych (C4–C10)	Σ kwasów nasyconych	Σ kwasów jednonienasyconych	Σ kwasów wielonienasyconych
		$\bar{x} \pm SD$			
1	21	8,70 ± 0,10	61,98 ± 1,03	26,39 ± 1,07	2,96 ± 0,06
2	26	1,22 ± 0,05	33,36 ± 0,09	45,88 ± 0,09	19,56 ± 0,16
3	18	7,97 ± 1,47	59,50 ± 1,39	29,29 ± 3,04	3,24 ± 0,18
4	13	8,02 ± 2,18	59,82 ± 1,83	28,26 ± 2,89	3,92 ± 1,10
5	29	1,22 ± 0,01	50,48 ± 0,27	39,89 ± 0,43	8,43 ± 0,70
6	26	1,92 ± 0,42	51,29 ± 1,07	38,88 ± 1,30	7,92 ± 0,18
7	29	8,37 ± 1,24	61,24 ± 3,22	26,78 ± 3,68	3,62 ± 0,80
8	25	1,59 ± 0,04	28,61 ± 1,46	49,05 ± 0,40	20,75 ± 1,08
9	12	8,23 ± 0,44	60,90 ± 0,95	27,81 ± 0,70	3,09 ± 0,68
10	12	3,13 ± 0,30	42,31 ± 0,45	40,85 ± 0,72	13,75 ± 0,57
11	8	7,57 ± 2,89	64,43 ± 1,90	24,92 ± 0,69	3,10 ± 0,28
12	9	8,70 ± 1,13	63,06 ± 0,60	25,31 ± 0,56	2,95 ± 0,03
13	12	7,37 ± 2,93	62,62 ± 1,52	26,58 ± 0,81	3,46 ± 0,59
14	30	8,86 ± 0,47	64,42 ± 0,01	24,08 ± 0,64	2,66 ± 0,19

* – deklarowana na opakowaniu

Zamieszczone w tab. I wyniki wskazują, że tłuszcz wydzielony z badanych serków twarogowych odznaczał się zróżnicowaną zawartością poszczególnych grup kwasów tłuszczowych. W jedenastu z czternastu analizowanych produktach w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych nasycone kwasy tłuszczowe występowały w ilości powyżej 50% (przedział od 50,48% (produkt nr 5) do 64,43% (produkt nr 11). W produktach tych jednonienasycone kwasy tłuszczowe występowały w ilości od 24,08% (produkt nr 14) do 39,89% (produkt nr 5), a łączny udział wielonienasyconych kwasów tłuszczowych kształtował się w przedziale od 2,66% (produkt nr 14) do 8,43% (produkt nr 5). Sumaryczna zawartość krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (C4 do C10) w tych produktach była bardzo zróżnicowana i wynosiła od 1,22% do 8,86% ogólnego składu kwasów tłuszczowych. W tłuszczu wydzielonym z pozostałych trzech ocenianych serków twarogowych (produkt nr 2, nr 8 oraz produkt nr 10) sumaryczna zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych kształtowała się od 28,61% do 42,31% (tab. I). Produkty te odznaczały się wyższą w porównaniu do pozostałych badanych serków zawartością nienasyconych kwasów tłuszczowych. Jednonienasycone kwasy tłuszczowe w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych stanowiły od 40,85% (produkt nr 10) do 49,05% (produkt nr 8). Łączny udział wielonienasyconych kwasów tłuszczowych kształtował się w przedziale od 13,75% (produkt nr 10) do 20,75% (produkt nr 8). Udział kwasów C4 do C10 w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych tych produktów wynosił od 1,22% do 3,13%.

Wszystkie analizowane twarożki zawierały w składzie kwasów tłuszczowych izomery *trans* kwasu C18:1 i izomery *trans* kwasu C18:2. Udział kwasu *cis*-9, *trans*-11 C18:2, CLA stwierdzono w dwunastu spośród czternastu badanych produktów (ryc. 1).

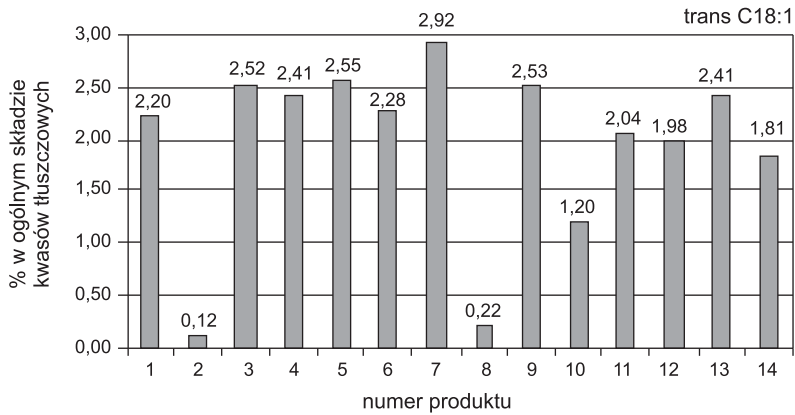
Udział oznaczonych izomerów *trans* kwasu C18:1 (izomerów *trans* 6-9, *trans* 10+11, *trans* 12 i *trans* 16) w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych tłuszczu badanych produktów kształtował się w przedziale od 0,12% (produkt nr 2) do 2,92% (produkt nr 7). W dwunastu z czternastu badanych twarożków w tej grupie izomerów, tak jak w tłuszczu mlekowym, dominowały izomery *trans* 10+11 C18:1. Dwa pozostałe produkty odznaczały się wysokim udziałem izomerów *trans* 6-9 C18:1.

Daniewski i współpracownicy w 1998 r. (14) określali skład kwasów tłuszczowych, w szczególności izomerów *trans* nienasyconych kwasów tłuszczowych w różnych produktach spożywczych. Autorzy badali m.in. różne rodzaje serów w tym serki do smarowania pieczywa Kraft. Analizowany przez autorów Kraft kremowy zawierał 2,54% izomerów *trans* kwasu C18:1, Kraft z szynką 2,64% tych izomerów, a Kraft ze szczypiorkiem 2,51%.

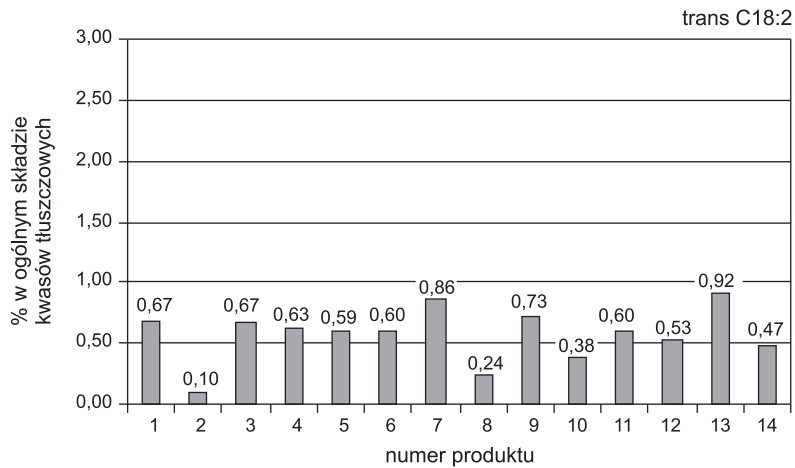
Łączna zawartość izomerów *trans* kwasu C18:2 w tłuszczu wydzielonym z badanych serków twarogowych kształtowała się w przedziale od 0,10% (produkt nr 2) do 0,92% ogólnego składu kwasów tłuszczowych (produkt nr 13) (ryc. 1 B). Serek Kraft z szynką badany przez *Daniewskiego* i współpracownicy (14) zawierał 0,16% tych izomerów, a ze szczypiorkiem 0,58%. W serku Kraft Kremowy autorzy nie stwierdzili obecności izomerów *trans* kwasu C18:2.

Udział sprzężonego kwasu linolowego (*cis*-9, *trans*-11) C18:2 w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych tłuszczu wydzielonego z badanych dwunastu serków kształtował się w przedziale od 0,08% (produkt nr 5) do 0,84% (produkt nr 7). Dwa badane serki twarogowe (produkt nr 2 oraz produkt nr 8) (ryc. 1.C) nie zawierały

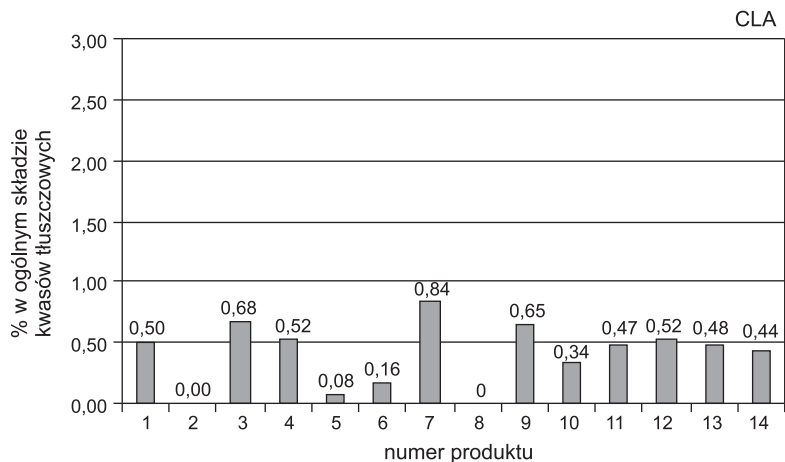
A



B



C



Ryc. 1. Zawartość izomerów (A) *trans* C18:1, (B) *trans* C18:2 i (C) CLA w tłuszczu badanych produktów.
 Fig. 1. Content of *trans* C18:1 (A), (B) *trans* C18:2 and CLA (C) in total fat of the examined products.

w swoim składzie sprzężonego kwasu linolowego. Kwas *cis-9, trans-11* C18:2 jest charakterystycznym kwasem tłuszczowym tłuszczu mlekowego. Kwas ten wykazuje szereg prozdrowotnych właściwości (8, 9). Jego udział w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych tłuszczu mlekowego kształtuje się w szerokich granicach zależnie od sposobu żywienia krów. Badania Żegarskiej i współpr. (15) wykazały, że udział CLA w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych tłuszczu z okresu żywienia oborowego kształtuje się w przedziale od 0,32% do 0,52%, a w tłuszczu z okresu żywienia pastwiskowego od 1,06% do 1,76%. Brak tego kwasu w składzie kwasów tłuszczowych tych produktów oraz wysoki udział jednonienasyconych i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (tab.I) może wskazywać na niewielki udział w nich tłuszczu mlekowego, a znaczny udział tłuszczu roślinnego.

PODSUMOWANIE

Przeprowadzone badania wykazały, że serki twarogowe do smarowania pieczywa dostępne na naszym rynku charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością tłuszczu, a także zróżnicowanym udziałem w nim poszczególnych grup kwasów tłuszczowych. Izomery *trans* kwasu C18:1 i C18:2 były obecne w tłuszczu wszystkich badanych serków twarogowych, ale ich ilości były niewielkie. Większość analizowanych produktów zawierała też kwas linolowy o wiązaniach sprzężonych (*cis-9, trans-11* C18:2, CLA).

B. Paszczyk

FATTY ACIDS AND *TRANS* ISOMERS IN BREAD SPREAD COTTAGE CHEESES

Summary

Determinations were carried out to evaluate the content of total fatty acids and *trans* unsaturated fatty acids in cottage cheeses marketed in Olsztyn.

The examined products were characterized by diverse fat content and varying proportions of groups of fatty acids: short-chain, saturated, monounsaturated and polyunsaturated. All tested products contained *trans* isomers of C18:1 and C18:2 acid, and most of them contained also conjugated *cis-9, trans-11* C18:2 linoleic acid.

PIŚMIENNICTWO

1. Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J.: Tłuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe. 1991. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa. – 2. Krygier K.: Podstawowa charakterystyka tłuszczów. Prz. Piekarski i Cukierniczy, 2003; 6-8. – 3. Ziemiański Ś.: Normy żywienia człowieka. Fizjologiczne podstawy. 2001. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa. – 4. Żegarska Z., Paszczyk B., Borejszo Z.: *Trans* fatty acids in milk fat. Pol. J. Food Nutr Sci., 1995; 5/46: 3, 89-97. – 5. Żebrowska A.: *Trans* kontra *cis*, cz.1. Bezpieczeństwo i Higiena Żywności. Rok 9, 50, 19-23. – 6. Górecka D.: Konsekwencje spożycia utwardzonych tłuszczów roślinnych. Prz. Mlecz., 1996; 207-209. – 7. Przybojewska B., Rafalski H.: Kwasy tłuszczowe występujące w mleku a zdrowie człowieka (cz. 4). Kwas wakcenyowy *cis* i *trans*. Prz. Mlecz., 2003; 9: 343-346. – 8. Cichosz G.: Prozdrowotne właściwości tłuszczu mlekowego. Prz. Mlecz. 2007; : 4-8. – 9. Żebrowska A., Bonczar G., Molik E.: Właściwości prozdrowotne tłuszczu mlekowego. Wiadomości Zootechniczne, R. XLVII, 200; 47(2): 19-23. – 10. Przybojewska B., Rafalski H.: Kwasy

tłuszczowe występujące w mleku a zdrowie człowieka. Sprzężony kwas linolowy (CLA). *Prz. Mlecz.*, 2003; 5: 173-175.

11. *Bialek A., Tokarz A.*: Sprzężone dieny kwasu linolowego jako potencjalny czynnik prewencyjny w profilaktyce nowotworów piersi. *Postępy Hig Med Doś.* 201; 67: 6-14. – 12. *Christie W.W.*: Lipid analysis. Isolation, separation, identification and structural analysis of lipids, Pergamon Press, Oxford: 1973: 39-40. – 13. IDF standard 182:1999. Milkfat: Preparation of fatty acid methyl esters. – 14. *Daniewski M., Mielniczuk E., Jacórzyński B., Pawlicka M., Balas J.*: Skład kwasów tłuszczowych, w szczególności izomerów *trans* nienasyconych kwasów tłuszczowych, w produktach spożywczych. *Żyw. Człow.*, 1998; 24(2): 133-155. – 15. *Żegarska Z., Paszczyk B., Rafałowski R., Borejszo Z.*: Annual changes in the content of unsaturated fatty acids with 18 carbon atoms, including *cis9trans11* C18:2 (CLA) acid, in milk fat. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2006; 15/56(4): 41-46.

Adres: 10-957 Olsztyn, Plac Cieszyński 1

Beata Paszczyk

OCENA PROFILU KWASÓW TŁUSZCZOWYCH ORAZ IZOMERÓW *TRANS* W SERACH TWAROGOWYCH

Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
Kierownik: prof. dr hab. *E. Gujska*

Przedmiotem badań była ocena składu kwasów tłuszczowych, z uwzględnieniem nienasyconych kwasów tłuszczowych o konfiguracji trans w serach twarogowych, dostępnych na rynku w Olsztynie. Oznaczenia przeprowadzono metodą chromatografii gazowej.

Badane produkty odznaczały się zróżnicowaną zawartością tłuszczu oraz zbliżonym składem poszczególnych grup kwasów tłuszczowych: krótkołańcuchowych, nasyconych, jednonienasyconych oraz wielonienasyconych. W tłuszczu wszystkich badanych produktów stwierdzono obecność izomerów trans kwasu C18:1 i C18:2 oraz sprzężonego kwasu linolowego cis-9, trans-11 C18:2 (CLA).

Słowa kluczowe: sery twarogowe, skład kwasów tłuszczowych, izomery *trans*, CLA.

Key words: curd cheeses, fatty acids, *trans* isomers, CLA.

Tłuszcze w naszym pożywieniu to zarówno tłuszcze widoczne np. masło, smalec, margaryna czy oleje roślinne, które stanowią około 45% w przeciętnym pożywieniu naszego społeczeństwa. Około 55% stanowią tłuszcze zawarte w różnych produktach spożywczych: mięsie, rybach, mleku i wyrobach mleczarskich (tłuszcze niewidoczne) (1). Tłuszcz zawarty w mleku i jego przetworach jest jego głównym składnikiem energetycznym. Odznacza się wysoką strawnością i dużą wartością odżywczą (2). Tłuszcz mlekowy należy do najbardziej skomplikowanych tłuszczów naturalnych (3). Charakterystyczną cechą tłuszczu mlekowego jest bardzo duże zróżnicowanie składu kwasów tłuszczowych (zawiera w swoim składzie ok. 400 kwasów tłuszczowych, z czego tylko ok. 15 występuje w ilości ponad 1% (4). Tłuszcz mlekowy jest tłuszczem bogatym w kwasy nasycone oraz odznacza się wysoką zawartością krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych. W skład nienasyconych kwasów tłuszczowych tłuszczu mlekowego wchodzi kwas jednonienasycony i wielonienasycony, które występują głównie w formie *cis*. W mniejszych ilościach spotykane są formy *trans* tych kwasów. W składzie kwasów tłuszczowych tłuszczu mlekowego występują kwasy, którym przypisuje się działanie biologicznie korzystne dla zdrowia człowieka, m.in. kwas masłowy, kwas oleinowy, kwas wakcenowy (*trans*-11 C18:1) czy kwas linolowy o sprzężonym układzie podwójnych wiązań *cis*-9, *trans*-11 C18:2 (CLA) o wielu prozdrowotnych działaniach (5-10).

Mleko i produkty mleczarskie: sery, jogurty, kefiry, twarogi i twarożki smakowe, desery mleczne należą do produktów często spożywanym. Twarogi spożywane są zarówno bezpośrednio oraz w formie przetworzonej (np. serniki, desery czy naleśniki z twarogiem). Oferta asortymentowa twarogów jest bardzo bogata i zróżnicowana. Na rynku możemy kupić twarogi pochodzące od różnych producentów, w różnych opakowaniach, odznaczające się m.in. zróżnicowaną zawartością tłuszczu. O jakości tłuszczu mlekowego zawartego w tych produktach w znacznym stopniu decyduje ilościowy skład poszczególnych kwasów tłuszczowych wchodzących w jego skład.

Celem pracy było oznaczenie składu kwasów tłuszczowych, ze szczególnym uwzględnieniem izomerów *trans* w tłuszczu wydzielonym z serów twarogowych tłustych dostępnych na naszym rynku.

MATERIAŁ I METODY

Badaniami objęto sery twarogowe tłuste. Badane produkty pochodziły od różnych producentów zakupione zostały w marketach na terenie Olsztyna. Twarogi zakupiono w dwóch partiach. Pierwszą w grudniu 2012 r. Drugą partię takich samych produktów zakupiono w lutym 2013 r. Przebadano 14 rodzajów serów twarogowych; wszystkie produkty badano w okresie ich przydatności do spożycia.

Tłuszcz z badanych produktów wydzielano za pomocą metody *Folcha* (11). Estry metylowe kwasów tłuszczowych przygotowywano wg metody IDF (12).

Oznaczenie składu kwasów tłuszczowych przeprowadzono metodą chromatografii gazowej (GC) na 100 m kolumnie kapilarnej z fazą stacjonarną CP Sil 88. Średnica kolumny 0,25 mm, grubości filmu 0,20 μm .

Oznaczenia przeprowadzono w następujących warunkach: temp. kolumny 60°C (przez 1 min) do 180°C, $\Delta t = 5^\circ\text{C}/\text{min.}$, temp. detektora 250°C, temp. dozownika 225°C, gaz nośny hel, przepływ gazu 0,8 cm^3/min , split: 100:1.

Identyfikację pików kwasów tłuszczowych i izomerów *trans* kwasów tłuszczowych przeprowadzono przez porównanie z czasami retencji wzorców estrów metylowych kwasów tłuszczowych firmy Sigma i Supelco oraz na podstawie danych literaturowych.

Udziały procentowe zidentyfikowanych kwasów tłuszczowych obliczano na podstawie integracji powierzchni pików dokonanych przez system komputerowy zestawu chromatograficznego i wyrażano jako procentowy udział poszczególnych kwasów tłuszczowych w stosunku do ogólnej ilości kwasów tłuszczowych (% masowy). Wszystkie oznaczenia przeprowadzono w dwóch równoległych powtórzeniach. Obliczono wartości średnie i odchylenie standardowe.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Zawartość tłuszczu oraz udział w nim poszczególnych grup kwasów tłuszczowych tłuszczu wydzielonego z badanych serów twarogowych podano w tab. I. Sumaryczną zawartość oznaczonych izomerów *trans* kwasu C18:1 i kwasu C18:2 oraz udział sprzężonego kwasu linolowego *cis*-9, *trans*-11 C18:2 (CLA) zamieszczono w tab. II.

Badane sery twarogowe tłuste odznaczały się zróżnicowaną zawartością tłuszczu. Dziewięć z czternastu badanych serów zawierało tłuszcz w ilości 8,0%. W pozostałych próbkach badanych twarogów zawartość tłuszczu była w przedziale od 8,5% (twaróg z Warmii) do 20,2% (twaróg Tesco).

Tab e l a I. Zawartość tłuszczu i udział w nim poszczególnych grup kwasów tłuszczowych (% w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych) w tłuszczu badanych produktów

Tab l e I. Fat content of the examined products and percentages of some groups of fatty acids (% of total fatty acids)

Numer produktu	Produkt	Zawartość tłuszczu* (%)	Σ kwasów krótkołańcuchowych (C4–C10)	Σ kwasów nasyconych	Σ kwasów jednonienasyconych	Σ kwasów wielonienasyconych
1	Piątnica	8,0	9,25 ± 0,41	62,12 ± 0,18	25,87 ± 0,59	2,76 ± 0,01
2	Milk Land	8,0	9,35 ± 0,21	62,81 ± 0,39	25,09 ± 0,11	2,76 ± 0,04
3	Mazurski Smak	8,0	8,60 ± 0,29	63,59 ± 0,03	24,91 ± 0,36	2,89 ± 0,04
4	Tesco	20,2	8,74 ± 0,77	61,13 ± 2,62	26,88 ± 2,71	3,25 ± 0,68
5	Somlek	8,0	8,26 ± 1,85	63,53 ± 1,68	25,24 ± 0,11	2,96 ± 0,05
6	Siedlce	8,0	8,21 ± 1,06	63,60 ± 0,32	25,38 ± 0,62	2,82 ± 0,13
7	Bieluch	8,0	8,13 ± 0,88	63,29 ± 1,32	25,47 ± 0,49	3,12 ± 0,06
8	Łowicki	9,2	8,53 ± 0,94	63,77 ± 1,40	24,69 ± 0,49	2,96 ± 0,10
9	Twaróg z Warmii	8,5	8,36 ± 1,09	63,54 ± 0,99	25,09 ± 0,04	2,99 ± 0,06
10	Real	10,1	7,97 ± 1,94	63,54 ± 0,41	25,68 ± 1,38	2,82 ± 0,16
11	Tip	8,0	9,19 ± 0,13	62,60 ± 0,21	25,20 ± 0,03	3,00 ± 0,06
12	Śmietankowy	12,6	8,82 ± 0,46	63,18 ± 0,33	25,54 ± 0,06	2,47 ± 0,08
13	Carrefour	8,0	9,06 ± 0,30	62,85 ± 0,19	25,30 ± 0,58	2,79 ± 0,10
14	Smakowity	8,0	9,54 ± 0,39	63,05 ± 0,34	24,73 ± 0,13	2,68 ± 0,08

* – deklarowana na opakowaniu

Zamieszczone w tab. I wyniki wskazują, że w tłuszczu badanych serów twarogowych dominowały nasycone kwasy tłuszczowe, co jest typowe dla tłuszczu mlekowego. Według danych literaturowych nasycone kwasy tłuszczowe w tłuszczu mlekowym stanowią ok. 64%, w tym głównie kwas palmitynowy, mirystynowy i stearynowy (3, 13). Udział tej grupy kwasów tłuszczowych w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych tłuszczu badanych produktów kształtował się w przedziale od 61,13% do 63,77%. Średnia zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych była na poziomie 63,04%. Kwasy nasycone reprezentowane były głównie przez kwas palmitynowy (C16:0), którego udział w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych tłuszczu wydzielonego z wszystkich badanych produktów wynosił ponad 30%. W tej grupie kwasów tłuszczowych w dużych ilościach występował też kwas mirystynowy (C14:0) stanowiący od 11,32% do 12,69% oraz kwas stearynowy (C18:0), którego zawartość wahała się w przedziale od 7,97% do 9,76% ogólnego składu kwasów tłuszczowych.

Udział krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (od kwasu C4 do C10) w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych tłuszczu wydzielonego z badanych serów twarogowych kształtował się w przedziale od 7,97% do 9,54% (tab. I). W tej grupie kwasów tłuszczowych w największej ilości występował kwas masłowy (C4:0) odznaczający się właściwościami przeciwnowotworowymi (5).

Jednonienasycone kwasy tłuszczowe w tłuszczu mlekowym stanowią ok. 30%, w tym głównie kwas oleinowy, którego udział w składzie jednonienasyconych kwasów tłuszczowych tłuszczu mlekowego wynosi ok. 87%. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe w tłuszczu mlekowym występują w ilości do ok. 5% (13). Tłuszcz wydzielony z badanych serów twarogowych odznaczał się zbliżonym udziałem jednonienasyconych kwasów tłuszczowych. Łączna zawartość tej grupy kwasów tłuszczowych w tłuszczu wydzielonym z analizowanych produktów była w przedziale od 24,69% do 26,88% (tab. I). Wśród kwasów jednonienasyconych w największej ilości występował kwas oleinowy (C18:1). Udział tego kwasu w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych kształtował się na poziomie od 17,39% do 20,31%. Kwasy wielonienasycone w tłuszczu wydzielonym z badanych serów twarogowych kształtowały się w przedziale od 2,47% do 3,25% (tab. I). W tej grupie kwasów dominował kwas linolowy (C18:2), stanowiąc od 1,14% do 2,13% w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych.

W tłuszczu wydzielonym z wszystkich badanych serów twarogowych stwierdzono obecność izomerów *trans* kwasu C18:1 i izomerów *trans* kwasu C18:2 oraz zawartość kwasu linolowego o wiązaniach sprzężonych (*cis*-9, *trans*-11 C18:2, CLA).

Wśród oznaczonych izomerów *trans* w tłuszczu wydzielonym z badanych twarogów największy udział miały izomery *trans* kwasu C18:1. W tej grupie izomerów zidentyfikowano izomery: *trans* 6–9, izomery *trans* 10+11, izomer *trans* 12 oraz izomer *trans* 16 C18:1. Sumaryczna zawartość tej grupy izomerów w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych kształtowała się w przedziale od 1,66% (Śmietankowy i Smakowity) do 2,31% (Tesco) (tab. II). W największej ilości, tak jak w tłuszczu mlekowym występowały izomery *trans* 10+11, które stanowiły od 0,87% do 1,70% ogólnego składu kwasów tłuszczowych.

Uzyskane wartości są zbliżone do zawartości izomerów *trans* w tłuszczu mlekowym pochodzącym z okresu żywienia oborowego badanym przez Żegarską i współpr. (14). Według badań tych autorów łączna zawartość izomerów *trans* kwasu C18:1 w tłuszczu mlekowym pochodzącym z okresu zimy była w przedziale od 1,26% do 1,84%. Wyższe zawartości tych izomerów stwierdzono w tłuszczu mlekowym pochodzącym z lata, od 3,57% do 5,37% w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych.

Ser twarogowy tłusty badany przez Daniewskiego i współpr. w 1998 r. (15) zawierał 3,35% izomerów *trans* kwasu C18:1, a ser twarogowy półtłusty 0,49% tych izomerów w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych.

Łączna zawartość izomerów *trans* kwasu C18:2 w tłuszczu wydzielonym z badanych serów twarogowych kształtowała się w przedziale od 0,47% (Smakowity) do 0,68% (twaróg z Warmii) (tab. II). Ser twarogowy tłusty badany przez Daniewskiego i współpr. (15) zawierał 0,75% tych izomerów, natomiast w serze półtłustym autorzy nie stwierdzili obecności izomerów *trans* kwasu C18:2. Według badań Żegarskiej i współpr. (14) zawartość izomerów *trans* kwasu C18:2 w tłuszczu mlekowym pochodzącym z zimy kształtuje się na poziomie od 0,29% do 0,61%, w tłuszczu mlekowym pochodzącym z lata od 0,65% do 1,19% ogólnego składu kwasów tłuszczowych.

Tab e l a II. Sumaryczna zawartość izomerów *trans* kwasu C18:1 i C18:2 oraz zawartość kwasu *cis-9, trans-11* C18:2 (CLA) w tłuszczu badanych produktów (% w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych)

Tab l e II. The total content of *trans* isomers of C18: 1 and C18: 2 and *cis-9, trans-11* C18:2 acid (CLA) in fat of the examined products (% of total fatty acids)

Numer produktu	Produkt	Σ <i>trans</i> C18:1	Σ <i>trans</i> C18:2	kwas <i>cis-9trans-11</i> C18:2 (CLA)
		$\bar{x} \pm SD$		
1	Piątnica	1,90 ± 0,01	0,55 ± 0,02	0,39 ± 0,01
2	Milk Land	1,92 ± 0,08	0,63 ± 0,02	0,43 ± 0,02
3	Mazurski Smak	1,95 ± 0,21	0,67 ± 0,00	0,44 ± 0,06
4	Tesco	2,31 ± 0,82	0,64 ± 0,08	0,45 ± 0,09
5	Somlek	1,99 ± 0,06	0,64 ± 0,01	0,46 ± 0,01
6	Siedlce	1,81 ± 0,25	0,56 ± 0,01	0,40 ± 0,01
7	Bieluch	2,02 ± 0,06	0,56 ± 0,03	0,43 ± 0,00
8	Łowicki	1,79 ± 0,01	0,59 ± 0,01	0,40 ± 0,04
9	Twaróg z Warmii	1,97 ± 0,04	0,68 ± 0,02	0,47 ± 0,00
10	Real	1,91 ± 0,20	0,58 ± 0,00	0,46 ± 0,02
11	Tip	1,91 ± 0,04	0,60 ± 0,00	0,45 ± 0,00
12	Śmietankowy	1,66 ± 0,01	0,49 ± 0,01	0,34 ± 0,01
13	Carrefour	1,88 ± 0,01	0,62 ± 0,01	0,42 ± 0,01
14	Smakowity	1,66 ± 0,00	0,47 ± 0,03	0,41 ± 0,10

Zawartość sprzężonego kwasu linolowego (*cis-9, trans-11*) C18:2 w tłuszczu wydzielonym z poddanych analizie serów twarogowych wynosiła od 0,34% (Śmietankowy) do 0,47% w ogólnym składzie kwasów tłuszczowych (twaróg z Warmii) (tab. II). Uzyskane wartości są zbliżone do zawartości CLA w tłuszczu mlekowym pochodzącym z okresu żywienia oborowego. Według Żegarskiej i współpr. (14) udział kwasu *cis-9, trans-11* C18:2 w tłuszczu z zimy kształtował się w przedziale od 0,32% do 0,52% ogólnego składu kwasów tłuszczowych. Tłuszcz mlekowy pochodzący z lata zawiera od 1,06% do 1,76% tego izomeru.

WNIOSKI

1. Z przeprowadzonych badań wynika, że sery twarogowe tłuste dostępne na naszym rynku charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością tłuszczu oraz zbliżonym składem poszczególnych grup kwasów tłuszczowych.

2. W ogólnym składzie kwasów tłuszczowych tłuszczów wszystkich badanych serów twarogowych dominowały nasycone kwasy tłuszczowe.

3. Wszystkie badane sery twarogowe zawierały izomery *trans* kwasu C18:1, izomery *trans* kwasu C18:2 oraz sprzężony kwas linolowy *cis-9, trans-11* C18:2 w ilościach zbliżonych do zawartości tych izomerów w tłuszczu mlekowym pochodzącym z zimy.

B. Paszczyk

EVALUATION OF FATTY ACID PROFILE AND *TRANS* ISOMERS OF THE CURD CHEESES

Summary

Studies were carried out to evaluate the fatty acid composition, including the content of *trans* unsaturated fatty acids, in curd cheeses available in market of Olsztyn. Determinations were carried out with the GC method.

The examined products were characterized by diversified fat content and similar composition of particular groups of fatty acids: short chain fatty acids, saturated, monounsaturated and polyunsaturated. Fat from all of examined products contained *trans* isomers of C18:1 and C18:2 acid and conjugated linoleic acid *cis*-9, *trans*-11 C18:2 (CLA).

PIŚMIENNICTWO

1. Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J.: Tłuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe. 1991. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa. – 2. Barłowska J., Litwińczuk Z.: Właściwości odżywcze i prozdrowotne mleka. Med. Wet., 2009; 65(3): 171-174. – 3. Jaworski J.: Studia porównawcze składu kwasów tłuszczowych tłuszczu mlekowego. Zesz. Nauk. ART. Olszt. Technol. Żyw. 1978; 13: 135-141. – 4. Jensen R.G.: The composition of bovine milk lipids. J. Dairy Sci., 2002; 85: 295-350. – 5. Cichosz G.: Prozdrowotne właściwości tłuszczu mlekowego. Prz. Mlecz. 2007; 5: 4-8. – 6. Żebrowska A., Banczar G., Molik E.: Właściwości prozdrowotne tłuszczu mlekowego. Wiadomości Zootechniczne, R., 2009; 47(2): 19-23. – 7. Przybojewska B., Rafalski H.: Kwasy tłuszczowe występujące w mleku a zdrowie człowieka. Sprzężony kwas linolowy (CLA). Prz. Mlecz., 2003; 5: 173-175. – 8. Przybojewska B., Rafalski H.: Kwasy tłuszczowe występujące w mleku a zdrowie człowieka (cz. 5). Skład izomerów pozycyjnych i geometrycznych nienasyconych kwasów tłuszczowych występujących w tłuszczu mlekowym. Prz. Mlecz., 2004; 1: 30-34. – 9. Pariza M.W.: CLA, a new cancer inhibitor in dairy products. Bull. IDF. 1991; 257: 29-30. – 10. Parodi P.W.: Cow's milk fat components as potential anticarcinogenic agents. J. Nutr., 1997; 1055-1059.
11. Christie W.W.: Lipid analysis. Isolation, separation, identification and structural analysis of lipids, Pergamon Press, Oxford: 1973: 39-40. – 12. IDF standard 182:1999. Milkfat: Preparation of fatty acid methyl esters. – 13. Szulc T.: Mleko Biologia Chemia Analiza. 2010. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. – 14. Żegarska Z., Paszczyk B., Rafałowski R., Borejszo Z.: Annual changes in the content of unsaturated fatty acids with 18 carbon atoms, including *cis*-9, *trans*-11 C18:2 (CLA) acid, in milk fat. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2006; 15/56(4): 41-46. – 15. Daniewski M., Mielniczuk E., Jacórzynski B., Pawlicka M., Balas J.: Skład kwasów tłuszczowych, w szczególności izomerów *trans* nienasyconych kwasów tłuszczowych, w produktach spożywczych. Żyw. Człow., 1998; 24 (2): 133-155.

Adres: 10-957 Olsztyn, Plac Cieszyński 1

Arkadiusz Telesiński, Maciej Płatkowski, Dorota Jadczyk¹⁾

WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE OWOCÓW WYBRANYCH ODMIAN DYNI PIŻMOWEJ (*CUCURBITA MOSCHATA* DUCH.)

Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii
Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie
Kierownik: dr hab. inż. *J. Wróbel*, prof. nadzw.

¹⁾ Katedra Ogrodnictwa
Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie
Kierownik: dr hab. inż. *D. Jadczyk*, prof. nadzw.

Celem pracy było porównanie zawartości niskocząsteczkowych antyutleniaczy oraz właściwości antyoksydacyjnych owoców czterech odmian dyni piżmowej: japońskiej 'Kurinishiki' F₁, włoskiej 'Butternut Rugosa', francuskiej 'Muscade de Provence' i bułgarskiej 'Muskatna'. Największą zawartość polifenoli ogółem, flawonoidów ogółem, karotenoidów ogółem, a także aktywność antyoksydacyjną, całkowitą pojemność antyoksydacyjną i siłę redukującą odnotowano w przypadku owoców odmiany japońskiej. Zawartość niskocząsteczkowych antyutleniaczy oraz właściwości antyoksydacyjne owoców odmiany włoskiej, francuskiej i bułgarskiej były wyraźnie niższe i zbliżone do siebie.

Słowa kluczowe: dynia piżmowa, flawonoidy, polifenole, karotenoidy, aktywność antyoksydacyjna.

Key words: butternut squash, flavonoids, polyphenols, carotenoids, antioxidant activity.

W Polsce znaczenie gospodarcze dyni jest obecnie niewielkie, chociaż w ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania uprawą tej rośliny, ponieważ daje ona duże plony i jest prosta w uprawie. Praktycznie znaczenie mają 3 gatunki – dynia piżmowa, dynia olbrzymia i dynia zwyczajna, w obrębie której można wyróżnić dynię makaronową, kabaczek, cukinię i patison (1).

Mięsz dyni jest znakomitym i w pełni docenianym komponentem dodawanym do różnych produktów dla dorosłych i dzieci. Owoce dyni działają łagodząco i regenerująco na przewód pokarmowy i wątrobę. Najbardziej cenione przez przemysł przetwórczy są odmiany dyni o pomarańczowym miąższu, zawierające dużo karotenu (głównie α i β). Wartość odżywcza owoców dyni jest wysoka, zależy jednak od gatunku i odmiany (2).

Karotenoidy są jedną z najważniejszych grup naturalnych barwników. Ich budowa nadaje im specjalne i wyjątkowe właściwości, dzięki którym mogą pełnić różnorodne funkcje we wszystkich żywych organizmach. Większość karotenoidów ma silne właściwości przeciwutleniające (3).

Kolejną ważną grupą o właściwościach przeciwutleniających są również związki polifenolowe. Są to metabolity wtórne roślin bardzo zróżnicowane pod względem struktury, masy cząsteczkowej oraz właściwości fizycznych, chemicznych i biologicznych (4). Obecnie znanych jest kilka tysięcy związków zaliczanych do naturalnych związków fenolowych, m.in. kwasy hydroksybenzoesowe, hydroksycynamonowe, naftochinony, ksantony, stilbeny i flawonoidy (3). W licznych eksperymentach stwierdzono, że mogą one wykazywać różnorodne działania, do których z pewnością zaliczyć można hamowanie powstawania reaktywnych form tlenu oraz wychwytywanie anionorodnika ponadtlenkowego oraz wygaszanie tlenu singletowego. Flawonoidy ponadto uczestniczą w ochronie innych antyoksydantów.

Dzięki występowaniu w owocach z rodziny *Cucurbitaceae* takich substancji, jak m.in. karotenoidy, polifenole, flawonoidy, a także fitosterole, inozytol, kukurbitacyny, niektóre z nich znalazły również zastosowanie w farmakoterapii (5).

Celem pracy było porównanie zawartości niskocząsteczkowych przeciwutleniaczy: polifenoli, flawonoidów, karotenoidów, a także właściwości antyoksydacyjnych czterech odmian dyni piżmowej (*Cucurbita moschata* Duch.).

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły owoce wybranych odmian dyni piżmowej (*Cucurbita moschata* Duch.) pozyskanych w 2012 r z Warzywniczej Stacji Doświadczalnej Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Dołujach. W trakcie uprawy roślin wykonywano standardowe zabiegi pielęgnacyjne, polegające głównie na nawadnianiu, odchwaszczaniu i spulchnianiu gleby.

Badaniami objęto następujące odmiany dyni piżmowej:

1. odmiana japońska „Kurinishiki” F₁ (*Cucurbita moschata* Duch. cv. Kurinishiki F₁);
2. odmiana włoska „Butternut Rugosa” (*Cucurbita moschata* Duch. cv. Butternut Rugosa);
3. odmiana francuska “Muscade de Provence” (*Cucurbita moschata* Duch. cv. Muscade de Provence);
4. odmiana bułgarska „Muskatna” (*Cucurbita moschata* Duch. cv. Muskatna).

Przed rozpoczęciem badania owoce obrano, myto pod bieżącą wodą i osuszano papierowym ręcznikiem. Z miąższu dyni przygotowano metanolowe ekstrakty i oznaczano w nich kolorymetrycznie za pomocą spektrofotometru UV-1800, firmy Shimadzu, zawartość polifenoli ogółem z odczynnikiem Folina-Ciocolateu, flawonoidów ogółem z AlCl₃, a także aktywność antyoksydacyjną, polegającą na zmiataniu rodnika DPPH, całkowitą pojemność antyoksydacyjną oraz siłę redukującą (6). Oznaczono również zawartość karotenoidów ogółem – karotenoidy ekstrahowano z miąższu 80% acetonem (7).

Otrzymane wyniki opracowano statystycznie za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji. Najmniejsze istotne różnice (NIR) obliczono wg procedury Tukey’a przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Do analiz statystycznych wykorzystano program Statistica 10.0 firmy StatSoft oraz arkusz kalkulacyjny Excel 2010

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Największą zawartością polifenoli, flawonoidów oraz karotenoidów odznaczały się owoce odmiany japońskiej ‘Kurinishiki’ F₁. Koncentracja oznaczanych niskocząsteczkowych antyutleniaczy w owocach pozostałych odmian dyni piżmowej (‘Butternut Rugosa’, ‘Muscade de Provence’, ‘Muskatna’) była istotnie statystycznie niższa. Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic pomiędzy zawartością flawonoidów ogółem oraz karotenoidów ogółem w tych owocach. W przypadku polifenoli ogółem odnotowano istotnie najniższą zawartość tych związków w owocach odmiany ‘Muscade de Provence’ (tab. I).

T a b e l a I. Zawartość niskocząsteczkowych antyutleniaczy w owocach dyni piżmowej

T a b l e I. Content of low-molecular antioxidants in the butternut squash fruits

Odmiana dyni piżmowej	Polifenole ogółem mg kwasu galusowego kg ⁻¹ św.m.	Flawonoidy ogółem mg kwercetyny kg ⁻¹ św.m.	Karotenoidy mg · kg ⁻¹ św.m.
‘Kurinishiki’ F ₁	998,63 ± 21,69 ^a	725,29 ± 14,85 ^a	74,93 ± 3,58 ^a
‘Butternut Rugosa’	792,38 ± 15,36 ^{bc}	548,36 ± 16,75 ^b	58,93 ± 2,63 ^b
‘Muscade de Provence’	737,02 ± 18,67 ^c	587,36 ± 12,86 ^b	57,42 ± 4,33 ^b
‘Muskatna’	804,17 ± 22,53 ^b	600,12 ± 13,86 ^b	57,24 ± 2,47 ^b

Wyniki podane jako średnia ± odchylenie standardowe; a, b, c – grupy jednorodnie w obrębie kolumn

Zawartość niskocząsteczkowych przeciwutleniaczy w materiale roślinnym zależy od wielu czynników wewnętrznych (m.in. gatunek czy odmiana) oraz zewnętrznych (m.in. czynników agronomicznych, transportowych, środowiskowych i przechowalniczych). *Vinson* i współpr. (8) podają, że zawartość polifenoli w owocach dyni zwyczajnej wynosi 0,9 mmol · kg⁻¹ św.m. Natomiast koncentracja tych substancji w owocach dyni olbrzymiej może wynosić nawet 13330 mg · kg⁻¹. Jak dotąd spośród związków polifenolowych występujących w owocach gatunków i odmian z rodzaju *Cucurbita* oznaczono kwas syryngowy i chlorogenowy, tymohydrochinol, również kwasy: kawowy, ferulowy, waniliowy i *p*-kumarowy (9), a także flawonoidy. Jak podają *Biesiada* i współpr. (10) zawartość karotenu w świeżej masie owoców dyni waha się od 20 do 100 mg · kg⁻¹ św.m., lecz w niektórych odmianach może przekraczać 220 mg · kg⁻¹ św.m. *De Carvalho* i współpr. (11) stwierdzili, że zawartość karotenoidów w owocach dyni piżmowej może dochodzić nawet do 4049,80 mg · kg⁻¹ św.m. Wyniki badań *Gacche’go* i współpr. (12) wykazały ponadto, że zawartość β -karotenu w owocach dyni piżmowej, w zależności od odmiany waha się w przedziale od 23,40 do 148,50 mg · kg⁻¹ św.m. W owocach dyni olbrzymiej zawartość tego związku wynosi zaś 2-172 mg · kg⁻¹ św.m.. Dużo niższa jest zawartość α -karotenu, od 2 do 15 mg · kg⁻¹ św.m.. Z badań *Murkovica* i współpr. (13) wynika, że zawartość α -karotenu w owocach dyni zwyczajnej, w zależności od odmiany, wynosi od 0,3 do 1,7 mg · kg⁻¹ św.m., a β -karotenu od 0,6 do 23,0 mg · kg⁻¹ św.m. W owocach dyni występują ponadto: luteina, zeaksantyna, β -kryptoksantyna, a także w niewielkich ilościach likopen. *Jimenez-Escrig* i współpr. (14) porównywali aktywność przeciw-

utleniającą wybranych karotenoidów i stwierdzili, że jej wartość malała według następującego porządku: likopen > β -kryptoksantyna > α -karoten > β -karoten > zeaksantyna > luteina.

Owoce dyni piżmowej odmiany japońskiej Kurinishiki F₁ odznaczały się również największą aktywnością antyoksydacyjną – 31,75% DPPH, całkowitą pojemnością antyoksydacyjną – 709,18 mg kwasu askorbinowego · kg⁻¹ św.m. oraz siłą redukującą – 0,93. W przypadku aktywności antyoksydacyjnej stwierdzono istotne różnice pomiędzy owocami pozostałych odmian dyni piżmowej. Najniższą aktywnością antyoksydacyjną odznaczały się owoce odmiany bułgarskiej ‘Muskatna’ – 17,41% (tab. II). Gacche i współpr. (12) badając owoce dyni olbrzymiej stwierdzili, że ich aktywność antyoksydacyjna wynosiła 40,7% DPPH. Wartości całkowitej pojemności antyoksydacyjnej owoców odmian ‘Butternut Rugosa’, ‘Muscade de Provence’ i ‘Muskatna’ nie różniły się istotnie między sobą. Natomiast owoce odmian ‘Butternut Rugosa’ i ‘Muskatna’ odznaczały się zblizoną siłą redukującą, podczas gdy wartości tego parametru w owocach odmiany ‘Muscade de Provence’ były najniższe (tab. II). Kurzeja i współpr. (15) badając właściwości antyoksydacyjne owoców odmian botanicznych dyni zwyczajnej: cukinii, kabaczka, patisona i dyni figolistnej stwierdzili, że były one największe w przypadku soku z cukinii, a najmniejsze w soku z kabaczka.

Tabela II. Właściwości antyoksydacyjne owoców dyni piżmowej

Table II. Antioxidant properties of the butternut squash fruits

Odmiana dyni piżmowej	Aktywność antyoksydacyjna %DPPH	Pojemność antyoksydacyjna mg kwasu askorbinowego · kg ⁻¹ św.m.	Siła redukująca ΔA_{700}
‘Kurinishiki’ F ₁	31,39 ± 1,08 ^a	709,18 ± 21,38 ^a	0,93 ± 0,03 ^a
‘Butternut Rugosa’	25,06 ± 0,96 ^b	568,82 ± 18,46 ^b	0,87 ± 0,01 ^b
‘Muscade de Provence’	21,73 ± 0,89 ^c	576,09 ± 22,47 ^b	0,82 ± 0,02 ^c
‘Muskatna’	17,41 ± 1,11 ^d	568,38 ± 14,99 ^b	0,88 ± 0,03 ^b

Wyniki podane jako średnia ± odchylenie standardowe; a, b, c, d – grupy jednorodnie w obrębie kolumn

WNIOSKI

1. Owoce badanych odmian dyni piżmowej: ‘Kurinishiki’ F₁, ‘Butternut Rugosa’, ‘Muscade de Provence’, ‘Muskatna’ odznaczały się zróżnicowanymi właściwościami przeciwutleniającymi.

2. Największą zawartość polifenoli ogółem, flawonoidów ogółem, karotenoidów ogółem, a także aktywność antyoksydacyjną, całkowitą pojemność antyoksydacyjną i siłę redukującą odnotowano w przypadku owoców odmiany japońskiej ‘Kurinishiki’ F₁.

3. Zawartość niskocząsteczkowych antyutleniaczy oraz właściwości antyoksydacyjne owoców odmiany włoskiej ‘Butternut Rugosa’, francuskiej ‘Muscade de Provence’ i bułgarskiej ‘Muskatna’ były zbliżone do siebie.

A. Telesiński, M. Płatkowski, D. Jadczyk

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF FRUITS OF CHOSEN BUTTERNUT SQUASH
(CUCURBITA MOSCHATA DUCH.) CULTIVARS

Summary

The aim of study was to compare the content of low-molecular antioxidant: total polyphenols, total flavonoids, total carotenoids and antioxidant activity, antioxidant capacity, and reducing power of the fruits of four butternut squash cultivars: Japanese 'Kurinishiki' F₁, Italian 'Butternut Rugosa', French 'Muscade de Provence' and Bulgarian 'Muskatna'.

The obtained results showed that fruits of butternut squash cultivars characterized by a diverse antioxidant properties. The highest content of total flavonoids, total polyphenols, total carotenoids and antioxidant activity, antioxidant capacity and reducing power was observed in the case of Japanese cultivar. The low-molecular antioxidant content and antioxidant properties of Italian, French and Bulgarian cultivar fruit were significantly lower and closer together.

PIŚMIENNICTWO

1. Korzeniewska A., Witek M., Gałęcka T., Niemirowicz-Szczytt K.: Ocena wybranych cech dyni zwyczajnej (*Cucurbita pepo* subsp. *pepo* var. *styriaca* Greb.) o nasionach bezłupinowych. Polish Journal of Agronomy, 2013; 12: 32-37. – 2. Nawirska A., Figiel A., Kucharska A.Z., Sokol-Letowska A., Biesiada A.: Drying kinetics and quality parameters of pumpkin slices dehydrated using different methods. Journal of Food Engineering, 2009; 94: 14-20. – 3. Sroka Z., Gamian A., Cisowski W.: Niskocząsteczkowe związki przeciwutleniające pochodzenia naturalnego. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, 2005; 59: 34-41. – 4. Quideau S, Deffieux D, Douat-Casassus C, Pouységu L.: Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. Angewandte Chemie International Edition, 2005; 50 (3): 586-621. – 5. Niewczas J., Szweda D., Mitek M.: Zawartość wybranych składników prozdrowotnych w owocach dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima*). Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2005; 2 (43, supl.): 147-154. – 6. Kumaran A., Karunakaran R.J.: In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. LWT; 2007, 40: 344-351. – 7. Hager A., Mayer-Berthenrath T.: Die Isolierung und quantitative Bestimmung der Carotenoide und Chlorophyll von Blättern, Algen und isolierten Chloroplasten mit Hilfe Dunnschicht-chromatographischer Methoden. Planta, 1966; 69: 198-217. – 8. Vinson J.A., Hao Y., Su X., Zubik I.: Phenol antioxidant quality in foods: Vegetables. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1998; 46: 3630-3634. – 9. Mouhajir E., Pedersen J.A., Rejdali M., Towers G.H.N.: Phenolics in Moroccan medicinal plant species studied by electron spin resonance spectroscopy. Pharmaceutical Biology, 2001; 39 (5): 391-398. – 10. Biesiada A., Kucharska A.Z., Sokol-Letowska A.: Plonowanie i wartość odżywcza wybranych odmian użytkowych *Cucurbita pepo* L. oraz *Cucurbita maxima* Duch. Folia Horticulture, 2006; Supl. 1: 66-70.

11. De Carvalho L.M.J., Gomes P.B., De Oliveira Godoy R.L., Pacheco S., Do Monte P.H.F., De Carvalho J.L.V., Nutti M.R., Neves A.C.L., Vieira A.C.R.A., Ramos S.R.R.: Total carotenoid content, α -carotene and β -carotene, of landrace pumpkins (*Cucurbita moschata* Duch): A preliminary study. Food Research International, 2012, 47: 337-340. – 12. Gacche R.N., Kabaliye V.N., Dhole N.A., Jadhav A.D.: Antioxidant potential of selected vegetables commonly used in diet in Asian subcontinent. Indian Journal of Natural Products and Resources, 2010, 1 (3): 306-313. – 13. Murkovic M., Milleder U., Neunteufl H.: Carotenoid content in different varieties of pumpkins. Journal of Food Composition and Analysis, 2002; 15: 633-638. – 14. Jimenez-Escrig A., Jimenez-Jimenez I., Sanchez-Moreno C., Sauro-Calixto F.: Evaluation of free radical scavenging of dietary carotenoids by the stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2000; 80: 1686-1690. – 15. Kurzeja E., Synowiec A., Stec M., Kudelski A., Chrobok M., Pawłowska-Góral K.: Ocena potencjału antyoksydacyjnego soków z wybranych warzyw z rodziny dyniowatych. Bromat. Chem. Toksykol. 2011; 44(3): 911-915.

Joanna Cieślewicz, Agnieszka Grzelakowska

ZAWARTOŚĆ ZWIĄZKÓW POLIFENOLOWYCH W WYBRANYCH GATUNKACH HERBAT ZIELONYCH

Katedra Chemii Środowiska
Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy
Kierownik: prof. dr hab. inż. *J. Hermann*

Celem badań było określenie zawartości związków polifenolowych w wybranych gatunkach herbat zielonych oraz ich zawartości w naparach w zależności od czasu i temperatury parzenia. Stwierdzono, że niezależnie od temperatury i długości parzenia napary otrzymane podczas drugiego parzenia odznaczają się niższą zawartością związków polifenolowych oraz mniejszą atrakcyjnością dla konsumenta.

Słowa kluczowe: herbata zielona, polifenole, temperatura parzenia.

Key words: green tea, polyphenols, temperature of brewing.

Eating five servings of fruits and vegetables per day! Drinking green tea on a regular basis, eating chocolate from time to time, as well as savoring a couple of glasses of red wine per day have been claimed to increase life expectancy even further! (1). Zastosowanie tych wskazań w praktyce nie jest ani trudne ani czasochłonne, a polifenole zawarte w składnikach takiej diety budzą coraz większe zainteresowanie. Z roku na rok zwiększa się też liczba publikacji traktujących o właściwościach tych związków.

Żywność pochodzenia roślinnego stanowi dla człowieka bogate źródło związków o właściwościach przeciwutleniających. Wśród grupy przeciwutleniaczy największe znaczenie mają: polifenole (kwasy fenolowe, flawonoidy i antocyjany), witaminy – A, C i tokoferole, karotenoidy. Podstawową cechą antyoksydantów jest ich zdolność do wymiatania reaktywnych form tlenu, które jako produkty metabolizmu stale obecne są w organizmie człowieka. Do najważniejszych skutków stresu oksydacyjnego zaliczyć można zmiany stabilności i przepuszczalności błon komórkowych, przyspieszenie starzenia się tkanek, inicjowanie i przyspieszanie procesów nowotworowych oraz degradację witamin A, C i E. Spożywanie flawonoidów może obniżać śmiertelność z powodu chorób sercowo-naczyniowych, znajdują one także zastosowanie w leczeniu chorób naczyń o charakterze zakrzepowo-zatorowym. Uważa się także, że polifenole roślinne przeciwdziałają powstawaniu wrzodów żołądka i dwunastnicy wywołanych stresem, lekami i alkoholem (2, 3). Przeprowadzone badania udowodniły również przeciwrakowe właściwości polifenolowych antyoksydantów obecnych przede wszystkim w herbatach zielonych. Zawartość związków fenolowych, może sięgać nawet 35% suchej masy liści. Przeprowadzone badania wśród mieszkańców Shizuoka (Japonia), gdzie produkuje się herbatę wykazały, niższą śmiertelność po-

wodowaną rakiem płuc, żołądka i wątroby w porównaniu z populacjami z obszarów gdzie nie spożywa się zielonej herbaty (4, 5). Spożywanie zielonej herbaty może także zmniejszać ryzyko występowania wysokiego stężenia cholesterolu we krwi i wysokiego ciśnienia, obniża także ryzyko osteoporozy. Inne badania wskazują, że spożywanie herbaty może chronić przed zakażeniami bakteryjnymi i infekcjami wirusowymi. Bogata w antyoksydanty herbata zielona powstaje przez działanie pary na zebrane liście przez 1 min, dzięki czemu dezaktywacji ulega oksydaza polifenolowa, następnie liście są suszone. Oprócz gatunku, czynnikiem decydującym o jakości naparów zielonej herbaty jest temperatura wody, użycie zbyt gorącej powoduje, że herbata jest gorzka i traci delikatny aromat. Jeżeli woda jest zbyt zimna substancje odpowiedzialne za smak zawarty w liściach nie są ekstrahowane. Za smak i aromat zielonej herbaty odpowiadają liczne substancje, smak i słodycz determinowana jest obecnością aminokwasów i naturalnych cukrów, a gorycz i cierpkość powodowane są przez polifenole (taniny). Aminokwasy rozpuszczają się w temp. 60°C podczas gdy taniny rozpuszczają się w temp. 80°C, z tego powodu parzenie herbaty w niższych temperaturach gwarantuje zachowanie jej naturalnej słodyczy. Czas parzenia oraz temperatura wody determinowana jest gatunkiem herbaty, przy czym im szlachetniejszy gatunek herbaty tym temperatura wody powinna być niższa a czas parzenia krótszy. Najlepsze gatunki wymagają jedynie 30 s i mogą być parzone kilka razy, przy czym koneserzy uważają napar z drugiego parzenia za smaczniejszy (6, 7).

Celem badań było określenie zawartości związków polifenolowych w wybranych gatunkach herbat zielonych oraz ich zawartości w naparach w zależności od czasu trwania i temperatury parzenia.

MATERIAŁ I METODY

Materiał stanowiły różne gatunki zielonych herbat zakupionych w sieci sklepów „Czas na herbatę”. Do badań użyto 5 gatunków herbat liściastych – Darjeeling green, Sencha Makato, Japońska Sencha, China Green Yunan, China Chun Mee, a także 2 gatunki o liściach mniej zwiniętych herbaty Yun Ming zielony lub bardziej zwiniętych herbaty China Gunpowder Super. Została także wykorzystana herbata ekspresowa – organic japan classic (Ronnefeldt). W tab. I przedstawiono zalecane parametry parzenia herbat (8).

Odważoną próbkę liści herbacianych zalewano wodą dejonizowaną podgrzaną do temp. 70 bądź 100°C i parzono przez okres 3 lub 6 min (I parzenie), następnie próbkę filtrowano, a wilgotne liście po raz kolejny zalewano wodą o określonej temperaturze (II parzenie). Całkowita zawartość związków polifenolowych została oznaczona metodą kolorymetryczną z zastosowaniem odczynnika Folina-Ciocalteu (9). Podstawą oznaczania jest odwracalna reakcja redukcji przez fenole w środowisku alkalicznym molibdenu(VI) do molibdenu(V) zawartego w odczynniku Folina-Ciocalteu. Po 30 min inkubacji roztworu w ciemności mierzono absorbancję przy dł. fali 760 nm za pomocą spektrofometru UV/VIS Lambda 20 firmy Perkin-Elmer. Całkowitą zawartość polifenoli przedstawiono w ekwiwalentach kwasu galusowego w przeliczeniu na 1 g suchej masy herbaty (mgGAE/g_{sm}). Na podstawie otrzymanych zawartości związków polifenolowych obliczono wartości stosunków zawartości

polifenoli w naparach pochodzących z I i II parzenia. Istotność różnic zweryfikowano metodą analizy wariancji. Dla otrzymanych ekstraktów wodnych związków polifenolowych wykonano również widma w zakresie UV, a przykładowe widma przedstawiono na ryc. 1.

Tabela 1. Gatunki herbat użyte w badaniach (8, *informacja umieszczona na opakowaniu)

Table 1. Tea brands used in the experiments (8, *information found on the package)

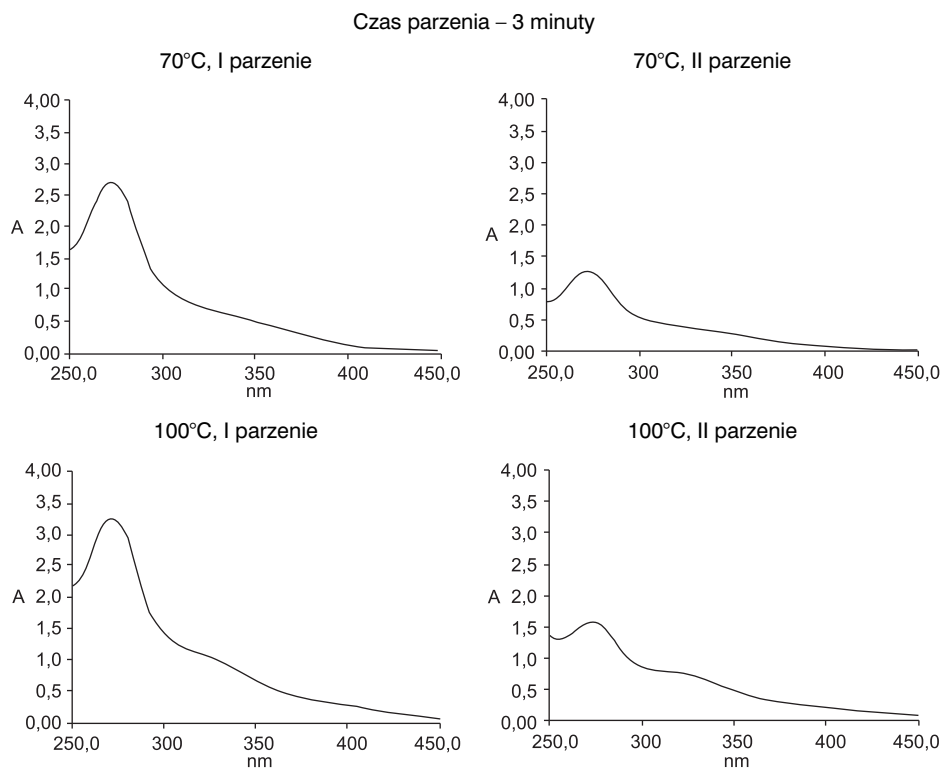
Numer	Gatunek	Temperatura (°C)	Czas parzenia
1	Darjeeling green	ok. 75	nie więcej niż 4 min
2	Yun Ming zielony	ok. 85	3–4
3	Sencha Makato	75 do 80	30 do 60 s do 4 min
4	Japońska Sencha	75 do 80	30 do 60 s do 4 min
5	China Green Yunan	ok. 85	3–4 min
6	China Gunpowder Super	70–80	2–4 min
7	China Chun Mee	ok. 70	3–5 min
8	organic japan classic*	–	2–3 min

Ocenę organoleptyczną otrzymanych naparów herbat dokonał odpowiednio przeszkolony zespół o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej. Ocenie poddano smak, barwę oraz aromat naparów.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Na ryc. 1 przedstawiono przykładowe widma ekstraktów z analizowanych herbat w zakresie 250–450 nm. Widma otrzymane dla próbek ekstrahowanych w temp. 70°C miały generalnie zbliżony przebieg, z maksimum przypadającym przy ok. 275 nm, przy czym widma ekstraktów z drugiej ekstrakcji odznaczały się niższymi wartościami absorbancji. Odmiennie natomiast kształtowały się właściwości spektrometryczne ekstraktów otrzymanych po ekstrakcji w temp. 100°C. W większości przypadków widma te odznaczały się zbliżonym przebiegiem do widm otrzymanych dla roztworów ekstrahowanych w temp. 70°C. Jednak w warunkach przyjętych w doświadczeniu (ekstrakcja: 0,5 g herbaty/250 cm³ wody) nie udało się uzyskać ani jednego widma o typowym przebiegu w przypadku pierwszej ekstrakcji trwającej 6 min. Zastosowanie temp. 100°C generuje reakcję epimeryzacji, a także utlenianie i degradację katechin (10), co może znacząco wpływać na właściwości spektrometryczne ekstraktów.

Na ryc. 2A i 2B przedstawiono zróżnicowanie zawartości polifenoli w ekstraktach otrzymanych podczas I i II parzenia w temp. 70°C w czasie ekstrakcji trwającej 3 i 6 min. Zawartość polifenoli w różnych herbatach wahała się od 9,5 do 47,3 mgGAE/g_{sm} w przypadku I parzenia i od 6,7 do 22,1 mgGAE/g_{sm} w przypadku parzenia drugiego. Na podstawie przeprowadzonej analizy statystycznej stwierdzono, że istotnie zróżnicowaną zawartością polifenoli odznaczały się ekstrakty z I i II parzenia, natomiast różnice wynikające z gatunku herbaty i czasu trwania ekstrakcji nie były statystycznie istotne (tab. II).



Ryc. 1. Widma absorpcyjne wybranych naparów herbaty Sencha Makato (herbata nr 3).

Fig. 1. Absorption spectra of selected Sencha Makato the infusions (tea no 3).

Tab e l a II. Wyniki 2-czynnikowej analizy wariancji – temp. 70°C

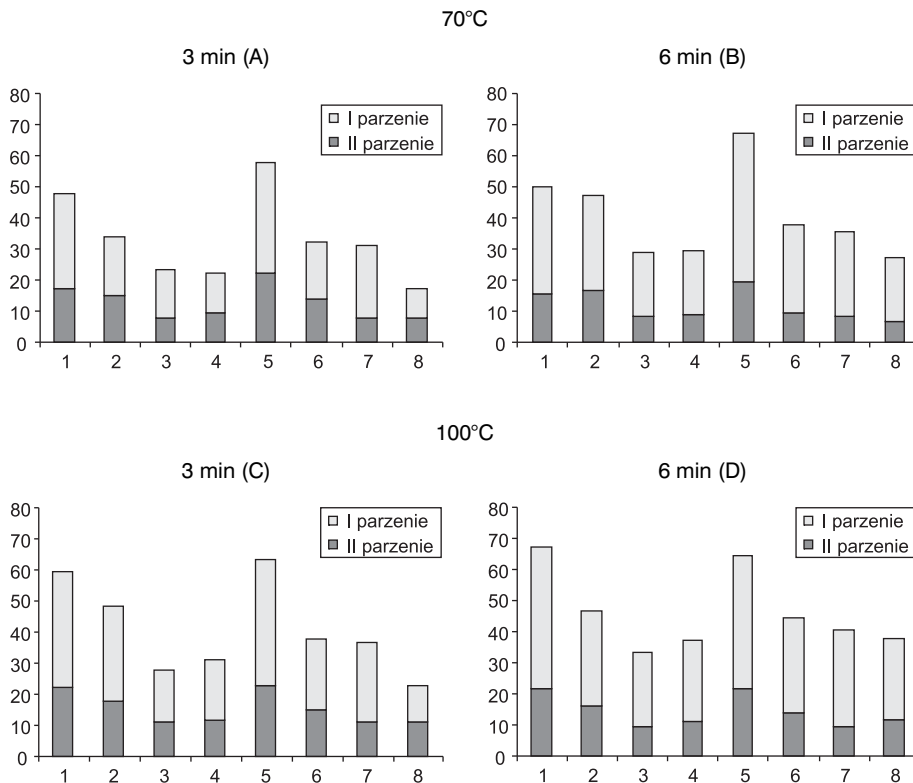
Tab l e II. Results of two-way analysis of variance – temp. 70°C

Czynniki	2	
	1	II
3 min	20,68	12,66
6 min	28,68	11,60
Wartości średnie dla 11 cz. NUR przy p < 0,05	16,67	20,14
	n.i.	
Wartości średnie dla 2 cz. NUR przy p < 0,05	24,68	12,13
	5,266	

czynnik 1 – czas trwania parzenia; czynnik 2 – parzenie pierwsze lub drugie

Zawartość związków polifenolowych w ekstraktach otrzymanych podczas parzenia liści herbat w temp. 100°C wahała się także w bardzo szerokich granicach (ryc. 2C i 2D). W przypadku I parzenia, zawartość polifenoli wynosiła od 11,9 do 45,6 mgGAE/g_{sm}, podczas gdy w ekstraktach z drugiego parzenia zawartość wahała się

w granicach od 9,3 do 22,7 mgGAE/g_{sm}. Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała, że istotne statycznie różnice występowały jedynie pomiędzy zawartościami polifenoli w ekstraktach pochodzących z I i II parzenia (tab. III).



Ryc. 2. Zawartość związków polifenolowych w naparach herbat (mgGAE/g_{sm}).

Fig. 2. The content of polyphenols in tea infusions (mgGAE/g_{dw}).

Tabela III. Wyniki 2-czynnikowej analizy wariancji – temp. 100°C

Table III. Results of two-way analysis of variance – temp. 100°C

Czynniki	2	
	1	II
3 min	25,63	15,30
6 min	32,01	14,33
Wartości średnie dla 1 cz. NUR przy p < 0,05	20,46	23,17
	n.i.	
Wartości średnie dla 2 cz. NUR przy p < 0,05	28,82	14,81
	5,263	

czynnik 1 – czas trwania parzenia; czynnik 2 – parzenie pierwsze lub drugie

Dodatkowo przeprowadzono 3-czynnikową analizę wariancji uwzględniającą wszystkie analizowane czynniki. Również w tym przypadku statystycznie istotne różnice w zawartości związków polifenolowych stwierdzono wyłącznie dla ekstraktów pochodzących z I bądź II parzenia (tab. IV)

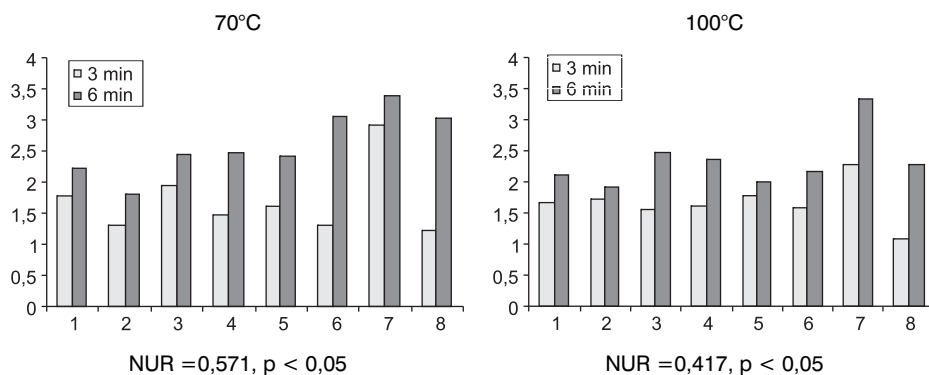
Na podstawie uzyskanych wyników obliczono wartości stosunków zawartości polifenoli w ekstraktach pochodzących z I i II parzenia. Niezależnie od temperatury istotnie wyższymi wartościami tych stosunków odznaczały się ekstrakty z herbat parzonych w ciągu 6 min (ryc. 3).

Tab e l a IV. Wyniki 3-czynnikowej analizy wariancji

Tab l e IV. Results of three-way analysis of variance

Czynniki		3	
1	2	70	100
3 min	I	20,68	25,63
	II	12,66	15,30
6 min	I	28,68	32,01
	II	11,60	14,33
Wartości średnie dla 1 cz. NUR przy $p < 0,05$		18,57	21,65
		n.i.	
Wartości średnie dla 2 cz. NUR przy $p < 0,05$		26,75	13,47
		3,645	
Wartości średnie dla 3 cz. NUR przy $p < 0,05$		18,40	21,82
		n.i.	

czynnik 1 – czas trwania parzenia; czynnik 2 – parzenie pierwsze lub drugie; czynnik 3 – temperatura parzenia



Ryc. 3. Wartości stosunków zawartości związków polifenolowych w naparach otrzymanych podczas I i II parzenia.

Fig. 3. Ratios of the polyphenol content in infusions obtained during the Ist and the IIInd brewing.

Spotykane w literaturze zawartości polifenoli w herbatach zielonych mieszczą się w bardzo szerokich granicach. Porównywanie uzyskiwanych wyników utrudnia fakt stosowania różnych rozpuszczalników – woda, metanol, ale także sposób przedstawiania wyników w przeliczeniu na ekwiwalenty kwasu galusowego czy katechiny na 1 g suchej masy herbaty bądź objętość 100 lub 200 cm³. Trzeba mieć także na uwadze zmienność wynikającą z właściwości poszczególnych gatunków herbaty. Zawartości polifenoli uzyskane w przedstawionych badaniach były generalnie niższe w porównaniu z dostępnymi danymi literaturowymi – 76,9–92,1 mgGAE/g_{sm} (11; ekstrakcja wodą), 20–160 mg/200 cm³ (12; ekstrakcja wodą), 140–220 mgGAE/g_{sm} (13; ekstrakcja metanolem) oraz od 30 do 196 mgGAE/g_{sm} (14; ekstrakcja metanolem), stwierdzano również spadek zawartości związków polifenolowych w poszczególnych naparach przy wielokrotnej ekstrakcji. Pomimo, że temperatura nie okazała się czynnikiem istotnym statystycznie, zróżnicowanie wydajności ekstrakcji otrzymali także *Perva-Uzunalić* i współpr. (10). Wydajność ekstrakcji katechin była wyższa w temp. 80°C w porównaniu z wydajnością otrzymaną w temp. 95°C. Podobne wyniki uzyskali *Labbé* i współpr. (15) przy czym wzrost zawartości katechin przy podwyższaniu temperatury następował do temp. 80°C, natomiast przy stałej temperaturze wydłużenie czasu ekstrakcji powodowało zwiększenie zawartości polifenoli w uzyskanych naparach.

WNIOSKI

1. Badane herbaty odznaczały się zróżnicowaną zawartością związków polifenolowych, przy czym najwyższe stężenia tych związków stwierdzono w naparach z liści herbaty China Green Yunan.
2. Istotnie wyższą zawartością związków polifenolowych odznaczały się napary z pierwszego parzenia w porównaniu z naparami uzyskanymi podczas parzenia drugiego.
3. Czas oraz temperatura parzenia okazały się parametrami nieistotnymi statystycznie.
4. Badanie sensoryczne wskazało na preferowanie przez konsumentów herbat o wyższej zawartości związków polifenolowych w naparze.

J. Cieślęwicz, A. Grzelakowska

THE CONTENT OF POLYPHENOLS IN SELECTED BRANDS OF GREEN TEA

Summary

The objective of the study was to determine the content of polyphenols in selected brands of green tea, as well their content in infusions depending on the duration and temperature of brewing. Five brands of leaf tea were used in the research – Darjeeling green, Sencha Makato, Japan Sencha, China Green Yunan, China Chun Mee, two brands of tea with rolled leaves – Yun Ming and China Gunpowder Super and tea bags – Organic Japan Classic (Ronnefeldt). Each type of tea was brewed two times with water at a temperature of 70 or 100°C for a period 3 or 6 minutes. The total content of polyphenols was determined by the colorimetric method using the Folin-Ciocalteu reagent and was presented in gallic acid equivalents per 1 gram of dry weight of tea (mgGAE/g_{dw}). Based on the obtained content of polyphenols, ratios of

polyphenol content in infusions from the 1st and the 2nd brewing were calculated. The significance of differences was verified by the analysis of variance.

The content of polyphenols in infusions obtained at a temperature of 70°C ranged from 9.5 to 47.3 mgGAE/g_{dw} for the first brewing, and from 6.7 to 22.1 mgGAE/g_{dw} for the second brewing. Also the content of polyphenols in the extracts obtained during the brewing of tea leaves at a temperature of 100°C varied within very wide ranges. In the case of the first brewing, the content of polyphenols ranged from 11.9 to 45.6 mgGAE/g_{dw}, whereas in the extracts from the second brewing – from 9.3 to 22.7 mgGAE/g_{dw}. As evidenced by the performed statistical analysis, statistically significant differences occurred only between the content of polyphenols in the extracts from the 1st and the 2nd brewing. Infusions from the first brewing were characterised by a significantly higher content of polyphenols compared to infusions obtained during the second brewing. Time and temperature of brewing have proven to be statistically insignificant parameters.

PIŚMIENNICTWO

1. *Quideau S., Deffieux D., Douat-Casassus C., Pouységu L.*: Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2011; 50: 586-621. – 2. *Barbosa D.S.*: Green tea polyphenolic compounds and human health. *J. Verbr. Lebensm.*, 2007; 2: 407-413. – 3. *Zaveri N.T.*: Green tea and its polyphenolic catechins: medicinal uses in cancer and noncancer applications. *Life Sci.*, 2006; 78: 2073-2080. – 4. *Oguni I., Chen, S.J., Lin, P.Z., Hara Y.*: Protection against cancer risk by Japanese green tea. *Prev. Med.*, 1992; 21: 332-333. – 5. *Zhong L., Goldberg M. S., Gao Y.-T., Hanley J. A., Parent M.-É., Jin F.*: A populational-based case-control study of lung cancer and green tea consumption among women living in Shanghai. *China Epidemiol.*, 2001; 12: 695-700. – 6. *Wei K., Wang L., Zhou J., He W., Zeng J., Jiang Y., Cheng H.*: Catechin contents in tea *Camellia sinensis* as affected by cultivar and environment and their relation to chlorophyll contents. *Food Chem.*, 2011; 125: 44-48. – 7. *Rusinek-Prystupa E.*: Zawartość związków biologicznie czynnych w naparach różnych gatunków herbat w zależności od czasu parzenia. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2013; 47(1): 48-52. – 8. *Int.*: http://www.krainaherbaty.pl/pol_m_Herbaty_Herbaty-zielone-4118.html. – 9. *Farmakopea Polska VI 2005.* – 10. *Perva-Uzunalić A., Škerget M., Knez Ž., Weinreich B., Otto F., Grüner S.*: Extraction of active ingredients from green tea *Camellia sinensis*: extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chem.*, 2006; 96: 597-605.

11. *Drużynska B., Stepińska A., Wolosiak R.*: The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2007; 61: 27-36. – 12. *Manach C., Scalbert A., Morand Ch., Rémésy Ch., Jiménez L.*: Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004; 79: 727-747. – 13. *Anesini C., Ferraro G.E., Filip R.*: Total polyphenol content and antioxidant capacity of commercially available tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. *J. Agric. Food Chem.*, 2008; 56: 9225-9229. – 14. *Hajimahmoodi M., Hanifeh M., Oveisi M.R., Sadeghi N., Jannat B.*: Determination of total antioxidant capacity of green teas by the ferric reducing/antioxidant power assay. *Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng.*, 2008; 5(3): 167-172. – 15. *Labbé D., Tremblay A., Bazinet L.*: Effect of brewing temperature and duration on green tea catechin solubilization: basis for production of EGC and EGCG-enriched fractions. *Sep. Pur. Tech.*, 2006; 49: 1-9.

Adres: 85-029 Bydgoszcz, ul. Bernardyńska 6

Sylvia Przybylska

WPLYW JONÓW METALI NA BARWĘ I ZAWARTOŚĆ β -KAROTENU W STERYLIZOWANYM PRZECIERZE MARCHWIIOWYM

Katedra Technologii Żywności
Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego
Kierownik: dr hab. inż. M. Wianecki, prof. nadzw.

Określono wpływ dodatku $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ i SnCl_2 na barwę i zawartość β -karotenu w przecierach marchwiowych przed i po sterylizacji ($121^\circ\text{C}/30'$). Rosnący udział dodatku $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ i $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (od 100 do 300 $\mu\text{g/g}$) negatywnie wpływał na obiektywne parametry barwy, powodując spadek wartości L^ i a^* oraz wzrost wartości b^* . Oba dodatki wykazywały również silne działanie prooksydacyjne wobec β -karotenu. W próbach sterylizowanych, obecność $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ zwiększała straty barwnika o 23 do 78%, podczas gdy $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ o 30 i 80%. W odróżnieniu od tych soli metali, dodatek SnCl_2 w ilości 100 i 200 $\mu\text{g/g}$ korzystnie wpływał na barwę i stabilność β -karotenu. Przy wyższym stężeniu 300 $\mu\text{g/g}$, SnCl_2 nie wykazywał pozytywnego działania. Zmiany parametru a^* i b^* korelowały z zawartością barwnika marchwi, co stwarza możliwość wykorzystania ich jako wskaźników do oceny zmian jakościowych badanych przecierów.*

Hasła kluczowe: barwa, β -karoten, marchew, sole metali, sterylizacja.
Key words: colour, β -carotene, metal salts, sterilization.

Marchew (*Daucus carota L.*) jest jednym z podstawowych warzyw przemysłowych uprawianych w naszym kraju (1). Swoją popularność zawdzięcza przede wszystkim bardzo wysokiej wartości odżywczej i zdrowotnej. Stanowi bogate źródło β -karotenu, soli mineralnych i węglowodanów (2).

Najważniejszym atrybutem jakości produktów marchwiowych jest barwa (3). W wyniku jednak obróbki termicznej zawarty w nich β -karoten ulega utlenieniu i izomeryzacji, czego konsekwencją jest jego rozpad i utrata barwy (4). Utlenianie β -karotenu jest intensyfikowane nie tylko wysoką temperaturą, wpływem światła, ale i obecnością jonów metali (Cu^{2+} i Fe^{2+}) (5).

Z uwagi na to, że barwa przecierów marchwiowych, decyduje o stopniu pożądanłości produktu przez konsumenta, z punktu technologicznego istotne znaczenie ma prowadzenie badań nad czynnikami, które intensyfikują jej degradację.

Stąd celem pracy było zbadanie wpływu dodatku jonów metali na zmiany barwy i stabilność β -karotenu w sterylizowanych przecierach marchwiowych. Założono, że obiektywny pomiar parametrów barwy L^* , a^* i b^* oraz skorelowanie zmian parametru a^* i b^* z zawartością β -karotenu pozwoli ocenić jakość produktu gotowego.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiła marchew późna, odmiany „Perfekcja”, pobierana do doświadczeń w okresie jesiennym (2010 r.) z gospodarstwa rolno-warzywnego z okolic Szczecina. Surowiec po przywiezieniu do laboratorium poddano ocenie jakościowej wg. PN-R-75358: 1984 (6). Następnie myto, obierano, krojono w plastry o grubości 10 mm i poddawano rozparzaniu przez 10 min w urządzeniu „Tefal Parowar Ultra Compact VC 1006”. Po rozparzeniu surowiec rozdrabniano do postaci przecieru w maszynce „Kitchen Aid Portable Appliances (USA) (wyposażoną w przystawkę steiner). Z otrzymanego przecieru sporządzono następujące cztery warianty: I – bez dodatków (wariant kontrolny); II – z dodatkiem $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; III – z dodatkiem $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ i IV – z dodatkiem SnCl_2 .

Wszystkie stosowane sole metali mieszano, każdą osobno z przecierem w kutmikserze „Stephan” 2 razy przez 1 min, przy maksymalnych obrotach w ilości 100, 200 i 300 $\mu\text{g/g}$, co odpowiadało w przeliczeniu na jony metali stężeniom zamieszczonym w tab. I.

Tab e l a I. Sole metali użyte w doświadczeniu w przeliczeniu na wartości jonowe

Tab l e I. Ion concentration in metal salts used in analysis

Sole metali	Stężenie soli metalu i odpowiadające jej stężenie samego jonu metalu ($\mu\text{g/g}$)		
	100	200	300
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	25,45 Cu^{2+}	50,90 Cu^{2+}	76,35 Cu^{2+}
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	20,09 Fe^{2+}	40,17 Fe^{2+}	60,26 Fe^{2+}
SnCl_2	62,60 Sn^{2+}	125,20 Sn^{2+}	187,80 Sn^{2+}

Tak przygotowane próbki z każdego wariantu badano jako surowe (przed sterylizacją), a pozostałe pakowano do puszek okrągłych, cylindrycznych 0,15 (Ø 99,9 mm, h 26 mm), zamykano zamykarką rotacyjną typu AZ-1 (Polska) i poddawano sterylizacji.

Sterylicację przecierów w skali laboratoryjnej prowadzono w temp. 121°C, w autoklawach poziomych (o poj. komory 20 l) typu ASL firmy SMS (Polska), przy ciśnieniu 0,21 MPa, zgodnie z formułą: $A+B+C/T$, w której $A = 15$ min; $B = 30$ min i $C = 15$ min. Po sterylizacji chłodzono wyroby do temp. ok. 20°C, poddawano składowaniu w temp. 4°C \pm 1°C. Próbki do analiz pobierano codziennie w czasie jednego tygodnia.

Doświadczenia dla przecierów z każdym stężeniem soli metalu przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

W badanych próbkach oznaczano parametry barwy: L^* (jasność), a^* (czerwonosc) i b^* (żółtosć) metodą obiektywną. Pomiary barwy przeprowadzono za pomocą aparatu Hunter Lab Model D25 firmy Hunter Associates Laboratory, Inc (USA), który był wyposażony w lampę kwarcowo-halogenową. Składowe barwy L^* , a^* i b^* oznaczano na próbkach o średnicy 60 mm i grubości 1,7 mm w świetle odbitym w pięciu powtórzeniach w odniesieniu do białego standardu C-6544, stosując obserwator kolorymetryczny o polu widzenia 10° przy geometrii układu 45°/0°.

Określano ponadto zawartość β -karotenu w ekstraktach heksanowych sporządzonych zgodnie z PN-A-75101-12: 1990 (7). Dla każdego rodzaju próbki o masie (2 g) wykonano trzy ekstrakty. Pomiar absorbancji barwnika dokonywano na aparacie „Thermo Spectronic” (Anglia), przy dł. fali 450 nm. Na podstawie otrzymanych odczytów i współczynnika absorbancji $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (2560) wyliczono stężenie β -karotenu mg/100g wg. Hart i Scott (8).

Uzyskane wyniki opracowano przy użyciu programu statystycznego Statistica 9,0 PL (StatSoft, Inc., USA, 2010). Wyliczano wartości średnie, odchylenia standardowe, korelacje, natomiast istotność różnic weryfikowano testem t-Tukey’a, przy poziomie istotności $\alpha=0,05$.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Rosnące wymagania konsumenta względem oferowanych na naszym rynku produktów z marchwi, w tym i przecierów, zmuszają obecne przetwórstwo do wytwarzania takich wyrobów, które w pełni zaspokoją ich oczekiwania. Dlatego głównym zadaniem producenta jest nie tylko to, aby zachować wysoką wartość odżywczą produktu, ale przede wszystkim i jego naturalną barwę. Znaczna jednak część procesów technologicznych stosowanych w przemyśle spożywczym związana jest z intensywnym ich ogrzewaniem i zachodzącymi w związku z tym zmianami, także dotyczącymi barwy. Biorąc pod uwagę również inne czynniki (wpływ tlenu, jonów metali: Fe^{2+} , Cu^{2+} , światło), które sprzyjają degradacji barwników karotenoidowych istotne wydaje się prowadzenie doświadczeń nad ograniczaniem wpływu tych czynników, z jednoczesnym wprowadzeniem takich, które zwiększają ich trwałość, a przez to i podnoszą jakość gotowego wyrobu.

Oceniając jasność barwy przecierów zawierających dodatek soli metali zauważono, że wzrost ich stężenia istotnie różnicował wartości parametru L^* (tab. II). W próbie surowej stanowiącej wariant kontrolny (bez dodatku jonów metali) wartość L^* kształtowała się na poziomie 48,3, a po procesie sterylizacji była o 6% niższa. W przecierach nieogrzewanych z dodatkiem $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, wraz ze wzrostem stężenia (od 100 do 300 μg), zaobserwowano spadek o 4 i 14% jasności barwy w stosunku do próbki kontrolnej (bez jego dodatku). Podobne zmiany w parametrze L^* , kształtowały się przy dodatku $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, którego wartości obniżyły się odpowiednio o 6 i 19%. Uwzględniając zmiany jasności barwy, po obróbce cieplnej, wykazano, że przecieri z dodatkiem $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ oraz $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ odznaczały się znacznym jej spadkiem, czego konsekwencją było pociemnienie barwy produktu. Dla porównania w przecierach po sterylizacji, dodatek soli metali: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ i $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ w ilości 300 μg spowodował zmniejszenie wartości parametru L^* o 27 i 30% w stosunku do prób nieogrzewanych z tymi dodatkami. W odróżnieniu od dodatku $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ i $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, odmienny wpływ na jasność barwy miał dodatek SnCl_2 , który w ilości (100, 200 i 300 μg), powodował pojaśnienie barwy prób nieogrzewanych o 3, 9 i 14% w stosunku do wariantu kontrolnego. Po sterylizacji przecieri z dodatkiem SnCl_2 wykazywały niższe wartości parametru L^* niż surowe (z jego dodatkiem), ale w porównaniu do próbki kontrolnej odznaczały się od 4 do 12% wyższą jasnością barwy.

Tab e l a II. Średnie wartości parametru L* (wraz z odchyleniami standardowymi) w przecierach marchwiowych z dodatkiem soli metali przed i po sterylizacji

Tab l e II. Means values (with standard deviation) of the parameter L* with addition of metal salts on in carrot pulps before and after sterilization

Próba	Parametr L*					
	Przed sterylizacją			Po sterylizacji		
	Stężenie dodatku ($\mu\text{g/g}$)			Stężenie dodatku ($\mu\text{g/g}$)		
	100	200	300	100	200	300
Kontrolna (bez dodatku soli metali)	48,3 \pm 0,178			45,2 \pm 0,207		
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	46,3 \pm 0,114	44,2 \pm 0,114	41,6 \pm 0,122	43,2 \pm 0,114	37,2 \pm 0,089	30,2 \pm 0,114
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	45,6 \pm 0,089	43,2 \pm 0,084	39,2 \pm 0,148	41,3 \pm 0,100	35,2 \pm 0,114	27,6 \pm 0,122
SnCl_2	49,7 \pm 0,089	53,1 \pm 0,158	56,3 \pm 0,084	47,2 \pm 0,089	49,7 \pm 0,055	51,3 \pm 0,084

* wartości średnie w wierszach różnią się statystycznie istotnie wraz ze wzrostem stężenia dodatku przy $\alpha=0,05$

Analizując parametr a* stwierdzono, że rosnący dodatek jonów soli metali wpływał istotnie na zmienność czerwoności barwy przecierów (tab. III). W wariancie kontrolnym (bez dodatku soli metali) wartość a* wynosiła 32,2, podczas gdy przecieri z dodatkiem $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ wykazywały od 9 do 21% niższą czerwoność barwy. Zauważono, że wzrost $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ w ilości od 100 do 300 $\mu\text{g/g}$ zwiększał degradację parametru a* co wskazywało na obniżenie jakości barwy wyrobu. Podobne zmiany na obniżenie wartości a* zaobserwowano przy dodatku $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Obecność jego w surowych przecierach, spowodowała obniżenie parametru a* od 8

Tab e l a III. Średnie wartości parametru a* (wraz z odchyleniami standardowymi) w przecierach marchwiowych z dodatkiem soli metali przed i po sterylizacji

Tab l e III. Mean values (with standard deviation) of the parameter a* in carrot pulps with added metal salts before and after sterilization

Próba	Parametr a*					
	Przed sterylizacją			Po sterylizacji		
	Stężenie dodatku ($\mu\text{g/g}$)			Stężenie dodatku ($\mu\text{g/g}$)		
	100	200	300	100	200	300
Kontrolna (bez dodatku soli metali)	32,2 \pm 0,148			25,6 \pm 0,164		
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	29,3 \pm 0,217	27,3 \pm 0,100	25,3 \pm 0,100	21,5 \pm 0,179	16,6 \pm 0,164	11,3 \pm 0,130
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	29,5 \pm 0,114	26,6 \pm 0,164	23,5 \pm 0,114	20,4 \pm 0,089	15,4 \pm 0,114	8,8 \pm 0,084
SnCl_2	34,3 \pm 0,207	36,7 \pm 0,130	30,2 \pm 0,100	30,4 \pm 0,131	33,2 \pm 0,084	23,2 \pm 0,084

* wartości średnie w wierszach różnią się statystycznie istotnie wraz ze wzrostem stężenia dodatku przy $\alpha=0,05$

do 27% w stosunku do próbki kontrolnej (bez dodatku $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). W próbach poddanych sterylizacji powyższe dodatki również intensyfikowały dalszy spadek parametru a^* . Dla porównania z ogrzewanym wariantem kontrolnym (bez dodatku soli metali), czerwoność barwy przecierów z dodatkiem $300 \mu\text{g/g}$ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ i $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ była niższa odpowiednio o 56 i 66%. Inny wpływ na wartość parametru a^* zaobserwowano przy dodatku SnCl_2 . W przeciwieństwie do $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ i $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, obecność SnCl_2 w nieogrzewanych przecierach w stężeniu 100 i $200 \mu\text{g/g}$ zwiększyła czerwoność barwy o 6 i 12% w stosunku do próbki kontrolnej (bez jego dodatku). Wyższe jednak stężenie SnCl_2 ($300 \mu\text{g/g}$) nie wykazywało już pozytywnego efektu na parametr a^* o czym świadczy jego 6-procentowy spadek. Podobne tendencje zmian obserwowano w próbkach z dodatkiem SnCl_2 po obróbce cieplnej. Próbki sterylizowane z dodatkiem 100 i $200 \mu\text{g/g}$ SnCl_2 wykazywały o 16 i 23% wyższą czerwoność barwy niż wariant kontrolny ogrzewany w tych samych warunkach. Przecier poddany obróbce cieplnej o wyższym dodatku SnCl_2 ($300 \mu\text{g/g}$), charakteryzował się mniejszą o 9% wartością parametru a^* w stosunku do próbki kontrolnej (bez jego dodatku).

Wykazano również, że zwiększenie dodatku soli metali w przecierach marchwiowych istotnie wpływało na zmianę parametru b^* (tab. IV). Wzrost stężenia $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ i $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ powodował podwyższenie udziału żółtości w ich barwie, podczas gdy dodatek SnCl_2 wykazywał efekt odwrotny. W wariantcie kontrolnym (bez dodatku soli metali) żółtość barwy kształtowała się na poziomie 35,2, a po procesie sterylizacji była niższa o 5%. Dodatek od 100 do $300 \mu\text{g/g}$ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ i $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ w nieogrzewanych przecierach, spowodował wzrost parametru b^* odpowiednio o 3 i 13% oraz o 6 i 15% w stosunku do próbki kontrolnej. Po obróbce cieplnej wartości tego wskaźnika wzrosły odpowiednio dla wariantów: z dodatkiem $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ o 13 i 21%, z dodatkiem $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ o 15 i 26%. Dodatek SnCl_2 obniżył z kolei żółtość barwy przecierów surowych do 28%, a sterylizowanych do 45% w odniesieniu do próbki kontrolnej (bez jego dodatku).

Tab e l a IV. Średnie wartości parametru b^* (wraz z odchyleniami standardowymi) w przecierach marchwiowych z dodatkiem soli metali przed i po sterylizacji

Table IV. Mean values (with standard deviation) of the parameter b^* in carrot pulps with added metal salts before and after sterilization

Próba	Parametr b^*					
	Przed sterylizacją			Po sterylizacji		
	Stężenie dodatku ($\mu\text{g/g}$)			Stężenie dodatku ($\mu\text{g/g}$)		
	100	200	300	100	200	300
Kontrolna (bez dodatku soli metali)	35,2 \pm 0,148			33,3 \pm 0,158		
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	36,2 \pm 0,100	39,4 \pm 0,100	40,6 \pm 0,114	38,2 \pm 0,130	40,4 \pm 0,114	42,4 \pm 0,111
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	37,3 \pm 0,055	39,7 \pm 0,089	41,3 \pm 0,084	39,3 \pm 0,152	43,2 \pm 0,122	45,3 \pm 0,084
SnCl_2	33,4 \pm 0,164	30,2 \pm 0,084	25,3 \pm 0,071	29,5 \pm 0,055	24,3 \pm 0,152	18,3 \pm 0,055

* wartości średnie w wierszach różnią się statystycznie istotnie wraz ze wzrostem stężenia dodatku przy $\alpha=0,05$

Analizowane przecieri różniły się statystycznie istotnie zawartością barwnika zarówno przed jak i po obróbce cieplnej (tab. V). W nieogrzanym wariantcie kontrolnym (bez dodatku soli metali) stężenie β -karotenu wynosiło 10,52 mg/100g, po sterylizacji natomiast obniżyło się do 8,47 mg/100g. W przecierach surowych i poddanych obróbce cieplnej, rosnący dodatek $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ oraz $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ miał istotny wpływ na spadek zawartości barwnika. Dodatek 100, 200 i 300 $\mu\text{g/g}$ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ zmniejszył stężenie β -karotenu w surowym przecierze odpowiednio o: 12, 28 i 46% w stosunku do wariantu kontrolnego (bez jego dodatku). Po obróbce cieplnej, zawartość barwnika w przecierach z dodatkiem $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ kształtowała się w zakresie od 6,52 do 1,85 mg/100g. W przypadku $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ stężenie barwnika w przecierach surowych obniżyło się o: 16, 33 i 52% w stosunku do próbki kontrolnej (bez dodatku $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), a po procesie sterylizacji o: 30, 59 i 88%. W odróżnieniu od $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ i $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dodatek SnCl_2 w ilości 100 i 200 $\mu\text{g/g}$ spowodował zwiększenie stężenia barwnika w przecierze surowym z 10,52 mg/100g (próbka kontrolna bez dodatku SnCl_2) do 11,03 i 11,66 mg/100g. W próbach sterylizowanych dodatek SnCl_2 kształtował również stężenie barwnika w wyższym zakresie (od 9,52 do 10,43 mg/100g), podczas gdy dla wariantu kontrolnego jego wartość wynosiła 8,47 mg/100g. Wprowadzenie do przecierów SnCl_2 w ilości 300 $\mu\text{g/g}$ nie wpływało już stabilizująco na barwnik marchwi i było powodem znacznego spadku jego stężenia. Dla porównania z wariantem kontrolnym (bez dodatku SnCl_2) zawartość barwnika w próbce surowej z SnCl_2 obniżyła się o 10%, a w sterylizowanej o 17%.

Tab e l a V. Średnie wartości β -karotenu (wraz z odchyleniami standardowymi) w przecierach marchwiowych z dodatkiem soli metali przed i po sterylizacji

Table V. Mean values (with standard deviation) of β -carotene in carrot pulps with added metal salts before and after sterilization

Próba	Zawartość β -karotenu					
	przed sterylizacją			po sterylizacji		
	stężenie dodatku ($\mu\text{g/g}$)			stężenie dodatku ($\mu\text{g/g}$)		
	100	200	300	100	200	300
Kontrolna (bez dodatku soli metali)	10,52 \pm 0,013			8,47 \pm 0,026		
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	9,23 \pm 0,018	7,59 \pm 0,030	5,63 \pm 0,032	6,52 \pm 0,024	4,22 \pm 0,021	1,85 \pm 0,017
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8,87 \pm 0,033	7,10 \pm 0,036	5,00 \pm 0,037	5,93 \pm 0,019	3,50 \pm 0,018	1,03 \pm 0,018
SnCl_2	11,03 \pm 0,019	11,66 \pm 0,013	9,45 \pm 0,022	9,52 \pm 0,008	10,43 \pm 0,019	7,05 \pm 0,015

* wartości średnie w wierszach różnią się statystycznie istotnie wraz ze wzrostem stężenia dodatku przy $\alpha=0,05$

Analiza korelacji wykazała ponadto, że istnieje wysoka zależność między obiektywnymi parametrami a^* i b^* , a zawartością β -karotenu w badanych przecierach marchwiowych. Zauważono, że w próbach z dodatkiem $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ oraz $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ spadkowi parametru a^* , towarzyszył wzrost parametru b^* , co wiązało się z degradacją

barwnika i zmianą naturalnej barwy w kierunku niemożliwym do zaakceptowania. Odwrotny efekt zmian parametrów a^* i b^* obserwowano natomiast przy SnCl_2 w ilości 100 i 200 μg , który jak wykazały wyniki poza zwiększeniem trwałości barwy, stabilizował również obecny w przecierach β -karoten.

Obowiązujące przepisy – Rozporządzenie Ministra Zdrowia (9) plasują chlorek cyny (E 512) na pozytywnej liście w grupie środków pomocniczych, przypisując mu określenie przeciwutleniacza i stabilizatora barwy. Zgodnie z powyższym rozporządzeniem chlorek cyny jest dodawany między innymi do białych szparagów przetwarzanych na konserwy w maksymalnej dawce 25 mg/kg. Według PN-A-77606 (10), zawartość jonów cyny w przecierach pomidorowych pakowanych w opakowania metalowe nie powinna być wyższa niż 100 mg/kg. Z kolei zgodnie z FAO/WHO maksymalny poziom cyny dla żywności w puszkach nie powinien być większy niż 250 mg/kg (11). Uwzględniając powyższe wytyczne można przyjąć, że dodatek jonów cyny stosowany w stężeniu 63 i 125 $\mu\text{g}/\text{g}$ jest w pełni bezpieczny z punktu zachowania zdrowia konsumenta.

Korzystny wpływ jonów cyny na barwę i trwałość likopenu w przecierach pomidorowych potwierdziły badania *Przybylskiej* i współpr. (12). Autorzy wykazali, że zastosowane jony cyny, zwiększyły czerwonosć barwy produktu, z jednoczesnym zachowaniem wysokiej stabilności likopenu.

W odniesieniu do badań przeprowadzonych w niniejszej pracy przyjęto, że jony cyny mogą również efektywnie oddziaływać nie tylko na likopen obecny w 90% w pomidorach (co wykazały badania wcześniejsze), ale i na β -karoten stanowiący główny barwnik marchwi.

W przypadku próbek z dodatkiem $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ i $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, zauważono, że wzrost ich stężenia wpływał degradująco na barwę jak i stabilność barwnika. Dodatkowo efekt niszczenia barwy produktu, z tymi solami metali wzmagał również proces sterylizacji. Otrzymane dane eksperymentalne pozwoliły stwierdzić, że dodatek $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ i $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ do przecierów marchwiowych obniża jasność i czerwonosć ich barwy, kosztem wzrostu parametru b^* (o 21 i 26%). Z literatury wiadomo, że w produktach bogatych w β -karoten, ogrzewanych w obecności jonów metali zachodzą istotne zmiany sensoryczne, prowadzące zarówno do zaniku charakterystycznej pomarańczowo-czerwonej barwy jak i zmiany aromatu (13). Negatywny wpływ jonów Fe^{2+} i Cu^{2+} na parametry barwy przecierów pomidorowych (spadek wartości L^* , a^* i wzrost b^*) potwierdzili również w swoich badaniach *Shi* i współpr. (14) oraz *Przybylska* i współpr. (12). Według natomiast *Czarneckiej-Skubina* i *Salek* (15) jony Fe^{2+} i Cu^{2+} , poza niekorzystnymi zmianami barwy przecierów warzywnych, mogą również obniżać stężenie barwników karotenoidowych (likopen i β -karoten), co potwierdza ich prooksydacyjne działanie. Jak wykazały wyniki badań, dodatek $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ w ilości 100, 200 i 300 $\mu\text{g}/\text{g}$, spowodował w niesterylizowanych przecierach marchwiowych straty w stężeniu β -karotenu, wynoszące: 12, 28 i 48%, a po obróbce cieplnej: 23, 50 i 78%. W przypadku dodatku $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ straty w zawartości barwnika kształtowały się przed ogrzewaniem w zakresie od 16 do 52%, a po od 30 do 88%.

Uwzględniając dodatek SnCl_2 w ilości 100 i 200 $\mu\text{g}/\text{g}$, zauważono dużą jego efektywność w kształtowaniu korzystnych wartości parametrów barwy. Obecność jego w powyższym zakresie stężeń wpływała na wzrost parametru L^* i a^* oraz

spadek żółtości barwy produktu, co potwierdziło jego dużą skuteczność w utrzymaniu właściwej barwy przed jak i po procesie sterylizacji. Przeciery poddane obróbce cieplnej z dodatkiem jonów cyny w ilości 63 i 125 $\mu\text{g/g}$, wykazywały o 16 i 23% wyższy udział czerwoności w barwie w porównaniu z próbką kontrolną (bez dodatku SnCl_2), ogrzewaną w tych samych warunkach. Jednocześnie i udział barwnika w analizowanych próbkach był wyższy o 11 i 19%. Zachowanie większej ilości β -karotenu w przecierach z dodatkiem jonów cyny (63 i 125 $\mu\text{g/g}$) potwierdza ich właściwości antyoksydacyjne wobec barwników karotenoidowych. Zwiększenie natomiast jonów cyny do 188 $\mu\text{g/g}$ w przecierach nie wykazywało już takiego efektu i przyczyniło się do spadku ich czerwoności oraz obniżenia zawartości barwnika. Można zatem przypuszczać, że zbyt wysokie stężenie jonów cyny, może inicjować z kolei procesy oksydacyjne β -karotenu w badanych przecierach.

WNIOSKI

1. Wzrost stężenia $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ i $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ w przecierach marchwiowych, intensyfikuje pogorszenie składowych barwy: spadek parametru L^* i a^* oraz zwiększenie parametru b^* ,
2. Oba dodatki $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ i $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ degradują barwnik marchwi, którego straty w próbach sterylizowanych wynoszą: od 23 do 78% i od 30 do 80%,
3. Zastosowany w przecierach SnCl_2 w zakresie od 100 do 200 $\mu\text{g/g}$ wpływa korzystnie na parametry barwy L^* , a^* i b^* oraz na stabilność β -karotenu, ale przy stężeniu wyższym (300 $\mu\text{g/g}$) wykazuje działanie odwrotne,
4. Zmiany parametrów a^* i b^* korelują z zawartością β -karotenu, co pozwala na wykorzystanie ich jako obiektywnych wskaźników do oceny jakości badanych przecierów.

S. Przybylska

THE EFFECT OF METAL IONS ON THE COLOUR AND β -CAROTENE CONTENT IN STERILISED CARROT PULP

Summary

The effect of addition of $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, and SnCl_2 on the colour and β -carotene content in carrot pulps before and after sterilization ($121^\circ\text{C}/30'$) was assayed. The increase in the proportion of added $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ and $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (from 100 to 300 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$) adversely affects objective colour parameters, causing a decline in the value of L^* and a^* and an increase in the value of b^* . Both supplements also showed a strong prooxidative activity to β -carotene. In the sterilized samples, the presence of $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ increased dye losses by 23% to 78%, while for $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ the increase in dye losses was from 30% to 80%. In contrast to those metal salts, the addition of SnCl_2 at 100 and 200 $\mu\text{g/g}$ favourably affected the colour and stability of β -carotene. At a higher concentration of 300 $\mu\text{g/g}$, SnCl_2 showed no positive effect. Changes to the parameter a^* and b^* correlated with β -carotene content of carrot, which makes it possible to use those parameters as indicators to assess the qualitative changes in the studied pulps.

PIŚMIENNICTWO

1. Świetlikowska K.: Surowce spożywcze pochodzenia roślinnego. SGGW, Wyd. I, Warszawa 2006.
- 2. Jarczyk A., Berdowski J.B.: Przetwórstwo owoców i warzyw. Cz I. WSiP, Wyd. I, Warszawa, 1999.
- 3. Simon P.W., Lindsay R.C.: Effects of processing upon objective and sensory variables of carrots. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 1983; 108: 416-420.
- 4. Delgado-Vargas F., Paredes-López O.: Natural colorants for food and nutraceutical uses. 2003. CRP PRESS LLC, Boca Raton, London, New York, Washington.
- 5. Castenmiller J.J.M., West C.E.: Bioavailability and bioconversion of carotenoids. Ann. Rev. Nutr., 1998; 18: 19-38.
- 6. PN-R-75358:1984. Ocena jakości marchwi świeżej.
- 7. PN-A-75101-12:1990. Oznaczanie zawartości karotenoidów.
- 8. Hart D.J., Scott K.J.: Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in food, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. Food Chem., 1995; 54: 101-111.
- 9. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 18 września 2008 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych i substancji pomagających w przetwarzaniu. Dz. U. nr. 177, poz. 1094.
- 10. PN-A-77606. Przecier pomidorowy.
11. Food and Agriculture Organization /World Health Organization. Codex Alimentarius-Procedure Manual 2001. Microchim. Acta. 2003; 141: 149-155.
- 12. Przybylska S., Iwański R., Tokarczyk G.: Wpływ powietrza i dodatku soli metali na zmiany barwy przecieru pomidorowego podczas sterylizacji. Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin., 2009; 272: 55-72.
- 13. Desobry S.A., Netto F.M., Labuza T.P.: Preservation of β -carotene from carrots. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 1998; 38: 381-396.
- 14. Shi J., Le Maguer M., Kakuda Y., Liptay A.: Lycopene degradation and isomerization in tomato dehydration. Food Res. Intl., 1999; 32: 15-21.
- 15. Czarnecka-Skubina E., Salek M.: Zmiany barwy produktów żywnościowych podczas przygotowania potraw. W: Podstawy technologii gastronomicznej. Ed. S. Zalewski, WNT, Wyd. I, Warszawa, 2003.

Adres: 71-479 Szczecin, ul. Papieża Pawła VI nr 3

Maciej Bilek, Natalia Matłok¹⁾, Józef Gorzelany¹⁾, Janina Kaniuczak²⁾

ZASTOSOWANIE METODY HPLC-ELSD I HPIC-CD DO OCENY SKŁADU CHEMICZNEGO OWOCÓW POMIDORA SZKLARNIOWEGO

Wydziałowe Laboratorium Analiz Zdrowotności Środowiska i Materiałów Pochodzenia Rolniczego, Wydziału Biologiczno-Rolniczego Uniwersytetu Rzeszowskiego
Kierownik: prof. dr hab. inż. *J. Kaniuczak*

¹⁾ Katedra Inżynierii Produkcji Rolno-Spożywczej
Wydziału Biologiczno-Rolniczego Uniwersytetu Rzeszowskiego
Kierownik: prof. dr hab. inż. *S. Sosnowski*

²⁾ Katedra Gleboznawstwa, Chemii Środowiska i Hydrologii
Wydziału Biologiczno-Rolniczego Uniwersytetu Rzeszowskiego
Kierownik: prof. dr hab. inż. *J. Kaniuczak*

W pracy określono przydatność metod chromatograficznych do oceny zawartości cukrów prostych i anionów nieorganicznych w owocach. Wybrano cztery odmiany pomidora szklarniowego, pochodzące ze szklarni o jednorodnych warunkach wzrostu i rozwoju roślin. Uzyskane wyniki są zgodne z otrzymywanymi tradycyjnymi metodami analitycznymi. Potwierdzono przydatność zestawu HPLC-ELSD do badania cukrów w owocach oraz chromatografii jonowej do badania anionów nieorganicznych.

Słowa kluczowe: chromatografia cieczowa HPLC z detekcją ELSD, chromatografia jonowa HPIC z detekcją konduktometryczną, cukry proste, aniony nieorganiczne, pomidor szklarniowy.

Key words: high performance liquid chromatography with ELSD detection, ion chromatography with conductometric detection, sugars, inorganic anions, greenhouse tomato.

Zawartość węglowodanów i anionów nieorganicznych jest istotnym parametrem jakościowym i zdrowotnym owoców i warzyw (1). Z tego też powodu badania zawartości tych składników są wykonywane w laboratoriach analitycznych bardzo często. Dla oznaczania zawartości cukrów prostych stosuje się najczęściej metody miareczkowe: *Luff-Schoorla* (2), *Shaffera-Hartmana* i *Lothrop-Holmesa* (3) *Lane-Eynona* (4) lub metodą kolorymetryczną *Somogyi-Nelsona* (5). Natomiast ocenę zawartości anionów nieorganicznych ogranicza się do azotanów (V) i azotanów(III), które oznacza się metodą spektrofotometryczną, zalecaną przez Polskie Normy (PN-92/A-75112 „Owoce, warzywa i ich przetwory. Oznaczenie zawartości azotanów i azotynów”) (6, 7).

Od stosunkowo niedawna w laboratoriach o typowo rolniczym i żywnościowym profilu wprowadzono dla oznaczania zawartości cukrów metody chromatograficzne.

W owocach pomidorów chromatograficznie cukry analizowano z użyciem detekcji refraktometrycznej (8, 9, 10). Natomiast w oznaczaniu zawartości anionów nieorganicznych w produktach żywnościowych – głównie azotanów(III) i azotanów(V) – znaczenia nabrała ostatnio elektroforeza kapilarna (11) i klasyczna chromatografia cieczowa z detekcją spektrofotometryczną (12), podczas gdy metoda chromatografii jonowej nadal pozostaje standardowym narzędziem do analizy wodnych próbek środowiskowych i płynnych próbek żywnościowych (13, 14).

W pracy podjęto próbę zastosowania metod chromatograficznych do analizy składu owoców. Do oszacowania zawartości cukrów prostych użyto metodę chromatografii cieczowej wysokosprawnej z detekcją rozproszonego światła laserowego, zaś do oceny anionów nieorganicznych – metodę chromatografii jonowej z detekcją konduktometryczną. Jako obiekt badań wybrano owoce czterech odmian pomidora, gatunku powszechnie znanego i cenionego ze względu na smakowe i zdrowotne walory owoców.

MATERIAŁ I METODY

Dla wykazania potencjalnej przydatności wymienionych metod chromatograficznych do oceny zawartości cukrów i anionów nieorganicznych w owocach, pobrano do analizy owoce pomidora czterech odmian: VPI F₁ Pink King, Faworyt, Malinowy Olbrzym i Akron F₁, uprawianych w jednej szklarni, metodą ekologiczną z wykorzystaniem kropelkowego systemu nawadniania oraz ochrony i nawożenia przy użyciu efektywnych mikroorganizmów (EM). Pomidory uprawiane były na naturalnym substracie BioKing. Nasiona przed wysianiem zaprawiane były 10% roztworem EM Naturalnie Aktywny. W trakcie procesu wegetacji systematycznie prowadzone były zabiegi bezpośredniego oprysku roślin preparatem EM Naturalnie Aktywny o stężeniu ok. 15% oraz rozcieńczonym w stosunku 1:10 wodnym maceratem z pokrzyw.

Owoce badanych odmian pomidorów szklarniowych, pobrane w stadium dojrzałości konsumpcyjnej, przewieziono do Wydziałowego Laboratorium Analiz Zdrowotności Środowiska i Materiałów Pochodzenia Rolniczego Wydziału Biologiczno-Rolniczego Uniwersytetu Rzeszowskiego, gdzie bezpośrednio po dostarczeniu wykonano analizy.

Próbki do analizy zawartości cukrów przygotowywane były wg następującej procedury: trzy owoce każdej z czterech odmian homogenizowano osobno w młynku laboratoryjnym, a następnie odważano po 10 g materiału i przenoszono do trzech kolbek okrągłodennych. Dodawano 30 cm³ 96% etanolu i 10 cm³ wody destylowanej. Próbki następnie utrwalano poprzez gotowanie pod chłodnicą zwrotną przez 30 min i odwirowywano w wirówce (4500 obrotów, 30 min). Supernatanty zlewano do kolbek miarowych i uzupełniano wodą dejonizowaną do obj. 50 cm³. Analizę chromatograficzną uzyskanych w ten sposób dwunastu próbek (po trzy dla każdej z czterech odmian) poprzedzało przesączenie przez filtry strzykawkowe MCE (mieszanka estrów celulozy) o średnicy porów 0,45 μm, pochodzące z firmy Alchem.

Do analizy zawartości cukrów w badanych owocach pomidora zastosowano wysokosprawny chromatograf cieczowy firmy Varian, składający się z dwóch pomp wysokociśnieniowych Varian LC 212, automatycznego podajnika prób Varian ProStar 410,

ewaporacyjnego detektora promieniowania rozproszonego Varian ELSD 385 LC oraz modułu integrującego Varian Star 800. Do rozdzielenia chromatograficznego użyto kolumny chromatograficznej Cosmosil Sugar D 5 μm , 250 mm \times 4,6 mm. Ustalono optymalne parametry analizy chromatograficznej: przepływ izokratyczny; skład fazy ruchomej: acetonitryl:woda 80:20 v/v; prędkość przepływu fazy ruchomej: 1 cm^3/min ; objętość nastrzyku: 25 μl ; temp. wewnątrz termostatu kolumnowego: 35°C; temp. tacy automatycznego podajnika próbek: 4°C.

Oszacowano podstawowe parametry walidacyjne zastosowanej metody analitycznej. Specyficzność metody została potwierdzona nastrzykami pojedynczych wzorców badanych cukrów: fruktozy, glukozy i sacharozy oraz ich mieszaniny. Precyzję potwierdzano poprzez trzykrotne powtórzenia nastrzyku zestawu wzorców i każdej z próbek. Dla trzech wymienionych cukrów określona została również liniowość odpowiedzi detektora na zadane stężenia roztworów wzorcowych w zakresie od 1,0 do 20 mg/cm^3 . Pełna kalibracja została przeprowadzona na początku i na końcu analizy (36 nastrzyków, 12 godz.). Krzywe kalibracyjne dla każdej serii otrzymywano wyciągając średnią z dwóch wartości uzyskanych dla każdego poziomu kalibracyjnego w odstępnie 12 godz. Dla fruktozy uzyskano krzywą o wzorze $y = 39,642x - 38,064$ i współczynniku $R^2 = 0,9992$, dla glukozy o wzorze $y = 40,652x - 45,175$ i współczynniku $R^2 = 0,999$, zaś dla sacharozy o wzorze $y = 39,25x - 53,378$ i współczynniku $R^2 = 0,998$. Wzorce cukrów pochodziły z firmy Sigma-Aldrich.

Próbki do oceny zawartości anionów nieorganicznych przygotowywane były wg następującej procedury: trzy owoce każdej z czterech badanych odmian homogenizowano osobno z użyciem młynka laboratoryjnego. Następnie, do zlewki obj. 250 cm^3 , przenoszono 10 g naważki, które zalewano wodą dejonizowaną do objętości ok. 90 cm^3 i intensywnie wytrząsano przez 15 min. Otrzymany wodny ekstrakt przenoszono do kolbek miarowych obj. 100 cm^3 i uzupełniano wodą dejonizowaną do kreski. Tak otrzymano po trzy próbki dla każdej z czterech odmian, które przed nastrzyknięciem na układ chromatograficzny były sączone przez filtry strzykawkowe MCE 0,45 μm , pochodzące z firmy Alchem.

Do oceny zawartości anionów w owocach pomidorów zastosowano metodę chromatografii jonowej z wykorzystaniem aparatu Dionex ICS 1000, sterowanego przez program Chromeleon w wersji 6.8. Roztwór wzorcowy, zawierający siedem anionów, pochodził z firmy Thermo Scientific. Fazę ruchomą sporządzono rozcieńczając stukrotnie roztwór wyjściowy węgla i wodorowęglanu sodu (0,8 mol/dm^3 $\text{Na}_2\text{CO}_3/0,1$ mol/dm^3 NaHCO_3) firmy Thermo Scientific, dedykowany kolumnie analitycznej AS 14A. Stosowano przepływ izokratyczny o prędkości 1 cm^3/min . Rozdział chromatograficzny prowadzono za pomocą kolumny analitycznej IonPack AS 14A wraz z kolumną ochronną AS 14G firmy Thermo Scientific. Kolumnę termostutowano w temp. 30°C. Stosowano detekcję konduktometryczną, a temp. celki pomiarowej wynosiła 35°C. Do tłumienia przewodnictwa fazy zastosowano supresor ASRS-4 mm. Częstotliwość szczytywania danych ustalono na 5.0 Hz. Chromatogramy opracowywano za pomocą programu Chromeleon 6.8.

Oszacowano podstawowe parametry walidacyjne zastosowanej metody analitycznej. Specyficzność metody została potwierdzona nastrzykami zestawu wzorców siedmiu anionów nieorganicznych. Określona została liniowość odpowiedzi detektora na zadane stężenia roztworów wzorcowych w zakresie od 1 do 20 mg/dm^3 dla

fluorków, od 5 do 100 mg/dm³ dla chlorków, azotanów(III), bromków, azotanów(V) i siarczanów(VI) oraz od 10 do 200 mg/dm³ dla fosforanów. Dla anionów fluorkowych uzyskano krzywą kalibracyjną o wzorze $y = 0,3329x - 0,1869$ i współczynnika $R^2 = 0,9989$, dla anionów chlorkowych uzyskano krzywą kalibracyjną o wzorze $y = 0,2932x - 1,4205$ i współczynnika $R^2 = 0,9989$, dla anionów azotanowych(III) uzyskano krzywą kalibracyjną o wzorze $y = 0,1477x - 0,3295$ i współczynnika $R^2 = 0,9992$, dla anionów bromkowych uzyskano krzywą kalibracyjną o wzorze $y = 0,1075x - 0,5488$ i współczynnika $R^2 = 0,9979$, dla anionów azotanowych(V) uzyskano krzywą kalibracyjną o wzorze $y = 0,154x - 0,8624$ i współczynnika $R^2 = 0,9977$, dla anionów fosforanowych uzyskano krzywą kalibracyjną o wzorze $y = 0,0791x - 1,0334$ i współczynnika $R^2 = 0,9972$, zaś dla anionów siarczanowych(VI) uzyskano krzywą kalibracyjną o wzorze $y = 0,2x - 1,0863$ i współczynnika $R^2 = 0,9978$.

Precyzję opisanej metody analitycznej potwierdzano poprzez trzykrotne powtórzenia nastrzyku zestawu wzorców i każdej z próbek. Stabilność układu chromatograficznego kontrolowana była w 5 godz. odstępach poprzez nastrzyki zestawu wzorców w którym stężenia anionów odpowiadały najczęściej uzyskiwanym wynikom dla przygotowanych próbek. Ponadto, celem potwierdzenia identyfikacji poszczególnych analitów, dla każdej próbki prowadzono kontrolę poprzez fortyfikację wzorcem siedmiu anionów.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W tab. I przedstawiono wyniki analiz chromatograficznych oznaczania zawartości cukrów prostych w owocach pomidora szklarniowego. W żadnej z badanych odmian nie odnotowano obecności sacharozy, w każdej zaś stwierdzono zawartość fruktozy i glukozy. Średnia zawartość fruktozy w owocach badanych odmian pomidorów szklarniowych wynosiła od 0,86 g/100 g surowca dla owoców odmiany VP1 F₁ „Pink King” do 1,24 g/100 g surowca dla odmiany Akron F₁. Średnia zawartość fruktozy w owocach czterech badanych odmian pomidorów szklarniowych wynosiła 1,05 g/100 g surowca. Natomiast zawartość glukozy w badanych owocach pomidorów była w zakresie od 0,57 g/100 g surowca dla odmiany VP F₁ „Pink King” do 0,93 g/100 g surowca dla owoców pomidora odmiany Akron F₁. Średnia zawartość glukozy dla wszystkich badanych odmian pomidorów wynosiła 0,74 g/100 g surowca.

Największą zawartością cukrów prostych wśród badanych czterech odmian pomidorów szklarniowych uprawianych metodą ekologiczną odznaczała się odmiana Akron F₁. Średnia suma glukozy i fruktozy w owocach pomidorów tej odmiany wynosiła 2,16 g/100 g surowca. Średnie sumy cukrów w pomidorach odmiany Faworyt i Malinowy Olbrzym były zbliżone i wynosiły odpowiednio: 1,74 g/100 g surowca i 1,81 g/100 g surowca. Najmniejszą średnią sumę cukrów prostych, wynoszącą 1,44 g/100 g surowca, odnotowano dla odmiany VP F₁ „Pink King”.

Otrzymane wyniki są zbieżne z wynikami otrzymanymi klasycznymi metodami miareczkowymi. Według danych historycznych, w zależności od miejsca poboru i odmiany, zawartość glukozy w świeżych owocach pomidorów wynosi od 1,89 do 2,50 g/100 g, zaś fruktozy od 1,59 do 2,04 g/100 g (3). Szereg publikacji podaje wy-

niki dla sumy tzw. „cukrów redukujących” lub „cukrów ogółem”, co w przypadku owoców pomidora oznacza zawartość glukozy i fruktozy. W badaniach polskich autorów uzyskiwano m.in. następujące wyniki zawartości cukrów redukujących w 100 g świeżej masy owoców pomidora: od 2,62 do 2,83 (2), od 2,07 do 3,93 (3), od 1,37 do 2,06 (15). Według danych uzyskanych metodą HPLC z detekcją refraktometryczną (RI), zawartość sacharozy w różnych odmianach pomidorów jest śladowa (poniżej 0,1%). Natomiast dwoma wykrywanymi cukrami redukującymi są glukoza i fruktoza, które łącznie, w zależności od odmiany i pory zbioru, stanowią od 2,17 do 5,00 g/100 g świeżych owoców (8) i od 2,21 do 4,66 g/100 g świeżych owoców (9). Z użyciem detekcji refraktometrycznej określana była także zawartość poszczególnych cukrów w świeżej masie owoców pomidora, która wynosiła od 1,017 do 1,202 dla fruktozy i od 1,064 do 1,346 dla glukozy (10).

Tab e l a I. Zawartość fruktozy i glukozy w badanych próbkach

Table I. Content of fructose and glucose in the studied samples

Odmiana	Naważka	Zawartość (g/100 g surowca)			
		fruktoza ± SD, (n=3)	glukoza ± SD, (n=3)	suma cukrów	średnia suma cukrów
VP1 F ₁ „Pink King”	1	0,74±0,052	0,47±0,074	1,21	1,44±0,246
	2	1,02±0,067	0,68±0,028	1,70	
	3	0,84±0,055	0,57±0,161	1,41	
Faworyt	1	1,08±0,050	0,80±0,050	1,88	1,74±0,120
	2	0,99±0,199	0,66±0,200	1,65	
	3	0,92±0,068	0,78±0,059	1,70	
Malinowy Olbrzym	1	0,96±0,037	0,62±0,022	1,58	1,81±0,225
	2	1,20±0,108	0,83±0,154	2,03	
	3	1,13±0,084	0,71±0,129	1,84	
Akron F ₁	1	0,96±0,008	0,70±0,027	1,66	2,16±0,525
	2	1,23±0,057	0,90±0,074	2,13	
	3	1,52±0,117	1,19±0,195	2,71	

W tab. II zamieszczono wyniki dotyczące zawartości anionów nieorganicznych w owocach pomidora szklarniowego.

W profilu anionów nieorganicznych możliwe było zidentyfikowanie fluorków, chlorków, azotanów(V), fosforanów i siarczanów(VI). Problematiczne jest natomiast określenie zawartości azotanów(III), ze względu na koelucję z niezidentyfikowanym składnikiem przy opisanych warunkach chromatografowania. Najwyższe stężenia odnotowano dla fosforanów. Średnia ich zawartość była w zakresie od 84,78 mg/100 g surowca dla odmiany Akron F₁ do 131,09 mg/100 g surowca dla odmiany VIP F₁ „Pink King”. Zawartość chlorków w badanych owocach pomidorów wynosiła średnio od 23,88 mg/100 g surowca dla odmiany Akron F₁ do 43,17 mg/100 g surowca dla odmiany Malinowy Olbrzym. Średnie zawartości azotanów(V) wynosiły od 7,44 mg/100 g surowca dla odmiany Akron F₁ do 11,11 mg/100 g surowca dla odmiany

Malinowy Olbrzym, natomiast siarczanów(VI) od 17,48 mg/100 g surowca dla odmiany VP1 F₁ „Pink King” do 22,81 mg/100 g surowca dla odmiany Akron F₁. Najniższą stwierdzoną zawartością w badanym profilu anionów nieorganicznych odznaczały się fluorki. Ich średnia zawartość wynosiła od 3,65 mg/100 g surowca dla odmiany Faworyt do 5,08 mg/100 g surowca dla odmiany Malinowy Olbrzym.

Tabela II. Zawartość anionów nieorganicznych w badanych próbkach

Table II. Content of inorganic anions in the studied samples

Odmiana	Naważka	Zawartość (mg/100 g surowca)				
		fluorków ±SD, (n=3)	chlorków ± SD, (n=3)	azotanów ± SD, (n=3)	fosforanów ± SD, (n=3)	siarczanów ± SD, (n=3)
VP1 F ₁ „Pink King”	1	3,79±0,034	34,88±0,190	9,77±0,020	130,19±0,151	16,52±0,009
	2	3,58±0,115	38,59±0,089	9,89±0,036	132,91±0,900	17,32±0,031
	3	4,49±0,067	44,68±0,069	10,19±0,017	130,18±0,130	18,62±0,020
Faworyt	1	4,96±0,010	32,35±0,120	9,01±0,030	86,71±0,075	20,94±0,015
	2	2,66±0,056	28,94±0,097	8,76±0,090	84,57±0,056	20,96±0,041
	3	3,35±0,076	28,87±0,090	9,30±0,014	88,02±0,091	20,50±0,081
Malinowy Olbrzym	1	4,67±0,109	43,19±0,083	10,39±0,023	129,28±0,102	19,03±0,010
	2	5,62±0,012	40,06±0,131	10,61±0,054	125,17±0,009	16,69±0,091
	3	4,95±0,098	46,26±0,191	12,34±0,010	137,24±0,056	19,87±0,063
Akron F ₁	1	3,47±0,030	22,87±0,090	7,30±0,004	81,02±0,081	22,17±0,009
	2	3,79±0,082	23,84±0,012	7,23±0,027	84,16±0,090	22,70±0,019
	3	4,05±0,029	24,94±0,109	7,81±0,049	89,18±0,113	23,57±0,027

Spośród anionów nieorganicznych najczęściej badana była do tej pory w owocach pomidora zawartość azotanów(III) i azotanów(V) metodą spektrofotometryczną. Odnotowane zawartości azotanów(V) w pomidorach pochodzących z regionu łódzkiego, zebranych w okresie wiosenno-letnim, wynosiły od 68,9 do 125,3 mg/kg świeżych owoców (7), w pomidorach pozyskanych z handlu detalicznego w Olsztynie na przestrzeni dwóch okresów wegetacyjnych od 3,72 do 90,84 mg/kg świeżych owoców (6), zaś w trzech odmianach pomidorów, uprawianych w stacji eksperymentalnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego, od 76,54 do 337,17 mg/kg świeżych owoców (16). Podobnie kształtowały się zawartości azotanów(V) oznaczone w pomidorach metodą chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną: w zakresie od 30 do 100 mg/kg świeżych owoców (17).

Zawartości innych anionów nieorganicznych w świeżych owocach pomidora nie badano do tej pory. Zagadnienie siarczanów(VI) pojawia się w wynikach badań wyłącznie w kontekście upraw pomidora, w których modyfikowano doglebową podaż tego anionu w nawozach mineralnych (18) lub zawartości w liściach i korzeniach, nie zaś owocach (19). Dostępnych jest wiele wyników badań zawartości fluorków w przetwarzanych produktach spożywczych, takich jak soki, czy przeciery owocowe i warzywne, także pomidorowe. Nieliczne dotyczą obecności fluorków w świeżych owocach. Jedyna praca analityczna, w której badano zawartość fluorków w po-

midorach dotyczy suszonego materiału roślinnego, a zastosowaną techniką była jonoselektywna elektroda fluorkowa (20).

WNIOSKI

1. Zastosowanie metod chromatograficznych, z opisanym sposobem przygotowywania próbki, potwierdza wyniki uzyskane przez innych autorów klasycznymi metodami analitycznymi;
2. Metoda wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją ELSD pozwala, w przeciwieństwie do tradycyjnych metod miareczkowych, określić zawartość poszczególnych cukrów prostych w badanej próbce: fruktozy i glukozy;
3. Metoda chromatografii jonowej pozwala na jednoczesne określenie zawartości w próbce pięciu anionów nieorganicznych, w tym najczęściej badanych azotanów (V), jednak oznaczenie zawartości azotanów (III), przy opisanych warunkach chromatografowania, jest problematyczne.
4. Metody chromatograficzne, dzięki wysokiej precyzji i automatyzacji, pozwalają na szybkie i rutynowe analizy próbek owoców.

M. Bilek, N. Matłok, J. Gorzelany, J. Kaniuczak

APPLICATION OF THE HPLC-ELSD AND HPIC-CD METHODS TO EVALUATE CHEMICAL COMPOSITION OF GREENHOUSE TOMATO FRUITS

Summary

The aim of the study was to determine the usefulness of high performance liquid chromatography with the evaporation light scattering radiation detection (HPLC-ELSD) and ion chromatography with conductometric detection (HPIC-CD) to analyze the chemical contents of fruits, i.e. sugars and inorganic anions. Currently, these analyzes are performed mostly by the conventional analytical titration methods. Four greenhouse tomato varieties were selected and obtained from one greenhouse with uniform conditions of plant growth and development. The results are consistent with the results obtained by conventional analytical methods and chromatographic methods with other types of detection. Usefulness of HPLC-ELSD set to test the sugar content in fruits and ion chromatograph to examine the content of inorganic anions was confirmed. High performance liquid chromatography with ELSD detection allows – in contrast to traditional titration methods – determine the content of each monosaccharide in the sample. Similarly, ion chromatography method enables the simultaneous determination of the content of five inorganic anions, including the most frequently studied nitrates. The disadvantage of this method is the inability to determine the content of nitrites in the specified chromatographic conditions. These chromatographic methods, owing to the high precision and automation, in combination with the described methods of sample preparation, facilitate rapid routine analysis of the contents of fruits. .

PIŚMIENNICTWO

1. Raben A., Hermansen K.: Health Aspects of Mono- and Disaccharides. Eliasson A. (red.): Carbohydrates in Food, Taylor&Francis Boca-Raton, 2006; 89-128. – 2. Kleiber T., Markiewicz B.: Application of „Tytanit” in greenhouse tomato growing. Acta Sci. Pol. Hort. Cult., 2013; 12(3): 117-126. – 3. Saywell L.G., Robertson D.P.: Carbohydrate content of tomato fruit. Plant Physiol. 1932; 7(4): 705-710. – 4. Winiarska S., Kolota E.: Porównanie plonowania i wartości odżywczej wybranych odmian pomidora w uprawie przy palikach w tunelu foliowym. Roczn. Akad. Rol. Pozn. 2007; 383(41): 655-659. – 5. Jabłońska-Ryś

E., Zalewska-Korona M.: Ocena przydatności do przetwórstwa owoców pomidora gruntowego nowych linii hodowlanych. *Nowości Warzywnicze*, 2010; 50(1): 19-28. – 6. *Murawa D., Banaszekiewicz T., Majewska E., Błaszczuk B., Sulima J.*: Zawartość azotanów (III) i (V) w wybranych gatunkach warzyw i ziemniakach dostępnych w handlu w Olsztynie w latach 2003–2004. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2008; 41(1): 67-71. – 7. *Gajewska M., Czajkowska A., Bartodziejska B.*: Zawartość azotanów (III) i (V) w wybranych warzywach dostępnych w handlu detalicznym regionu łódzkiego. *Ochr. Środ. Zas. Nat.*, 2009; 40: 388-395. – 8. *Georgelis N., Scott J.W., Baldwin E.A.*: Relationship of tomato fruit sugar concentration with physical and chemical traits and linkage od RAPD markers. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 2004; 129(6): 839-845. – 9. *Georgelis N.*: High fruit sugar characterization, inheritance and linkage of molecular markers in tomato. University of Florida 2002: 16-18. – 10. *Smoleń S., Wierzbicka J., Liszka-Skoczylas M., Rakoczy R.*: Wpływ formy jodu na plonowanie oraz jakość owoców pomidora uprawianego w systemie hydroponicznym CKP. *Ochr. Środ. Zas. Nat.*, 2011; 48: 59-66.

11. *Olędzka I., Konieczna L.*: Opracowanie metody oznaczania zawartości azotanów (III) i (V) w przetworach mięsnych z zastosowaniem kapilarnej elektroforezy strefowej. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009; 42(3): 503-507. – 12. *Jobgen W.S., Meininger S. C., Li H., Meininger C. J., Wu G.*: Analysis of nitrite and nitrate in biological Samples Using high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. B.*, 2007; 851(1-2): 71-82. – 13. *Bilek M., Stawarczyk K., Kaniuczak J.*: Fluorki w wybranych herbatach ekspresowych. *Zesz. Nauk. Pol.-Wsch. Oddz. Pol. Tow. Inż. Ekol. i PTG O Rzeszów*, 2013; 16(1): 7-12. – 14. *M. Bilek, M. Stawarczyk, A. Stepien, M. Pieniążek*: Analiza wybranych parametrów jakościowych i zdrowotnych win wytrawnych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2013; 46(4): 440-448. – 15. *Zalewska-Krona M., Jabłońska-Ryś E., Michalak-Majewska M.*: Wartości odżywcze i prozdrowotne owoców pomidora gruntowego. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2013; 46(2): 200-205. – 16. *Majkowska-Gadomska J., Arcichowska K., Wierzbicka B.*: Nitrate content of the edible part of vegetables and spice plants. *Acta Sci. Pol., Hort. Cult.*, 2009; 8(3): 25-35. – 17. *Tamme T., Reinik M., Roasto M., Juhkam K., Tenno T., Kiis A.*: Nitrates and nitrites in vegetables and vegetable-based products and their intakes by Estonian population. *Food Addit. Contam.*, 2006; 23(4): 355-361. – 18. *Rożek S., Sady W., Kowalska I., Smoleń S.*: The effect of the sulphate concentration in the nutrient solution on nitrate content and on some components of tomato fruits (*Lycopersicon esculentum Mill.*). *Horticulture and Vegetable Growing*, 2004; 23(2): 343-351. – 19. *Kowalska I.*: Effects of sulphate level in the nutrient solution on plant growth and sulphur content in tomato plants. *Folia Horticulturae*, 2005; 17(1): 91-100. – 20. *Yadav R.K., Dharma S., Bansal M., Singh A., Panday V., Maheshwari R.*: Effects of Fluoride Accumulation on Growth of Vegetables and Crops in Dausa District, Rajasthan, India. *Advances in Bioresearch*, 2012; 3(4): 14-16.

Adres: 35-601 Rzeszów, ul. Ćwiklińskiej 2

Monika Rajkowska-Mysliwiec, Anna Pohoryło, Mikołaj Protasowicki

MIKROELEMENTY W GRZYBACH JADALNYCH ZEBRANYCH W LASACH WOJEWÓDZTWA ZACHODNIOPOMORSKIEGO

Katedra Toksykologii
Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie
Kierownik: prof. dr hab. *M. Protasowicki*

Porównano zawartość wybranych mikroelementów w jadalnych grzybach dziko rosnących (borowik szlachetny, koźlarz babka, pieprznik jadalny oraz podgrzybek brunatny) zebranych w lasach województwa zachodniopomorskiego. Zawartość Zn, Fe, Mn, Cu, Cr oznaczano metodą emisyjnej spektrometrii atomowej ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-AES). W badaniach określono również udział grzybów w pokryciu zalecanego dziennego spożycia (RDA) na mikroelementy.

Hasła kluczowe: mikroelementy, metale, grzyby dziko rosnące, RDA.
Key words: microelements, metals, wild-growing mushrooms, RDA.

Polska jest jednym z największych w Europie eksporterów grzybów dziko rosnących. Ich odbiorcami są przede wszystkim Niemcy, Francja i Włochy (1). Choć obecnie grzyby dziko rosnące nie stanowią istotnej części diety, jednak w wielu krajach ich spożycie wciąż wzrasta i stanowią one popularny przysmak, szczególnie w środkowej i wschodniej Europie (2).

Grzyby są bogate w substancje mineralne, w tym makro- i mikroelementy, zawierają natomiast niewielkie ilości białka, tłuszczu i węglowodanów (3). Wiele gatunków grzybów wykazuje zdolność do gromadzenia wysokich stężeń metali, znacznie wyższych niż w innych produktach spożywczych. Owocniki zebrane w pobliżu autostrad, zakładów przemysłowych i hut wykazują znacznie większe zawartości metali niż zebrane z dala od obszarów zanieczyszczonych (4). Składniki mineralne, nie są syntetyzowane w organizmie człowieka, dlatego muszą być dostarczane z pożywieniem w odpowiednich ilościach i proporcjach (5). Mikroelementy w odpowiednim stężeniu odgrywają ważną rolę w prawidłowym rozwoju i funkcjonowaniu organizmu, a ich podstawowym źródłem jest żywność.

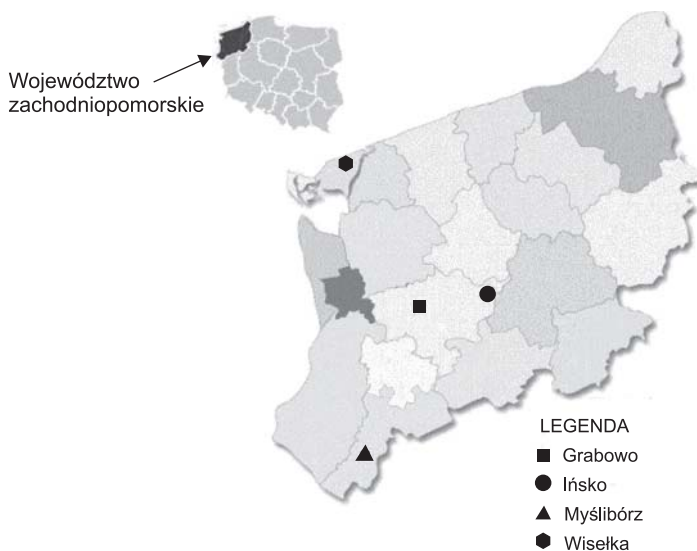
Województwo zachodniopomorskie jest obszarem gdzie dominują głównie lasy mieszane, liściaste oraz zagajniki. Główne źródła zanieczyszczenia powietrza na tym obszarze pochodzą z sektora komunalnego, tzw. niska emisja z lokalnych kotłowni, zakładów usługowych i indywidualnych gospodarstw, ośrodków wczasowych (6).

Badania miały na celu oznaczenie zawartości wybranych mikroelementów w grzybach dziko rosnących zebranych z różnych obszarów województwa zachodniopomorskiego. Celem niniejszej pracy było również oszacowanie pokrycia dziennego

zapotrzebowania człowieka dorosłego na mikroelementy wraz z 100 g porcją badanych grzybów.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły jedne z najbardziej cenionych i poszukiwanych gatunków spośród grzybów jadalnych: borowik szlachetny (*Boletus edulis*), koźlarz babka (*Leccinum scabrum*), pieprznik jadalny (*Cantharellus cibarius*), podgrzybek brunatny (*Xerocomus badius*). Grzyby zebrano w okresie czerwiec – wrzesień 2011 r. w lasach mieszanych z obszaru województwa zachodniopomorskiego, w okolicach miejscowości: Grabowo, Ińsko, Myślibórz i Wiselka. Na terenie Myśliborza zlokalizowane są: zakłady produkcji betonu i masy bitumicznej, zakład produkcji drzewnej i ciepłownia, a w miejscowości Ińsko znajduje się wytwórnia węgla drzewnego (6). Pozostałe tereny nie znajdują się pod bezpośrednim wpływem oddziaływań antropogenicznych (ryc. 1.)



Ryc. 1. Lokalizacja miejsc zbioru grzybów.

Fig. 1. Location of picking up mushrooms.

Materiał do badań stanowiło 80 grzybów, po 20 owocników z każdego gatunku. Próbkę jednostkową stanowił pojedynczy zdrowy owocnik (trzon i kapelusz), odznaczający się średnią wielkością typową dla gatunku. Grzyby bezpośrednio po zebraniu dokładnie oczyszczano z liści oraz ziemi, po czym, za pomocą plastikowego noża dzielono na małe kawałki. Suchą masę oznaczono metodą suszarkową. W tym celu odważano $1\text{ g} \pm 0,001\text{ g}$ świeżych grzybów i suszono do stałej masy w temp. 105°C . Wysuszone grzyby rozcierano w moździerzu agatowym i do czasu analizy przechowywano w woreczkach polietylenowych w temperaturze pokojowej.

Mineralizację badanego materiału oraz certyfikowanego materiału odniesienia (INTC-MPH-2) przeprowadzono z dodatkiem stężonego kwasu azotowego (V) w piecu mikrofalowym MDS 2000. W każdej serii 12 próbek, poza materiałem badanym i INTC-MPH-2 wykonywano dwie próbki ślepe. Zawartość Cr, Cu, Fe, Mn oraz Zn oznaczono metodą emisyjnej spektrometrii atomowej ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-AES) w aparacie Jobin Yvon JV-24.

Analiza materiału odniesienia wykazała wysoką zgodność oznaczonych zawartości wybranych metali z wartościami referencyjnymi: Mn (110,8%), Zn (110,9%), Cu (109,6%), Cr (113,2%). W przypadku żelaza odzysk wynosił 111,4 % wartości informacyjnej. Analizę statystyczną wykonano za pomocą programu StatSoft Statistica 9.0. Zastosowano analizę wariancji (ANOVA, test Duncana). Wyniki obliczeń weryfikowano na poziomie istotności $p \leq 0,05$.

Na podstawie oznaczonego składu mineralnego badanych grzybów i zalecanego dziennego zapotrzebowania na składniki mineralne dla osoby dorosłej oszacowano stopień pobrania pierwiastków z 100 g porcji mokrej masy grzybów.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Średnia zawartość suchej masy w badanych grzybach wynosiła 10,2% i w zależności od gatunku wahała się od 9,5 do 10,6% (tab. I). W podobnym zakresie suchą masę oznaczyli również *Nikkarinen* i współpr. (7) w borowiku szlachetnym. Według *Kalač* (8) sucha masa grzybów jadalnych w zależności od gatunku może wynosić nawet 6%. Oznaczenie suchej masy pozwoliło na przeliczenie zawartości pierwiastków na masę moką grzybów (tab. II).

Śród badanych mikroelementów, w badanych gatunkach grzybów stwierdzono najwięcej cynku, a najmniej chromu ($Zn > Fe > Cu > Mn > Cr$) (tab. I). Zdolność grzybów do kumulacji metali jest przede wszystkim zależna od gatunku i ściśle wiąże się z występowaniem białek wiążących, które są ich cechą genetyczną (9). Najwyższą średnią zawartość Zn stwierdzono w podgrzybku oraz koźlarzu, odpowiednio 199,2 i 192,4 mg/kg s.m. Manganu i miedzi najwięcej było w pieprzniku (29,0 i 52,4 mg/kg s.m.), natomiast Fe i Cr w koźlarzu (138,8 i 0,60 mg/kg s.m.). Najniższe zawartości Zn i Cr występowały w pieprzniku (99,7 i 0,36 mg/kg s.m.), a Cu w koźlarzu (23,1 mg/kg s.m.). W przypadku Fe i Mn najniższe poziomy oznaczono w borowiku (39,3 i 12,9 mg/kg s.m.) i podgrzybku (38,7 i 13,6 mg/kg s.m.). Zawartości Fe, Mn i Cr w podgrzybkach i borowikach oraz Zn w podgrzybkach i koźlarzach nie wykazywały istotnych różnic międzygatunkowych. Zbliżone zawartości Zn i Cr w pieprzniku jadalnym z różnych terenów Polski oznaczyli również *Widzicka* i współpr. (10). *Falandysz* i *Frankowska* (11) natomiast w kapeluszach borowika szlachetnego obserwowali podobny poziom Zn, Fe i Cu.

W pieprzniku jadalnym z badanego obszaru stwierdzono wysoką zawartość Mn i Cu. W podgrzybkach z terenu o niedużym uprzemysłowieniu *Chojnacka* i *Falandysz* (12) obserwowali niższą koncentrację Cu i porównywalne poziomy Fe i Mn. Najwyższe średnie stężenie Zn odnotowano w podgrzybku brunatnym z okolic Grabowa, a najniższe w pieprzniku jadalnym z Wisielki (tab. I).

Table 1. Udział suchej masy (%) oraz średnia zawartość mikroelementów (Cr, Cu, Fe, Mn, Zn) w grzybach jadalnych z województwa zachodniopomorskiego (mg/kg s.m.)

Table 1. Proportion (%) of dry mass and mean content of microelements (Cr, Cu, Fe, Mn, Zn) in edible mushrooms from the West Pomeranian Voivodeship (mg/kg d.m.)

Metal	Gatunki grzybów			
	borowik szlachetny <i>Boletus edulis</i>	koźlarz babka <i>Leccinum scabrum</i>	pieprznik jadalny <i>Cantharellus cibarius</i>	podgrzybek brunatny <i>Xerocomus badius</i>
	Sucha masa (%)			
	10,6	9,5	10,4	10,4
Cr	0,43 ^a ± 0,18 (0,16 – 0,72)*	0,60 ^b ± 0,41 (0,08 – 2,38)	0,36 ^c ± 0,16 (0,14 – 0,64)	0,41 ^a ± 0,10 (0,29 – 0,54)
Cu	35,7 ^a ± 8,9 (21,9 – 47,3)	23,1 ^a ± 7,3 (15,8 – 36,3)	52,4 ^a ± 13,0 (39,9 – 77,6)	46,5 ^a ± 13,5 (27,5 – 67,4)
Fe	39,3 ^a ± 12,9 (20,9 – 59,5)	138,8 ^b ± 137,6 (40,7 – 387,1)	72,6 ^a ± 11,4 (58,7 – 98,3)	38,7 ^a ± 6,0 (31,4 – 46,8)
Mn	12,9 ^a ± 3,4 (10,6 – 18,9)	16,8 ^a ± 8,2 (11,5 – 32,9)	29,0 ^b ± 10,4 (15,0 – 41,0)	13,6 ^a ± 1,9 (11,5 – 16,9)
Zn	155,7 ^b ± 41,3 (107,4 – 216,9)	192,4 ^a ± 31,9 (144,5 – 234,7)	99,7 ^c ± 30,9 (61,0 – 139,6)	199,2 ^a ± 41,6 (153,2 – 282,4)

* w nawiasach podano zakresy wartości średnich dla poszczególnych gatunków pochodzących z różnych miejsc zbioru; ^{a,b,c} wartości oznaczone różnymi literami wskazują na różnice statystycznie istotne ($p \leq 0,05$)

Analiza statystyczna w większości przypadków nie wykazała, aby obecność zakładów przemysłowych działających na terenie Myśliborza i Ińska skutkowała istotnie wyższą zawartością badanych pierwiastków w grzybach na tle owocników z pozostałych terenów. Jedynie w koźlarzu babce z okolic Ińska zawartości Fe (387,1 mg/kg s.m.), Mn (32,9 mg/kg s.m.) i Cr (0,72 mg/kg s.m.) były istotnie wyższe niż w grzybach tego gatunku pochodzących z innych terenów. Z powyższego wynika, że na obserwowane różnice w średnich zawartościach badanych pierwiastków w grzybach z różnych terenów, prawdopodobnie miały wpływ endemiczne warunki glebowe i hydrologiczne, a nie obecność zanieczyszczeń antropogenicznych.

Wyniki badań zawartości mikroelementów w wybranych grzybach wskazują, że spożycie 100 g porcji świeżych grzybów przez osoby dorosłe pokryje dzienne zapotrzebowanie na mikroelementy na poziomie: Cr 1,7–12,7%, Cu 27–55,9%, Fe 2,1–14,6%, Mn 2,4–11,1%, Zn 8,7–25,3% (tab. II). Spośród badanych gatunków najlepszym źródłem mikroelementów okazały się odpowiednio: koźlarz (Cr, Fe, Zn), pieprznik (Cu, Mn). Najmniej mikroelementów dostarczają natomiast: pieprznik (Cr, Zn), koźlarz (Cu), borowik i podgrzybek (Fe), borowik (Mn). Otrzymane dane wskazują, że grzyby mogą stanowić dobre, dodatkowe źródło Cu i Zn. Podobny do borowika i pieprznika udział w realizacji zapotrzebowania człowieka na Fe stwierdzili *Karmańska* i współpr. (13) badający skład mineralny trzęsaka morszczynowatego. Znaczenie grzybów jako źródła mikroelementów jest jednak zależne od pory roku, przy czym najwyższe jest w okresie grzybobrania oraz Świąt Bożego Narodzenia.

Tab e l a II. Udział grzybów w zaspokajaniu zalecanego dziennego spożycia (RDA) Cr, Cu, Fe, Mn, Zn dla osób dorosłych

Tab l e II. The share of mushrooms in the implementation of the recommended daily allowance (RDA) of Cr, Cu, Fe, Mn, Zn for adults people

Metal	RDA*	Stopień pokrycia RDA (%)** (Średnia zawartość (mg/100 g m.m.))			
		borowik	koźlarz	pieprznik	podgrzybek
Cr	dorośli (0,05–0,20 mg)	2,0–8,1 (0,004)	3,2–12,7 (0,006)	1,7–6,9 (0,003)	2,0–7,8 (0,004)
Cu	kobiety w wieku 19–65 lat (0,9 mg) mężczyźni w wieku 19–65 lat (0,9 mg)	37,4 (0,34)	27,0 (0,24)	55,9 (0,50)	49,7 (0,45)
Fe	kobiety w wieku 19–50 lat (18 mg) kobiety w wieku 51–65 lat (10 mg) mężczyźni w wieku 19–65 lat (10 mg)	2,1–3,7 (0,4)	8,1–14,6 (1,5)	3,9–7,0 (0,7)	2,1–3,7 (0,4)
Mn	dorośli (2,5–5 mg)	2,4–4,9 (0,12)	3,5–7,1 (0,18)	5,6–11,1 (0,28)	2,6–5,2 (0,13)
Zn	kobiety w wieku 19–65 lat (8 mg) mężczyźni w wieku 19–65 lat (11 mg)	13,4–18,4 (1,47)	18,4–25,3 (2,03)	8,7–12,0 (0,96)	17,4–23,9 (1,92)

* Cu, Fe, Zn (14), Cr i Mn (15); ** dotyczy spożycia 100 g porcji świeżych grzybów

WNIOSKI

1. Zawartości mikroelementów w borowikach, koźlarzach i pieprznikach kształtowały się w następujący sposób: Zn > Fe > Cu > Mn > Cr, natomiast w podgrzybkach stwierdzono więcej Cu niż Fe.

2. Wykazano, że badane grzyby sezonowo (w okresie od późnego lata do późnej jesieni) mogą stanowić dobre źródło Cu i Zn dla osób dorosłych. Najlepszym źródłem tych pierwiastków są odpowiednio pieprznik i koźlarz.

3. Wykazano, że spożycie 100 g porcji świeżych grzybów przez osoby dorosłe pokrywa dzienne zapotrzebowanie na mikroelementy na poziomie: Cr 1,7–12,7%; Cu 27–55,9%; Fe 2,1–14,6%; Mn 2,4–11,1%; Zn 8,7–25,3% (w zależności od gatunku).

M. Rajkowska-Myśliwiec, A. Pohoryło, M. Protasowicki

MICROELEMENTS AND TOXIC METALS IN EDIBLE MUSHROOMS COLLECTED IN THE FOREST OF WEST POMERANIAN VOIVODESHIP

Summary

Essential elements such as chromium, copper, iron, manganese and zinc play an important role in the development and proper functioning of the body. At the same time, they belong to the group of elements known as heavy metals. Excessive intake of these metals can be a serious hazard to human. The main source of these elements for man is food. They get into the food mostly from the atmosphere, soil and water. Therefore, it is important to continuously monitor their content in food.

The aim of the study was to determine the content of selected trace elements in edible mushrooms from the West Pomeranian Voivodeship. The other purpose of this study was to estimate the coverage by mushrooms the daily requirement of an adult on micronutrients.

Mushrooms were collected in mixed forests in the area of the West Pomeranian Voivodeship, near the town: Grabowo, Ińsko, Myslibórz and Wisełka. Cr, Cu, Fe, Mn, Zn were determined by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES). Among the studied microelements the highest content in mushrooms has been shown for Zn and lowest for Cr. The study shows that the mushrooms seasonally can be a good source of Cu and Zn.

PIŚMIENNICTWO

1. Leśnictwo 2012. Główny Urząd Statystyczny. Warszawa 2012. Dostępny w Internecie: http://www.stat.gov.pl/cps/rde/xbcr/gus/rf_lesnictwo_2012.pdf. – 2. *Gençcelep H., Uzun Y., Tunçtürk Y., Demirel K.*: Determination of mineral contents of wild-grown edible mushrooms. *Food Chem.*, 2009, 113: 1033-1036. – 3. *Bielawski L., Falandysz J.*: Wybrane pierwiastki w owocnikach koźlarza babki (*Leccinum scabrum*) z okolic miasta Starachowice. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2008; 41(1): 47-52. – 4. *Mendil D., Özgür D., Uluözlü D., Hasdemir E., Çađlar A.*: Determination of trace elements on some wild edible mushrooms samples from Kastamonu, Turkey. *Food Chem.*, 2004; 88: 281-285. – 5. *Niewczas J., Mitek M.*: Zawartość składników mineralnych w owocach pięciu odmian dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima*). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2010; 5(72): 77-84. – 6. www.gios.gov.pl – 7. *Nikkarinen M., Mertanen E.*: Impact of geological origin on trace element composition of edible mushrooms. *J. Food Compos. Anal.*, 2004; 16: 301-310. – 8. *Kalač P.*: Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: A review for the period 2000-2009. *Food Chem.*, 2010; 122: 2-15. – 9. *Spodniewska A., Barski D., Zasadowski A.*: Zawartość kadmu i ołowiu w wybranych gatunkach grzybów pochodzących z województwa warmińsko-mazurskiego. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych*, 2009; 47: 1-7. – 10. *Widzicka E., Bielawski, Mazur A., Falandysz J.*: Zawartość pierwiastków w owocnikach pieprznika jadalnego *Cantharellus cibarius* (Fr.) oraz w glebie spod owocników z terenu Puszczy Darżlubskiej. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2008; 42(2): 121-128.
11. *Falandysz J., Frankowska A.*: Niektóre pierwiastki metaliczne i ich współczynnik biokoncentracji w borowiku szlachetnym (*Boletus edulis*) z Puszczy Świętokrzyskiej. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2007; 40(3): 257-260. – 12. *Chojnacka A., Falandysz J.*: Badania nad składem mineralnym podgrzybka zajączka (*Xerocomus subtomentosus*) (L.). *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2007; 40(4): 337-340. – 13. *Karmańska A., Olejnik K., Wędzisz A.*: Badanie składników odżywczych trzęsaka morszczynowatego – *Termella fuciformis*. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2011; 44(2): 150-153. – 14. *Wojtasik A., Jarosz M., Stoś K.*: Normy żywienia dla populacji polskiej – nowelizacja. M.J. Wyd. Instytut Żywności i Żywnienia, Warszawa., 2012: 123-143. – 15. *Friedrich M.*: Składniki mineralne w żywieniu ludzi i zwierząt. M.F. Wyd. AR, Szczecin., 2002: 69-87.

Adres: 71-459 Szczecin, ul. Papieża Pawła VI 3

*Ewa Piotrowska, Anna Broniecka, Martyna Frańczak, Monika Bronkowska,
Joanna Wyka, Jadwiga Biernat*

WPLYW WARUNKÓW SOCJOEKONOMICZNYCH NA SPOSÓB ŻYWIENIA I ZWYCZAJE ŻYWIENIOWE MŁODZIEŻY 13–15-LETNIEJ Z WROCŁAWIA I OKOLIC*

Katedra Żywienia Człowieka
Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu
Kierownik : dr hab. inż. *M. Bronkowska*

Celem pracy była ocena wpływu wykształcenia rodziców, miejsca zamieszkania i struktury rodziny na podaż energii i makroskładników odżywczych w całodziennych racjach pokarmowych (CaRP) wrocławskich gimnazjalistów. Określono także wpływ wybranych zwyczajów żywieniowych, m. in.: liczbę i częstotliwość spożywania posiłków w ciągu dnia oraz miejsce spożywania głównego posiłku na pobranie energii i składników odżywczych młodzieży z wrocławskich gimnazjów.

Hasła kluczowe: młodzież, całodziennie racje pokarmowe, zwyczaje żywieniowe, regularność żywienia, wykształcenie rodziców.

Key words: youth, daily food rations, nutritional behaviors, regularity of meals, parents' education.

Sposób żywienia jest to złożony zespół zwyczajów związanych z odżywianiem się człowieka. Obejmuje częstotliwość i regularność posiłków w ciągu dnia, tygodnia lub miesiąca. Zwyczaje te mają wpływ na zaspokojenie potrzeb żywieniowych człowieka oraz na stan jego odżywienia.

Żywienie młodzieży ma na celu zapewnienie prawidłowego rozwoju fizycznego i umysłowego oraz wykorzystanie uwarunkowanego genetycznie potencjału rozwojowego. Prawidłowo zaplanowana dieta powinna zapobiegać chorobom wieku młodzieńczego, a także ograniczać ryzyko rozwoju chorób żywieniowo zależnych w przyszłości (1).

Sposób żywienia jest uwarunkowany wieloma czynnikami, a główne z nich to: czynniki ekonomiczne, klimatyczne, kulturowe, psychologiczne i społeczne. Status socjoekonomiczny jest odzwierciedleniem różnicowania społeczeństwa, określa miejsce jednostki lub grupy w strukturze społecznej. Jest warunkowany odpowiednim poziomem dochodów, wykształceniem, statusem zawodowym, strukturą rodziny, miejscem zamieszkania oraz sposobem spędzania wolnego czasu (2, 3).

* Badania przeprowadzono w ramach grantu KBN nr 312183438 – „Ocena częstości występowania żywieniowych i pozażywniowych czynników ryzyka zespołu metabolicznego u dziewcząt i chłopców na poziomie różnych etapów okresu dojrzewania”.

Status socjoekonomiczny znajduje odzwierciedlenie w sposobie żywienia młodzieży. Zależność ta była w ciągu ostatnich lat częstym obiektem badań, zarówno krajowych (2, 4, 5, 6), jak i zagranicznych (7–11).

Celem pracy była ocena wpływu wykształcenia rodziców, miejsca zamieszkania i struktury rodziny na podaż energii, węglowodanów, białek i tłuszczów w całodziennych racjach pokarmowych (CaRP) oraz na wybrane zwyczaje żywieniowe, m. in.: liczbę i częstotliwość spożywania posiłków w ciągu dnia, oraz miejsce spożywania głównego posiłku przez młodzież z wrocławskich gimnazjów.

MATERIAŁ I METODY

Badania sposobu żywienia były prowadzone od marca do grudnia 2012 r. w trzech wrocławskich gimnazjach. Warunkiem uczestnictwa było: odpowiedni wiek, zgoda wyrażona przez rodziców oraz aktywny udział ucznia w każdym etapie badań. Brak wywiadów żywieniowych lub kwestionariusza dotyczącego warunków socjodemograficznych stanowił kryterium wyłączenia.

W badaniach wzięło udział 233 uczniów w wieku 13–15 lat, w tym 129 dziewcząt i 104 chłopców. Dziewczęta stanowiły 55,4%, a chłopcy – 44,6% ogółu badanych. Uczniowie klas pierwszych stanowili 30,9%, klas drugich – 45,9% i klas trzecich – 23,2% wszystkich badanych. Największa grupa uczniów mieszkała we Wrocławiu – 214 osób (91,8%), 8 osób (3,4%) w mniejszych miastach i miasteczkach, natomiast 11 osób (4,4%) na wsiach. Około 74,0% uczniów pochodziło z pełnej rodziny (mieszkało z rodzicami lub z rodzicami i rodzeństwem). W rodzinach niepełnych wychowywało się 61 badanych uczniów (26,2%), w tym: 55 osób mieszkało z jednym z rodziców, 2 uczniów mieszkało tylko z rodzeństwem, natomiast 4 uczniów mieszkało z osobą z dalszej rodziny. Większość matek uczennic miała wyższe wykształcenie – 36,4%, natomiast wykształcenie średnie miało – 34,1%, zawodowe – 23,3%, a podstawowe – 6,2%. Matki chłopców również w większości miały wykształcenie wyższe – 46,2% matek, średnie – 44,2%, zawodowe – 11,6%, a podstawowe – 2,9%. Większość ojców miała wykształcenie średnie – 40,3% ojców dziewcząt i 44,2% ojców chłopców. Wykształcenie wyższe miało 34,9% i 41,3% ojców dziewcząt i chłopców oraz odpowiednio: zawodowe – 22,5% i 11,6% oraz podstawowe – 2,3% i 2,9%. Około 24,0% dziewcząt i 32,7% chłopców miało oboje rodziców z wykształceniem wyższym.

Oceny częstości współwystępowania czynników żywieniowych i pozażywniowych dokonano metodą wywiadu bezpośredniego, za pomocą kwestionariusza, opracowanego w Katedrze Żywienia Człowieka Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Kwestionariusz zawierał pytania dotyczące czynników żywieniowych, takich jak: liczba spożywanych posiłków, ich regularność, miejsce spożywania głównego posiłku. W kwestionariuszu zostały również zawarte pytania dotyczące czynników pozażywniowych, na przykład: pytano o strukturę rodziny, wykształcenie rodziców, miejsce zamieszkania. Kwestionariusz kończył się krótkim testem dotyczącym ogólnej wiedzy żywieniowej.

Ilościowa ocena sposobu żywienia została przeprowadzona metodą bezpośredniego wywiadu o spożyciu produktów i potraw z ostatnich 24 godz. powtórnego 7 razy.

W celu określenia gramatury spożywanych porcji wykorzystano „Album fotografii produktów i potraw” (12).

Uzyskane dane zostały poddane ilościowej ocenie, za pomocą programu komputerowego „Energia v4.1”, zawierającego bazę danych o produktach i potrawach. Baza ta została opracowana na podstawie „Tabel składu i wartości odżywczej żywności” (13). Za pomocą programu „Energia v4.1” obliczono podaż energii oraz makroskładników odżywczych w całodziennych racjach pokarmowych badanej grupy młodzieży. Otrzymane wyniki porównano z odpowiednimi normami żywienia (14). Przyjęto, na podstawie odpowiedzi na pytania dotyczące czasu spędzanego aktywnie oraz rodzaju aktywności iż badana grupa młodzieży cechowała się umiarkowaną aktywnością fizyczną.

Wyniki poddano ocenie statystycznej w programie Statistica 10.0 firmy StatSoft. Za pomocą testu Shapiro-Wilka stwierdzono, że uzyskane wyniki nie były zgodne z rozkładem normalnym. Dla badanych zmiennych obliczono, medianę, minimum i maximum oraz wartości, pierwszego i trzeciego kwartyla. Do oceny wpływu czynników pozażywieniowych na podaż energii i makroskładników odżywczych badanej grupy młodzieży zastosowano testy nieparametryczne. Do porównań między dwiema grupami wykorzystano test U Manna-Whitneya. Do oceny wpływu czynników pozażywieniowych na zawartość makroskładników w całodziennych posiłkach oraz wybrane zwyczaje żywieniowe wykorzystano test Chi². Różnice istotne statystycznie występowały przy poziomie $p < 0,05$.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W całodziennych racjach pokarmowych badanej młodzieży stwierdzono za niską ich wartość energetyczną oraz zawartość węglowodanów, białka roślinnego, błonnika i cholesterolu w stosunku do odpowiednich norm i zaleceń. Mediany zawartości białka ogółem, białka zwierzęcego i tłuszczów wśród chłopców były powyżej norm i zaleceń. Mediana realizacji norm i zaleceń na energię i makroskładniki różniła się istotnie w CaRP dziewcząt i chłopców zarówno w całej grupie, jaki i w podgrupach wiekowych, podgrupach o różnej strukturze rodziny i podgrupach o różnym miejscu zamieszkania. (Przedstawione powyżej wyniki będą przedmiotem dokładnej analizy statystycznej przy podsumowaniu grantu).

Struktura rodziny dziewcząt nie wpływała istotnie na podaż energii i spożycie makroskładników. Mediana podaży energii u dziewcząt z rodzin pełnych wynosiła 1326,4 kcal (54,1% realizacji normy), a u ich rówieśniczek z rodzin niepełnych była o 95,4 kcal niższa. Struktura rodziny chłopców nie wpływała istotnie na podaż energii w posiłkach i zawartość makroskładników. Mediana wartości energetycznej posiłków chłopców z rodzin pełnych wynosiła 1701,1 kcal (56,6% realizacji normy), a u ich rówieśników z rodzin niepełnych była o 29,1 kcal niższa. Racje pokarmowe zarówno dziewcząt, jak i chłopców o niskiej wartości energetycznej nie spełniały także norm i zaleceń na makroskładniki odżywcze, z wyjątkiem białka ogółem i białka zwierzęcego.

Z przeprowadzonych badań wynika, iż młodzież wychowująca się w rodzinach niepełnych popełniała więcej błędów żywieniowych w stosunku do ich rówieśników

mieszkających z obojgiem rodziców. W badaniach *Dudkiewicz* (15) stwierdzono podobne błędy żywieniowe u dzieci i młodzieży wychowujących się w rodzinach niepełnych.

W niniejszych badaniach nie stwierdzono istotnego wpływu miejsca zamieszkania na podaż energii i makroskładników odżywczych w całodziennych posiłkach badanych gimnazjalistów. Mediana podaży energii w posiłkach dziewcząt mieszkających poza Wrocławiem wynosiła 1325,2 kcal (54,1% realizacji normy) i była o 12,6 kcal niższa w porównaniu do posiłków rówieśniczek z Wrocławia. Mediana podaży energii w posiłkach chłopców spoza Wrocławia wynosiła 1911,0 kcal (63,7% realizacji normy) i była o 237,6 kcal wyższa w porównaniu do posiłków chłopców z Wrocławia.

W badaniach przeprowadzonych przez *Rogalską-Niedźwiedź* (16) stwierdzono istotny wpływ miejsca zamieszkania na sposób żywienia się dzieci. Grupę badaną stanowiło 394 dzieci, z czego 50,5% mieszkało na wsi. Całodzienne racje pokarmowe chłopców mieszkających na wsi różniły się istotnie wyższą zawartością jednonienasyconych kwasów tłuszczowych w porównaniu z racjami pokarmowymi chłopców z miasta. Wśród dziewcząt mieszkających w mieście zauważono istotnie mniejsze spożycie błonnika pokarmowego w porównaniu z ich rówieśniczkami ze wsi.

Różnice w wynikach uzyskanych w niniejszej pracy i uzyskanych przez *Rogalską-Niedźwiedź* (16) mogą wynikać z innego wieku badanej grupy, a także z faktu, iż w badaniach własnych grupa uczniów mieszkająca poza miastem stanowiła jedynie 8,2%.

W przeprowadzonych badaniach stwierdzono istotny wpływ wykształcenia matki, ojca, a także obojga rodziców na sposób żywienia dziewcząt. Nie wykazano istotnych różnic w sposobie żywienia chłopców, których rodzice mieli różny poziom wykształcenia.

W tab. I przedstawiono wpływ wyższego wykształcenia obojga rodziców na wartość energetyczną i zawartość wybranych makroskładników odżywczych w racjach pokarmowych badanej grupy młodzieży.

Stwierdzono istotny wpływ wyższego wykształcenia obojga rodziców na spożycie białka ogółem w racjach pokarmowych zarówno dziewcząt jak i chłopców oraz białka zwierzęcego i cholesterolu w racjach pokarmowych jedynie dziewcząt.

Mediany dziennego spożycia białka ogółem w posiłkach dziewcząt, których rodzice mieli wyższe wykształcenie i wykształcenie różne od wyższego wynosiły odpowiednio: 50,3 g (117,0% realizacji normy) i 44,1 g (102,8% realizacji normy). Ponad 75% dziewcząt, których rodzice mieli wyższe wykształcenie i 50% dziewcząt, których rodzice mieli inne niż wyższe wykształcenie, spożywało za dużo białka ogółem. Mediana spożycia białka zwierzęcego w racjach pokarmowych dziewcząt rodziców z wyższym wykształceniem i różnym od wyższego wynosiła odpowiednio: 34,7 g (161,6% realizacji zaleceń) i 27,3 g (127% realizacji zaleceń). Ponad 75% dziewcząt, których rodzice mieli wyższe wykształcenie i 25% dziewcząt, których rodzice mieli wykształcenie inne niż wyższe spożywały nadmierne ilości białka zwierzęcego.

Zawartość cholesterolu w CaRP dziewcząt była niższa niż zalecana. Mediany spożycia cholesterolu u dziewcząt, których rodzice mieli wyższe wykształcenie i których rodzice mieli wykształcenie inne niż wyższe wynosiły odpowiednio: 183,5 mg i 158,9 mg.

Table 1. Wpływ wyższego wykształcenia obojga rodziców na podaż energii i wybranych makroskładników odżywczych w racjach pokarmowych badanej grupy młodzieży z działem na pięć (n=233).

Table 1. Impact of higher education of both parents on the supply of energy and selected macronutrients in food rations of groups of young people by gender (n = 233)

Składnik (jednostki)	Wykształcenie obojga rodziców	Dziewczęta (n = 129)					Chłopcy (n = 104)				
		Mediana		Q ₁	Q ₃	P	Mediana		Q ₁	Q ₃	P
		Me	Realizacja norm i zaleceń przez Me				Me	Realizacja norm i zaleceń przez Me			
Energia (kcal)	Wyższe	1326,4	54,1	1051,7	1563,9	0,8795	1796,3	59,9	1462,2	2089,8	0,7160
	Inne	1311,2	53,5	1041,5	1616,9		1673,2	55,8	1381	1985,2	
Węglowodany ogółem (g)	Wyższe	166,1	54,2	139,7	194	0,1961	221,3	59,0	165,5	287,2	0,8925
	Inne	184,8	60,4	146,5	218,5		220,9	58,9	180,7	288,2	
Błonnik pokarmowy (g)	Wyższe	12,4	65,3	9,2	14	0,1868	11,8	62,1	10	15,8	0,8597
	Inne	10,9	57,4	8,5	12,9		12,5	65,8	9,8	15,8	
Białko ogółem (g)	Wyższe	50,3 ^a	117,0	43,2	57	0,0124	65,7 ^a	146,0	50,1	77,3	0,0470
	Inne	44,1 ^b	102,6	35	52		60,2 ^b	133,8	49,5	74,4	
Białko zwierzęce (g)	Wyższe	34,7 ^a	161,4	29,6	41,2	0,0002	41,8	185,8	35,3	52,7	0,3133
	Inne	27,3 ^b	127,0	21	32,4		39,3	174,7	32,6	49,3	
Białko roślinne (g)	Wyższe	15,8	73,5	13,1	18,3	0,8276	20,5	91,1	15,6	28,1	0,5535
	Inne	15,0	69,8	13	20,1		20,5	91,1	16,8	23,9	
Tłuszcz (g)	Wyższe	50,7	93,9	37,4	67,8	0,5461	67,0	100,0	57,1	79,9	0,9200
	Inne	48,8	90,4	37,5	64,2		67,0	100,0	54,9	80,5	
Cholesterol (mg)	Wyższe	183,5 ^a	61,2	155,1	278,8	0,0052	244,5	81,5	175	288,1	0,9696
	Inne	158,9 ^b	53,0	122,1	197,4		230,3	76,8	175,9	289,8	
Nasycone kwasy tłuszczowe (g)	Wyższe	20,8	95,4	14,1	28,1	0,8535	26,4	98,9	19,9	34	0,5960
	Inne	20,6	94,5	15,3	27,3		27,3	102,2	22,9	33,5	
Jednonienasycone kwasy tłuszczowe (g)	Wyższe	19,9	48,8	14,4	24,7	0,5461	26,7	53,4	21,3	30,9	0,7578
	Inne	18,1	44,4	14,4	23,9		24,6	49,2	20,7	31,6	
Wielonienasycone kwasy tłuszczowe (g)	Wyższe	7,9	41,4	5,9	9,5	0,0605	9,4	40,3	8	11,9	0,4993
	Inne	6,3	33,0	5,1	8,5		8,9	38,2	7,1	11	

a, b – różnice istotne statystycznie w teście U Manna-Whitney'a (p<0,05)

Wyższe wykształcenie obojga rodziców dziewcząt nie wpływało istotnie na podaż energii i pozostałych makroskładników. Mediana podaży energii w CaRP dziewcząt, których rodzice mieli wyższe wykształcenie wynosiła 1326,4 kcal (54,1% realizacji normy) i była o 15,2 kcal wyższa w porównaniu do wartości energetycznej posiłków rówieśniczek, których rodzice nie mieli wyższego wykształcenia.

Stwierdzono istotny wpływ wyższego wykształcenia obojga rodziców na spożycie białka ogółem w CaRP chłopców. Mediany dziennego spożycia białka ogółem w posiłkach chłopców, których rodzice mieli wyższe wykształcenie i wykształcenie różne od wyższego wynosiły odpowiednio: 65,7 g (146,0% realizacji normy) i 60,2 g (133,8% realizacji normy). Ponad 75% chłopców, niezależnie od wykształcenia rodziców, spożywało za dużo białka ogółem i białka zwierzęcego.

Wyższe wykształcenie obojga rodziców chłopców nie wpływało istotnie na zawartość energii i pozostałych makroskładników w całodziennej racji pokarmowej. Mediana wartości energetycznej posiłków chłopców, których rodzice mieli wyższe wykształcenie wynosiła 1796,3 kcal (59,9% realizacji normy) i była o 123,1 kcal wyższa w porównaniu z wartością energetyczną posiłków rówieśników, których rodzice nie mieli wyższego wykształcenia.

Wyższe wykształcenie jednego z rodziców dziewcząt wpływało istotnie na podaż białka zwierzęcego i cholesterolu. Zależności takiej nie zaobserwowano wśród chłopców.

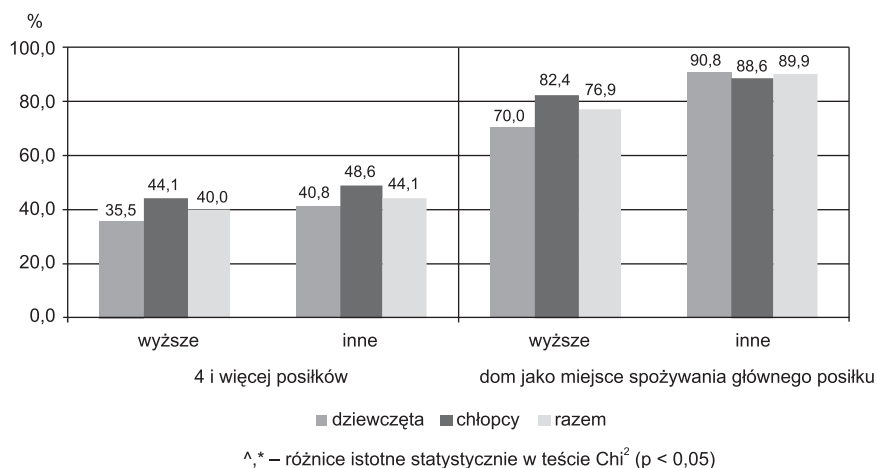
Leszczyńska i współpracownicy (5) przeprowadzili ocenę sposobu żywienia członków gospodarstw domowych, których osoba prowadząca dom miała wyższe wykształcenie. Badania zostały przeprowadzone w grupach chłopców i dziewcząt w wieku 11–25 lat (62 osoby). Realizacja norm podaży energii oraz spożycia białka ogółem i węglowodanów była zbliżona do wyników uzyskanych w badaniach własnych. Całodziennie racje pokarmowe dziewcząt w niniejszych badaniach odznaczały się mniejszą zawartością tłuszczu ogółem, cholesterolu i błonnika pokarmowego, a większą białka zwierzęcego. Różnice te mogły być spowodowane innym przedziałem wiekowym badanych grup. W niniejszych badaniach wykazano także, iż błędy w sposobie żywienia popełniane w gospodarstwach domowych prowadzonych przez osoby z wyższym wykształceniem były zbliżone do tych popełnianych w innych gospodarstwach domowych.

W badaniach *Czeczulewskiego* i współpracownicy (17) wzięło udział 628 dzieci w wieku 10–15 lat. Wśród dzieci, których oboje rodzice mieli wyższe wykształcenie wykazano wyższą realizację normy na energię, tłuszcz i białko, a także wyższe spożycie błonnika pokarmowego i cholesterolu niż u ich rówieśników, których rodzice nie mieli wyższego wykształcenia. Podobne wyniki otrzymano w niniejszych badaniach. Dziewczęta, których rodzice mieli wyższe wykształcenie spożywały więcej białka ogółem oraz zwierzęcego i cholesterolu, a mniej węglowodanów. Wpływ wykształcenia rodziców na udział energii z poszczególnych makroskładników był zbliżony w obu badaniach.

Podobieństwo uzyskanych wyników może być związane ze zbliżonym przedziałem wiekowym badanych grup. W obu badaniach brała udział stosunkowo liczna grupa dzieci i prawdopodobnie dzięki temu otrzymane wyniki dobrze odzwierciedlają wpływ wykształcenia rodziców na sposób żywienia dzieci.

W badaniach własnych analizowano również wpływ czynników pozażywnościowych takich jak: miejsce zamieszkania, struktura rodziny i wykształcenie rodziców na częstość spożywania głównego posiłku w domu oraz częstotliwość spożywania prawidłowej liczby posiłków w ciągu dnia (cztery i więcej).

Na ryc. 1 przedstawiono liczbę i miejsce spożywanych posiłków w badanej grupie młodzieży (n=233) ze względu na wykształcenie rodziców:



Ryc. 1. Liczba i miejsce spożywanych posiłków w badanej grupie młodzieży (n=233).

Fig. 1. Number and place of meals among young people (n=233).

Z badań wynika, że spożywanie prawidłowej liczby posiłków w ciągu dnia deklarowało 40% młodzieży, których rodzice mieli wyższe wykształcenie. Nie wykazano istotnej różnicy w liczbie spożywanych posiłków w zależności od wykształcenia obojga rodziców lub jednego z nich.

W odróżnieniu do badań własnych w badaniach *Michalak* (18) i *Wypych-Ślusarskiej* (19) wykazano, że dzieci matek z wykształceniem wyższym częściej niż pozostali badani deklarowały prawidłową liczbę posiłków w ciągu dnia.

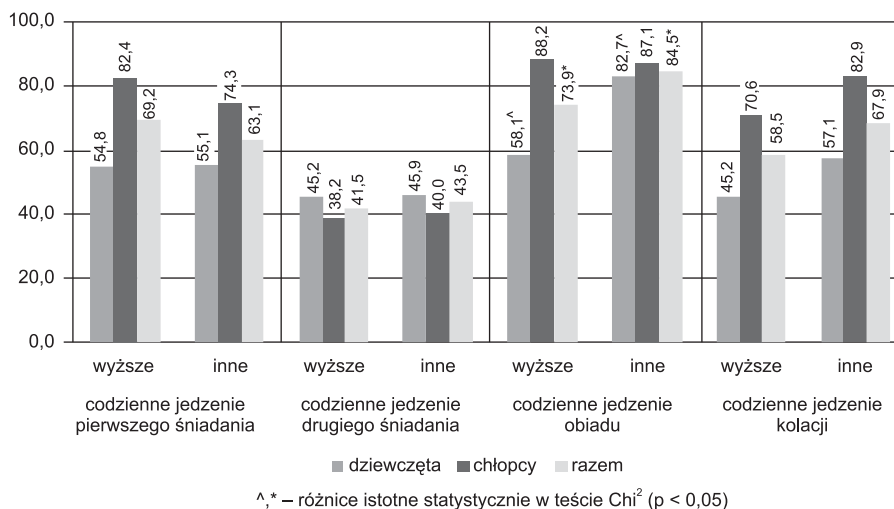
Badania socjologiczno-żywnościowe wykazały stosunkowo często obserwowaną w ostatnich latach zmianę otoczenia i miejsca, w którym spożywany jest główny posiłek (2). Obecnie coraz częściej młodzież spożywa ten posiłek w różnego typu restauracjach i barach. Szkoła już nie jest, jak dawniej, miejscem, w którym oprócz domu, najczęściej spożywało się główny posiłek. Z badań *Wołowskiego* (20) wynika, że jedynie 10%, a z badań *Kurzak* (21), że ok. 25% młodzieży gimnazjalnej spożywało główny posiłek w szkole.

Z badań własnych wynika, że statystycznie istotnie rzadziej dziewczęta, których rodzice mieli wyższe wykształcenie (71,0%) spożywały główny posiłek w domu niż dziewczęta (90,8%), których rodzice legitymowali się innym niż wyższe wykształceniem. W grupie chłopców wykształcenie wyższe obojga rodziców nie wpływało istotnie statystycznie na wskazanie domu, jako miejsca spożywania głównego posiłku. W całej badanej grupie, natomiast istotnie rzadziej główny posiłek w domu

jadły osoby, których rodzice mieli wyższe wykształcenie (76,9%) niż osoby, których rodzice mieli inne niż wyższe wykształcenie (89,9%).

Wyższe wykształcenie jednego z rodziców miało istotny wpływ na rzadsze spożywanie głównego posiłku w domu w grupie dziewcząt (odpowiednio 76,6% i 77,8%) oraz w całej badanej grupie (odpowiednio 80,0% i 79,6%) w porównaniu do rówieśników, których matka lub ojciec mieli inne niż wyższe wykształcenie.

Na ryc. 2 przedstawiono wpływ wyższego wykształcenia obojga rodziców na częstotliwość spożywania posiłków badanej młodzieży (n=233) ze względu na wykształcenie rodziców:



[^], ^{*} – różnice istotne statystycznie w teście Chi² (p < 0,05)

Ryc. 2. Wpływ wyższego wykształcenia obojga rodziców na częstotliwość spożywania posiłków badanej młodzieży (n=233) ze względu na wykształcenie rodziców.

Fig. 2. Impact of higher education in both parents on frequency of eating meals in group of young people (n=233).

W badaniach nie wykazano istotnych różnic w częstości codziennego spożywania I i II śniadania oraz kolacji przez młodzież w zależności od wykształcenia obojga rodziców lub jednego z nich. W rodzinach o wyższym wykształceniu, jak i tych z innym wykształceniem codziennie posiłki częściej spożywali chłopcy niż dziewczęta. W badaniach *Wypych-Ślusarskiej* (19) wykształcenie wyższe matki istotnie wpływało na codzienne spożywanie śniadania.

Codziennie spożywanie obiadu również różnicowało badaną grupę w zależności od wykształcenia obojga rodziców. Dziewczęta, których oboje rodzice mieli wyższe wykształcenie istotnie rzadziej jadły codziennie obiad (58,1%) w porównaniu do dziewcząt, których rodzice mieli inne niż wyższe wykształcenie (89,9%). W całej grupie młodzieży, której rodzice mieli wyższe wykształcenie (73,9%) istotnie rzadziej spożywała codziennie obiad niż młodzież, której rodzice mieli inne niż wyższe wykształcenie (84,5%).

Wyższe wykształcenie matki wpływało istotnie na rzadsze spożywanie obiadu przez dziewczęta (63,8%). Wyższe wykształcenie ojca miało istotny wpływ na rzadsze spożywanie obiadu zarówno wśród dziewcząt (62,2%), jak i całej badanej grupy (73,9%) w porównaniu do rówieśników, których ojcowie mieli inne niż wyższe wykształcenie.

WNIOSKI

1. Wyższe wykształcenie rodziców miało istotny wpływ na zawartość białka ogółem i białka zwierzęcego w całodziennych posiłkach badanej młodzieży.

2. Miejsce zamieszkania i struktura rodziny w całej grupie młodzieży nie miała istotnego wpływu na podaż energii i makroskładników odżywczych w całodziennych posiłkach oraz na prawidłową liczbę posiłków, wybór domu jako miejsca spożywania głównego posiłku oraz codzienne spożywanie śniadań, drugich śniadań, obiadów i kolacji.

3. Wyższe wykształcenie obojga rodziców lub tylko jednego z nich powodowało istotnie rzadsze spożywanie głównego posiłku w domu w całej badanej grupie młodzieży i jedynie w grupie dziewcząt.

4. Nie wykazano istotnej różnicy w spożywaniu prawidłowej liczby posiłków w zależności od wykształcenia obojga rodziców lub tylko jednego z nich.

E. Piotrowska, A. Broniecka, M. Frańczak, M. Bronkowska,
J. Wyka, J. Biernat

IMPACT OF THE SOCIOECONOMIC CONDITIONS ON THE DIETS AND DIETARY HABITS OF 13-15 YEAR-OLD JUVENILE PEOPLE FROM WROCLAW AND ITS VICINITY

Summary

It is desirable that the diets of the juvenile people ensure their normal development and proper utilization of their genetic potential. The socioeconomic status is reflected in the juvenile people's diets. The latter are dependent on the family's level of income, education, structure, place of habitation and leisure time activities of the juvenile people. Those relationships have been recently extensively studied both in Poland (1) and abroad (2). The aim of this study was to assess the impact of parents' education, place of residence and family structure on the supply of energy, carbohydrates, proteins and fats in daily food rations (DFR) and selected dietary habits, such as the number and frequency of meals during the day and place of eating the main meal by students of secondary schools in Wrocław. The study involved 233 students, including 129 girls and 104 boys (55.4% and 44.6%, respectively, of the total group) aged 13 to 15 years. Higher education of the parents was significantly associated with the contents of total protein in the daily food rations of the total study group, and of animal protein in the meals of the girls only. Median values of the daily intakes of total protein by the girls and boys whose parents had higher education and those of the parents with other levels of education were 50.3 g (117.0% RDI realization) in the daily food rations (DFR) of the girls and 44.1 g (102.8% RDI realization) in the DFR of the boys. The corresponding median values for the animal protein were 34.7 g (161.6% RDI realization) and 27.3 g (127% RDI realization), respectively. Normal number of meals was reported by 40% of higher-educated parents' children. In the study group, children of parents with higher education consumed their main meal less frequently at home (76.9%) than children of parents with other-than-higher type of education (89.9%).

PIŚMIENNICTWO

1. *Jarosz M.* (red.): Zasady prawidłowego żywienia dzieci i młodzież oraz wskazówki dotyczące zdrowego stylu życia Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa 2008. – 2. *Mazur J., Makowska-Szkućnik A.* (red.): Raport Techniczny, Wyniki badań HBSC. Instytut Matki i Dziecka, Warszawa 2011. – 3. *Tabin M.* (red.): Słownik socjologii i nauk społecznych. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2006. – 4. *Walus A., Wądołowska L., Cichoń R.*: Stan odżywienia 16-letniej młodzieży z regionu suwalskiego o różnym statusie ekonomicznym. *Żyw. Człow. Metab.*, 2003; 30(1-2): 209-214. – 5. *Leszczyńska T., Biezanowska-Kopeć R.*: Ocena sposobu żywienia w gospodarstwach domowych prowadzonych przez osoby z wyższym wykształceniem. *Zywność – Nauka Technologia Jakość*, 2005; 4(45) Supl.: 151-161. – 6. *Kwiatkowska E.*: Wpływ wykształcenia rodziców na częstotliwość spożywania warzyw i owoców przez ich dzieci. *Roczn. PZH*, 2010; 61(2): 179-182. – 7. *Nelson M., Dick K., Holmes B.*: Food budget standards and dietary adequacy in low-income families. *P. Nutr. Soc.* 2002; 61(4): 569-577. – 8. *Firel S., Walsh O., McCarthy D.*: The irony of a rich country: issues of financial access to and availability of healthy food in the Republic of Ireland. *J. Epidemiol. Commun. H.*, 2006; 60(12): 1013-1019. – 9. *Von Rueden U., Gosch A., Rajmil L., Bissegger C., Ravens-Sieberer U.*: Socioeconomic determinants of health related quality of life in childhood and adolescence: results from a European study. *J. Epidemiol. Commun. H.*, 2006; 60(2): 130-135. – 10. *Hanson M. D., Chen E.*: Socioeconomic status and health behaviors in adolescence: A review of the literature. *J. Behav. Med.*, 2007; 30(3): 263-285.
11. *Piko B. F., Fitzpatrick K. M.*: Socioeconomic Status, Psychosocial Health and Health Behaviors among Hungarian Adolescents. *Eur. J. Public. Health*, 2007; 17(4): 353-360. – 12. *Szponar L., Wolnicka K., Rychlik E.*: Album fotografii produktów i potraw. Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa 2000. – 13. *Kunachowicz H., Nadolna J., Przygoda B., Przygoda B.*: Tabele składu i wartości odżywczej żywności. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2005. – 14. *Jarosz M.* (red.): Normy żywienia dla populacji polskiej- nowelizacja. Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa 2012. – 15. *Dudkiewicz K., Makarczuk A.*: Zachowania antyzdrowotne u dzieci z rodzin niepełnych. *Ann. UMCS Sect. DDD*, 2004; 59, suppl. 14: 88-93. – 16. *Rogalska-Niedźwiedz M., Charzewska J., Chabros E., Chwojnowska Z., Wajszczyk B., Zacharewicz E.*: Sposób żywienia dzieci czteroletnich ze wsi na tle dzieci z miast. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2008; 89(1): 80-84. – 17. *Czeczulewski J., Michalska A., Raczynski G.*: Zastosowanie analizy skupień do oceny społeczno- ekonomicznych i demograficznych uwarunkowań sposobu żywienia dzieci w wieku 10-15 lat. *Żyw. Człow. Metab.*, 2003; 30(1-2): 176-181. – 18. *Michalak K.*: Wpływ środowiska rodzinnego na zachowania żywieniowe młodzieży gimnazjalnej na przykładzie środowiska warszawskiego. *Acta Sci. Pol. – Oeconom.*, 2005; 4(2): 51-57. – 19. *Wypych-Ślusarska A.*: Sytuacja społeczno-ekonomiczna rodzin a zachowania żywieniowe uczniów szkół gimnazjalnych w Bytomiu. *Med. Środ.*, 2013; 16(4): 43-51. – 20. *Wołowski T., Jankowska M.*: Wybrane aspekty zachowań zdrowotnych młodzieży gimnazjalnej. Część I. Zachowania związane z odżywianiem. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2007; 88(1): 64-68.
21. *Kurzak M.*: Zachowania zdrowotne warszawskich gimnazjalistów. *Zeszyty Naukowe WSKFiT*, 2013; 8: 11-17.

Adres: 51-630 Wrocław, ul. Chelmońskiego 37/41

*Broniecka Anna, Habanova Marta¹⁾, Bator Ewa,
Wyka Joanna, Bronkowska Monika*

PORÓWNANIE WYBRANYCH ELEMENTÓW STYLU ŻYCIA I NAWYKÓW ŻYWIENIOWYCH STUDENTÓW POLSKICH I SŁOWACKICH

Katedra Żywienia Człowieka
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Kierownik: dr hab. inż. *M. Bronkowska*

¹⁾ Katedra Żywienia Człowieka
Słowacki Uniwersytet Rolniczy w Nitrze, Słowacja
Kierownik: dr n. med. *P. Chlebo*

Dokonano porównania wybranych zwyczajów żywieniowych i elementów stylu życia studentów kierunków: Technologia Żywności i Żywność Człowieka Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu i Technologia Żywności Uniwersytetu Rolniczego w Nitrze. Wykazano różnice w częstotliwości spożywania głównych posiłków oraz podejmowanej aktywności fizycznej.

Hasła kluczowe: studenci, nawyki żywieniowe, aktywność fizyczna, palenie papierosów, spożywanie alkoholu.

Key words: students, dietary habits, physical activity, tobacco smoking, alcohol drinking.

Styl życia jest pojęciem wywodzącym się z nauk społecznych i wg strategii opracowanej przez WHO dla regionu europejskiego jest określany jako „sposób życia oparty o wzajemny związek pomiędzy warunkami życia w szerokim sensie, a indywidualnymi wzorcami zachowań determinowanymi przez czynniki społeczno-kulturowe i cechy indywidualne” (1). Styl życia określa zatem w pewien sposób wzory grupowych zachowań wyznaczających tryb codziennego życia. Wzory wyborów określonych postępowań zdrowotnych są determinowane wieloma czynnikami psychospołecznymi, wśród których wyróżnić można między innymi: przyzwyczajenia, w tym zwyczaje żywieniowe, wpływ rodziny i środowiska rówieśniczego, wiek, płeć, miejsce zamieszkania, wykształcenie, status socjoekonomiczny i trendy kulturowe (2). Elementy stylu życia, które w największym stopniu wpływają na zachowanie zdrowia to: aktywność fizyczna, prawidłowe odżywianie, unikanie stresu oraz niepalenie papierosów i niespożywanie alkoholu (3).

Promowanie zdrowego stylu życia i racjonalnego odżywiania związane jest przede wszystkim ze zwiększającą się świadomością ludzi na temat zagrożeń związanych z siedzącym trybem życia i spożywaniem żywności wysokoprzetworzonej, głównie żywności typu „fast-food”. Z drugiej strony, propagowanie właściwego odżywiania wiąże się z dużą dostępnością szerokiego asortymentu produktów spożywczych,

należących jednocześnie do grupy tzw. „zdrowej żywności” (4). Kolejny element stylu życia, jakim jest aktywność fizyczna, niesie ze sobą wiele korzyści. Osoby aktywne fizycznie są nie tylko sprawniejsze, ale mają także lepszą pamięć i koncentrację. Systematyczne uprawianie sportu jest najlepszym sposobem na uniknięcie szeregu chorób somatycznych, ponadto jest skuteczną metodą zwalczania stresu (5).

Do nieprawidłowych elementów stylu życia należą przede wszystkim palenie papierosów i picie alkoholu. Niewłaściwy model spożycia alkoholu może powodować zwiększenie ryzyka wystąpienia niekorzystnych konsekwencji, zarówno zdrowotnych, jak i społecznych. Palenie tytoniu z kolei to nie tylko farmakologiczne uzależnienie od nikotyny, ale przede wszystkim nawyk o charakterze behawioralnym, psychologicznym i społecznym. Oba zachowania zauważane są przede wszystkim wśród studentów, którzy traktują je nie jak zagrożenie zdrowia, ale sposób na rozładowanie stresu i negatywnych emocji, a także podtrzymanie kontaktów towarzyskich (6, 7).

Celem pracy było porównanie wybranych nawyków żywieniowych i elementów stylu życia polskich i słowackich studentów.

MATERIAŁ I METODY

Badaniem objęto grupę 103 polskich i 101 słowackich studentów III roku kierunków: Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka Uniwersytetu Przyrodniczego (UP) we Wrocławiu i Technologia Żywności Słowackiego Uniwersytetu Rolniczego (SUR) w Nitrze.

Do oceny wybranych elementów stylu życia i nawyków żywieniowych studentów wykorzystano autorską, zwalidowaną ankietę opracowaną w Katedrze Żywienia Człowieka Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Zawierała ona m.in. pytania dotyczące nawyków żywieniowych oraz wybranych elementów stylu życia. Wykonano również pomiary antropometryczne, które obejmowały: pomiary wysokości i masy ciała – wyznaczone za pomocą wagi lekarskiej ze wzrostomierzem z dokładnością 0,1 kg (masa ciała) i 0,1 cm (wysokość ciała). Dokonano także pomiarów obwodów talii i bioder, mierzonych odpowiednio na wysokości pępka i poniżej talerza biodrowego, za pomocą taśmy antropometrycznej z dokładnością do 0,1 cm. Na tej podstawie obliczono wskaźnik masy ciała BMI i wskaźnik WHR.

Polscy studenci byli w wieku średnio 22,8 lat, średnia wartość wskaźnika BMI wynosiła 22,8 kg/m², natomiast WHR – 0,8. W przypadku studentów słowackich średni wiek wynosił 21,9 lat, średnia wartość wskaźnika BMI – 24,2 kg/m², a średnie WHR – 0,8 (dla osób z BMI > 25).

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej z zastosowaniem arkusza kalkulacyjnego Microsoft Office Excel 2010 oraz programu Statistica 10.0. Istotne statystycznie różnice określono za pomocą testu Chi-kwadrat.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W tab. I przedstawiono liczbę posiłków spożywanych przez badanych studentów każdego dnia. Zarówno wśród studentów z Polski, jak i ze Słowacji najczęściej

deklarowano spożywanie 4–5 posiłków dziennie (odpowiednio: 57,3% i 63,4% grupy). W badaniach *Łaszek* i wspóln. (8), przeprowadzonych wśród 407 losowo wybranych studentów Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, spożywanie 4–5 posiłków dziennie deklarowało 34,1% grupy. W analizie *Rasińskiej* (4) z kolei spożywanie więcej niż 4 posiłków dziennie zadeklarowało jedynie 12,4% z 682 studentów poznańskich uczelni publicznych i niepublicznych.

Tab e l a I. Udział procentowy studentów spożywających odpowiednią liczbę posiłków dziennie

Tab l e I. Percent of groups of students eating adequate number of meals every day

	1–2 posiłki	3 posiłki	4–5 posiłki	6–8 posiłków
UP Wrocław (n=103)	5,8	35,0	57,3	1,9
SUR Nitra (n=101)	1,0	30,7	63,4	4,9

W tab. II wykazano istotne statystycznie zależności dotyczące miejsca spożywania głównego posiłku. Różnice te wynikały z różnic w codziennym sposobie żywienia. Wśród studentów polskich dom wymieniany był istotnie częściej jako miejsce spożywania głównego posiłku. Studenci słowaccy istotnie częściej wskazywali stołówkę. W badaniach *Rasińskiej* (4) najwięcej osób – 62,4% badanych – deklarowało spożywanie posiłków przygotowanych samodzielnie lub przez innych członków rodziny w domu. Około 21,0% tej grupy spożywało posiłki w barach typu fast-food, a jedynie 11,4% badanych – w stołówkach. Wśród 296 studentów 3 wrocławskich uczelni (Akademii Wychowania Fizycznego, Politechniki Wrocławskiej i Uniwersytetu Przyrodniczego) badanych przez *Romanowską-Tolloczko* (5) wykazano, że najwięcej osób spożywało główny posiłek w stołówkach studenckich, zaś znacznie mniejsza grupa korzystała z barów szybkiej obsługi.

Tab e l a II. Miejsce spożywania głównego posiłku przez badanych studentów (% grupy)

Tab l e II. Place of eating the main meal by the students (% of group)

	Dom*	Stołówka*	Bar szybkiej obsługi	Inne
UP Wrocław (n=103)	94,2	5,8	0,0	0,0
SUR Nitra (n=101)	68,3	25,7	3,0	3,0

* różnice statystycznie istotne (test Chi²)

W tab. III przedstawiono zwyczajową częstość spożywania poszczególnych posiłków przez badaną młodzież. Codzienne spożywanie pierwszego śniadania zadeklarowało 75,7% polskich i 55,5% słowackich studentów, codzienne spożywanie obiadu odpowiednio: 84,5% i 88,1%, zaś codzienne spożywanie kolacji zaobserwowano wśród 58,2% Polaków i 83,1% Słowaków i były to różnice istotne statystycznie. W badaniach *Iłowa* (9), przeprowadzonych wśród 710 kobiet i 245 mężczyzn będących studentami Akademii Medycznej we Wrocławiu stwierdzono, że studentki istotnie częściej niż studenci spożywały pierwsze śniadanie i podwieczorek. W cytowanym badaniu mężczyźni, częściej niż kobiety, spożywali obiad i kolację. Codzienne spożywanie

pierwszego śniadania deklarowało 83,2% studentek i 74,3% studentów. Obiad codziennie spożywało 88,3% studentek i 93,5% studentów, a codzienne spożywanie kolacji deklarowało 80,1% kobiet i 88,2% mężczyzn.

Na podstawie badań *Misiarz i współpr.* (10), przeprowadzonych wśród 200 studentów z województwa świętokrzyskiego, stwierdzono spożywanie pierwszego śniadania wśród 60,4% badanych studentów, drugiego śniadania – u 51,6% grupy oraz obiadu – wśród 70,2% respondentów.

Tab e l a III. Częstotliwość spożywania poszczególnych posiłków przez badanych studentów (% grupy)

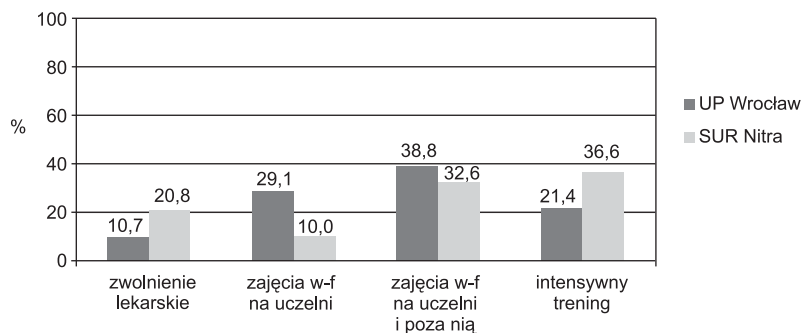
Table III. Frequency of eating main meals by the students (% of group)

Posiłek	Studenci	Częstotliwość				
		Codziennie	3–4 raz/ tydzień	1–2 razy/ tydzień	< 1 raz/ tydzień	Nie jadam
1. śniadanie	UP Wrocław	75,7	14,6	6,8	1,0	1,9
	SUR Nitra	55,5	27,8	10,0	3,0	4,0
2. śniadanie	UP Wrocław	20,4	40,8	23,3	3,9	11,6
	SUR Nitra	18,8	36,6	21,8	6,0	16,8
Obiad	UP Wrocław	84,5	11,6	3,9	0,0	0,0
	SUR Nitra	88,1	11,9	0,0	0,0	0,0
Podwieczorek	UP Wrocław	9,7	32,0	19,3	17,5	21,5
	SUR Nitra	21,7	38,6	16,8	6,9	15,8
Kolacja	UP Wrocław	58,2*	24,3	12,6	3,9	1,0
	SUR Nitra	83,1*	12,9	2,0	1,0	1,0
Podjadanie między posiłkami	UP Wrocław	36,8	22,3	23,5	7,6	9,8
	SUR Nitra	30,7	19,8	17,8	4,0	27,7

* różnice statystycznie istotne (test Chi²)

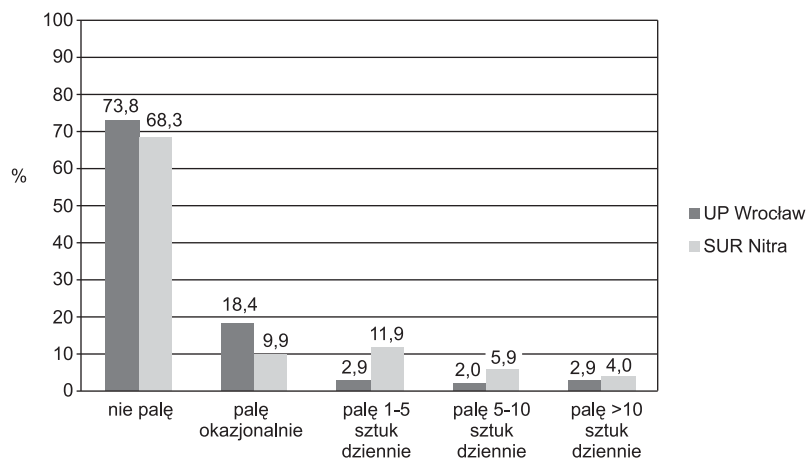
Wśród elementów stylu życia wpływających na stan zdrowia wymienia się głównie aktywność fizyczną, niepalenie papierosów i niespożywanie alkoholu. Na ryc. 1 przedstawiono częstotliwość podejmowanej aktywności fizycznej w grupie badanych polskich i słowackich studentów. Niemal 21% Słowaków i prawie 11% Polaków posiadało zwolnienie lekarskie z zajęć wychowania fizycznego. Wśród studentów ćwiczących największą grupę stanowili studenci ćwiczący w ramach zajęć wychowania fizycznego na uczelni i poza nią (odpowiednio: 38,8% Polaków i 32,6% Słowaków). Regularne uprawianie intensywnego sportu (przynajmniej 2 razy w tygodniu) zadeklarowało 21,4% polskich i 36,6% słowackich studentów. W badaniach *Romanowskiej-Tolloczko* (5), dotyczących studentów trzech wrocławskich uczelni, najwięcej godzin na aktywność fizyczną poświęcali studenci Akademii Wychowania Fizycznego. Ponad 2/3 grupy deklarowało, że uprawia sport 5–6 godz. w tygodniu. Większość studentów Politechniki Wrocławskiej twierdziła, że na aktywność ruchową przeznaczają około 3 godz. tygodniowo, natomiast studenci Uniwersytetu Przyrodniczego – 1–2 godz.

W badaniach *Ślusarskiej* i współpr. (2), przeprowadzonych wśród 104 studentów Uniwersytetu Medycznego w Lublinie i Uniwersytetu Medycznego w Warszawie, stwierdzono średni poziom aktywności fizycznej u 75% respondentów, wysoki – wśród 22%, zaś niski – u 6% badanych.



Ryc. 1. Aktywność fizyczna wśród badanych studentów (% grupy).

Fig. 1. Physical activity among students (% of group).



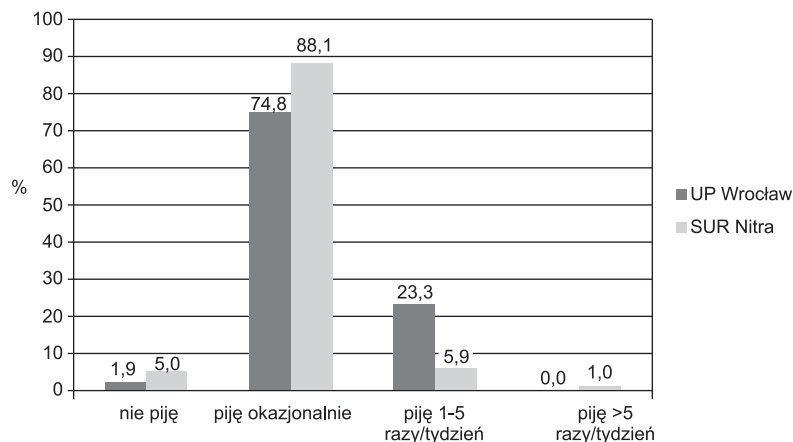
Ryc. 2. Palenie papierosów przez badanych studentów (% grupy).

Fig. 2. Smoking cigarettes by the students (% of group).

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że ok. 75% studentów polskich i ok. 68% studentów słowackich nie paliło papierosów (ryc. 2). Palenie okazjonalne deklarowało 18,4% Polaków i 9,9% Słowaków, zaś nałogowe palenie powyżej 10 sztuk papierosów dziennie zaobserwowano wśród 2,9% polskich i 4,0% słowackich studentów. W badaniach *Wójtowicz-Chomicz* i współpr. (6), w których przebadano 329 studentów Akademii Medycznej w Lublinie, stwierdzono, że niemal 35% grupy paliło papierosy regularnie, przy czym większość palaczy stanowili mężczyźni. Status ekonomiczny i stan cywilny nie miały wpływu na częstość palenia papiero-

sów. W badaniach Łaszek i współprac. (11) z kolei wykazano, że 31,6% kobiet i 44,3% mężczyzn paliło papierosy regularnie, z czego codzienne palenie deklarowało 11,7% kobiet i 21,1% mężczyzn. Na podstawie badań przeprowadzonych przez amerykańskie Centrum Kontroli Chorób (Center for Disease Control – Goals of the Global Youth Tobacco Survey (GYTS)) na Słowacji wykazano, że 64,4% studentów regularnie pali papierosy, a pierwszego papierosa większość z nich zapaliła przed 10. rokiem życia. Z tych samych badań wynika, że jedynie 17% studentów słowackich nigdy nie paliło tytoniu (12).

W badaniach własnych stwierdzono okazjonalne spożywanie alkoholu wśród prawie 75% polskich i 88,1% słowackich studentów (ryc. 3). Spożywanie alkoholu 1–2 razy/tydzień zadeklarowało 23,3% Polaków i 5,9% Słowaków, a niespożywaniem alkoholu odznaczało się 1,9% grupy polskiej i 5,0% grupy słowackiej (ryc. 3).



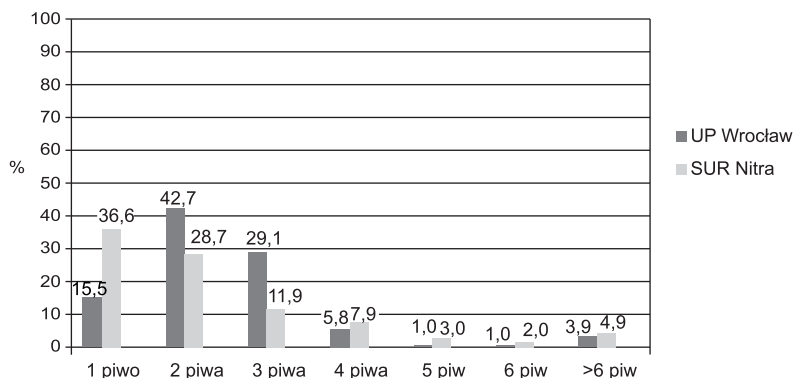
Ryc. 3. Spożywanie alkoholu przez badanych studentów (% grupy).

Fig. 3. Drinking alcohol by the students (% of group).

W badaniach Górskiej-Kłęk i współprac. (13), przeprowadzonych wśród 89 studentów AWF we Wrocławiu i 96 studentów Uniwersytetu Ekonomicznego (UE) we Wrocławiu wykazano, że alkohol kilka razy w tygodniu spożywało ok. 20% studentów wrocławskich uczelni, zaś kilka razy w miesiącu alkohol piło niemal 50% studentów AWF i 30% studentów UE. Respondentów niespożywających alkoholu było więcej na Uniwersytecie Ekonomicznym (ok. 20%) niż na AWF (ok. 3%). Na podstawie badań Łaszek i współprac. (11) wykazano, że niemal 51% kobiet i ponad 38% mężczyzn uważało, że pije za dużo, zaś jedynie ok. 4% badanych studentów twierdziło, że ilość zwyczajowo spożywanego przez nich alkoholu jest niewielka i bardzo rzadka. W badaniach Wojtowicz-Chomicz i współprac. (6), przeprowadzonych wśród 329 studentów Akademii Medycznej w Lublinie, stwierdzono, że 98,8% respondentów piło alkohol pod różnymi postaciami, a najczęściej wybieranym rodzajem było piwo (wśród kobiet – 40,3%, wśród mężczyzn – 52,3%). Badania Jurkovičovej (14) wykazały, że większość studentów Uniwersytetu Medycznego w Bratysławie spożywała alkohol

bardzo rzadko lub wcale. Badani, którzy spożywali alkohol, wybierali najczęściej piwo (4,7% respondentów) i wino (1,4% respondentów).

W badaniach własnych studenci polscy najczęściej deklarowali spożywanie jednorazowo 2 piw – 42,7%, zaś studenci słowaccy wypijali zwyczajowo 1 piwo – 36,6%. Około 1/3 grupy Polaków wypijała jednorazowo 3 piwa, podczas gdy spożycie tej samej ilości deklarowało jedynie ok. 12% Słowaków (ryc. 4).



Ryc. 4. Porcja alkoholu spożywanego jednorazowo przez badanych studentów (% grupy).

Fig. 4. A portion of alcohol consumed at one time by the students (% of group).

Z badań *Łaszek* i współpr. (11) wynikało, że ponad 60% studentek i ponad 30% studentów Uniwersytetu Medycznego w Łodzi najczęściej jednorazowo wypijała 1 piwo lub 1 lampkę wina. *Wójtowicz-Chomicz* i współpr. (6) wykazali, że jednorazowo 1–2 porcje alkoholu spożywało 50,4% kobiet i 13,0% mężczyzn z Akademii Medycznej w Lublinie. W badaniach *Sebeny* i współpr. (15), przeprowadzonych wśród 813 studentów z czterech uczelni wyższych w Koszycach na Słowacji, wykazano, że 77,0% mężczyzn i 52,1% kobiet wypijało jednorazowo 5 i więcej piw. Prawie połowa badanych młodych Słowaków deklarowała jednorazowy stan upojenia alkoholowego w ciągu miesiąca poprzedzającego badanie.

WNIOSKI:

1. Miejsce spożywania głównego posiłku różnicowało istotnie statystycznie zwyczaje żywieniowe polskich i słowackich studentów.

2. Blisko 1/3 studentów zarówno polskich, jak i słowackich podejmowała aktywność fizyczną poza uczelnią i były to głównie zajęcia na siłowni i basenie.

3. Zdecydowana większość studentów polskich i słowackich nie paliła papierosów i okazjonalnie spożywała alkohol.

4. Najczęściej wybieranym rodzajem alkoholu w obu badanych grupach było piwo.

A. Broniecka, M. Habanova, E. Bator, J. Wyka, M. Bronkowska

COMPARISON OF SELECTED LIFESTYLE FACTORS AND DIETARY HABITS
OF POLISH AND SLOVAK STUDENTS

Summary

Lifestyle defines patterns of group behaviour determined the mode of everyday life. Lifestyle factors, which have the greatest influence on state of health are: physical activity, proper nutrition, not smoking and not taking alcohol. The study involved a group of 103 Polish and 101 Slovak students from the third year of Food Technology of Wrocław University of Life Science and Slovak University of Agriculture in Nitra. It has been shown the differences in the frequency and the place of eating main meals. It has been also observed taking regular physical activity by nearly one-third of group of Polish and Slovak students. It has been demonstrated occasional alcohol consumption and not smoking in most part of the two groups.

Acknowledgment: This paper was supported by VEGA project No. 1/0127/14: Determination of total polyphenols and antioxidant capacity of plant sources and agroecological conditions of the Slovak Republic and their utilisation in improving of population health

PIŚMIENNICTWO

1. Raport WHO, 2010 – Social inequalities in environment and health (<http://www.euro.who.int/en/health-topics/environment-and-health>) – data otwarcia dokumentu – 20.03.2014. – 2. *Ślusarska B., Kulik T.B., Piasecka H., Pacian A.*: Wiedza i zachowania zdrowotne studentów medycyny w zakresie czynników ryzyka sercowo-naczyniowego. *MONZ*, 2012; 18(1): 19-26. – 3. *Ponczek D., Olszowy I.*: Styl życia młodzieży i jego wpływ na zdrowie. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2012; 93(2): 260-268. – 4. *Rasińska R.*: Nawyki żywieniowe studentów w zależności od płci. *Now. Lek.*, 2012; 81(4): 354-359. – 5. *Romanowska-Tolloczko A.*: Styl życia studentów oceniany w kontekście zachowań zdrowotnych. *Hygeia Public Health*, 2011; 46(1): 89-93. – 6. *Wójtowicz-Chomicz K., Kowal M., Wójtowicz M., Borzęcki A.*: Próba oceny zachowań anty-zdrowotnych studentów Akademii Medycznej w Lublinie. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2007; 88(1): 108-111. – 7. *Rasińska R., Nowakowska I.*: Palenie tytoniu wśród studentów – porównanie badań własnych z literaturowymi. *Prz. Lek.*, 2012; 69(10): 888-892. – 8. *Łaszek M., Nowacka E., Gawron-Skarbek A., Szatko F.*: Negatywne wzorce zachowań zdrowotnych studentów. Część II. Aktywność ruchowa i nawyki żywieniowe. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2011; 92(3): 461-465. – 9. *Iłow R.*: Ocena zwyczajów żywieniowych studentów Akademii Medycznej we Wrocławiu. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2005; 14(5): 929-938. – 10. *Misiarz M., Malczyk E., Zoloteńka-Synowiec M., Rydelek J., Sobota O.*: Ocena zachowań żywieniowych studentów kierunków medycznych i niemedyckich województwa świętokrzyskiego. *Piel. Zdr. Publ.*, 2013; 3(3): 265-272.

11. *Łaszek M., Nowacka E., Szatko F.*: Negatywne wzorce zachowań studentów. Część I. Konsumpcja alkoholu i stosowanie substancji psychoaktywnych. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2011; 92(1): 114-119. – 12. http://www.jfmed.uniba.sk/fileadmin/user_upload/editors/UVZ_Files/Epidemiologia/dokumenty/GYTS_2007_Country_Report.pdf. – 13. *Górska-Klęk L., Meleszko K., Boerner E.*: Prozdrowotne elementy stylu życia studentów Akademii Wychowania Fizycznego i Uniwersytetu Ekonomicznego. *Acta Bio-Opt Inform. Med.*, 2011; 4(17): 268-274. – 14. *Jurkovičová J.*: *Vieme zdravo žiť?* Univerzita Komenského, Vyd. Bratislava, 2005. – 15. *Sebena R., Orosova O., Mikolajczyk R.T., Van Dijk J.P.*: Selected sociodemographic factors and related differences in patterns of alcohol use among university students in Slovakia. *Public Health*, 2011; 11: 849-858.

Adres: 51-630 Wrocław, ul. Chełmońskiego 37/41

Zuzanna Goluch-Koniuszy

OCENA WPŁYWU, NA MODELU ZWIERZĘCYM, ZMIANY SKŁADU DIETY I JEJ SUPLEMENTACJI WITAMINAMI Z GRUPY B NA CAŁKOWITY POTENCJAŁ ANTYOKSYDACYJNY OSOCCA MIERZONY METODĄ FRAP*

Zakład Fizjologii Żywienia Człowieka
Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie
Kierownik: prof. dr hab. M. Friedrich

Celem pracy była ocena, na modelu zwierzęcym, wpływ składu diety oraz jej suplementacji witaminami B₁, B₂, B₆ i PP, na całkowity potencjał antyoksydacyjny osocza. Samce szczura szczepu Wistar podzielono na III grupy i żywiono ad libitum: grupę I paszą podstawową, grupy II i III – paszą zmodyfikowaną, w której 83,5% pszenicy obecnej w paszy podstawowej zostało zastąpione mąką pszenną, a 50% kukurydzy – sacharozą. Do picia zwierzęta grupy I i II otrzymywały wodę, a grupa III wodny roztwór witamin. Wykazano, że zmiana składu i jej suplementacja witaminami z grupy B spowodowała istotny wzrost stężenia glukozy w surowicy zwierząt, któremu nie towarzyszył jednak istotny spadek zdolności antyoksydacyjnej osocza mierzony metodą FRAP.

Hasła kluczowe: suplementacja, witaminy z grupy B, sacharoza, szczury, FRAP.
Key words: supplementation, vitamins B groups, sucrose, rats, FRAP.

Współczesna dieta ludzi odznacza się znaczną ilością produktów przetworzonych i oczyszczonych, bogatych w cukry proste, a poprzez zastosowane procesy technologiczne zubożonych m.in. w witaminy z grupy B biorące udział w metabolizmie białek, lipidów i węglowodanów. Wykazano (1), że dieta bogata w cukry proste implikuje hiperglikemię, która poprzez takie mechanizmy, jak: autooksydacja glukozy, aktywacja przemian szlaku polioliowego i sorbitolu, nieenzymatyczna glikacja, stymulacja granulocytów obojętnochłonnych, indukuje wytwarzanie reaktywnych form tlenu ROS (*Reactive Oxygen Species*), w ilościach przekraczających fizjologiczną wydolność układów antyoksydacyjnych, co daje efekt stresu oksydacyjnego i zmniejszenie ochrony antyoksydacyjnej nieenzymatycznej i enzymatycznej.

Badania Pietruszki i Brzozowskiej (2) wykazały, że od 25 do 75% społeczeństwa polskiego stosuje suplementację diety m.in. witaminami z grupy B, aby zapobiec niedoborom pokarmowym, często wg własnego uznania, bez wyraźnych wskazań medycznych, przekraczając zalecane ilości spożycia. Stosowane powszechnie, jako suplementy diety, witaminy z grupy B mogą wykazywać działanie antyoksydacyj-

* Badania były finansowane przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego – projekt nr 1248/B/PO1/2010/39

ne lub prooksydacyjne w zależności od zastosowanej dawki i czasu suplementacji. Pomimo, że witaminy z grupy B uznawane są za nietoksyczne i przy nadmiarze wydalane są z moczem, to jednak z badań *Friedrich i Dolot* (3), wynika, że przy zmianie składu diety, w której składniki całościowe (pełne ziarna pszenicy i kukurydzy) zostają izokalorycznie zastąpione mąką pszenną i sacharozą oraz przy suplementacji takiej diety witaminami B₁, B₂, B₆ oraz PP dochodzi do istotnej zmiany statusu antyoksydacyjnego we krwi szczurów mierzonego wskaźnikiem TAS (*Total Antioxidant Status*).

Jednym z parametrów określających całkowity potencjał antyoksydacyjny osocza jest metoda FRAP (*The Ferric Reducing Ability of Plasma*), oparta na spektrofotometrycznym pomiarze (przy dł. fali 593 – 600 nm) redukcji kompleksu bezbarwnego jonu Fe³⁺ z 2,4,6-tripirydylo-S-triazyną (Fe³⁺ – TPTZ) do barwnego produktu (Fe²⁺ – TPTZ) przy niskim pH = 3,6, pod wpływem działania antyoksydantu (4). Ilość powstałego jonu żelazawego w badanej próbce osocza jest tym większa, im większa jest zawartość antyoksydantów w próbce.

Postanowiono zbadać, na modelu zwierzęcym, czy pod wpływem zmiany składu diety i jej suplementacji witaminami B₁, B₂, B₆ i PP może u szczurów dochodzić do zmiany całkowitego potencjału antyoksydacyjnego osocza mierzonego metodą FRAP, ponieważ nie odnaleziono w literaturze adekwatnych badań.

MATERIAŁ I METODY

Po uzyskaniu zgody Lokalnej Komisji Etycznej (nr zgody 2/2010), badania przeprowadzono na 30 samcach szczura szczepu Wistar, w wieku 5 miesięcy, o wyjściowej masie ciała $428,7 \pm 50,9$ g, które umieszczono w indywidualnych klatkach. Zwierzęta pochodziły z hodowli Zwierzętarni Katedry i Zakładu Toksykologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Po tygodniowym okresie kondycjonowania (woda do picia oraz pasza podstawowa) w warunkach wiwarium (temp. 21–22°C, wilgotność względna powietrza 55–60%, cykl jasność/ciemność 12/12 h zwierzęta zostały podzielone na trzy równoliczne grupy żywieniowe (po 10 osobników), które żywiono *ad libitum* granulowanymi paszami wyprodukowanymi z tych samych komponentów, poza różnicującymi, przez Wytwórnę Pasz i Koncentratów „Morawski” w Kcyni. Grupa I otrzymywała paszę podstawową (Labofed B), która odpowiada wymaganiom stawianym paszy AIN-93 (5) i zawiera m. in. pełne ziarna pszenicy i kukurydzy. Grupy II-III otrzymywały paszę zmodyfikowaną, w której 83,5% pszenicy obecnej w paszy podstawowej zostało zastąpione mąką pszenną (typ 500), a 50% kukurydzy – sacharozą (tab. I).

Wykonano analizę składu chemicznego (6) przygotowanych pasz (tab. II), oznaczając zawartość: azotu ogólnego metodą Kjeldahla na aparacie Kjeltec 2100 firmy Foss Tecator, który przeliczono na białko; tłuszczu surowego metodą Soxhleta na aparacie Soxtec HT6 Foss Tecator; suchej masy metodą wagową poprzez suszenie próbki w temp. 105°C przez 12 h w suszarce laboratoryjnej WTS E16-6/500 oraz popiołu metodą wagową poprzez spalanie w piecu muflowym CZYŁOK SM 946 w temp. 550°C przez 10 h. W Krajowym Laboratorium Pasz Państwowy Instytut Badawczy Instytutu Zootechniki w Szczecinie oznaczono zawartość: witamin B₁,

B₂, B₆ i PP metodą HPLC na aparacie Agilent 1200SL; włókna surowego metodą wagową (PB-02/PS) na aparacie ANKOM 220 oraz zawartość żelaza (7) metodą AAS (absorpcyjnej spektrometrii atomowej).

Tab e l a I. Skład surowcowy pasz zastosowanych w doświadczeniu (g/100 g)

Tab l e I. Ingredients of feeds used in the experiment (g/100 g)

Nazwa komponentu	Pasza podstawowa	Pasza zmodyfikowana
Pszonica	36,4	6,0
Kukurydza	20,0	10,0
Otręby pszenne	20,0	20,0
Serwatka suszona	3,0	3,0
Śruta sojowa 48% ¹	17,0	17,0
Fosforan 1-Ca ²	0,27	0,25
Kreda pastewna ³	2,0	2,0
Sól pastewna ⁴	0,27	0,25
Premiks LRM ⁵	0,8	1,0
Mąka pszenna typ 500	–	30,4
Sacharoza	–	10,0

¹ Śruta sojowa 48% – poekstrakcyjna, zawierająca 48% białka i 7% błonnika; ² Fosforan 1-CA – dodatek paszowy, zawiera min. 22% P and 15% Ca; ³ Kreda pastewna – zawiera w kg: Ca 350 g, Mg 3,20 g; Na 10,00 mg, P 15,00 mg; ⁴ Sól pastewna – NaCl; ⁵ Premix LRM zawiera w kg: IU: A 1500000, vit. D₃ 100000; mg: vit. E 8000; vit. K 300, vit. B₁ 1200, vit. B₂ 1200, vit. B₆ 1000, vit. B₁₂ 8, Se 100, Fe 16000, Mn 4500, Zn 6000, Cu 1300, J 100, Co 200;

Tab e l a II. Skład chemiczny pasz zastosowanych w doświadczeniu (w 100 g paszy)

Tab l e II. Chemical composition of feeds used in the experiment (in 100 g of feed)

Składnik	Pasza podstawowa	Pasza zmodyfikowana
Białko ogółem (g)	19,7	18,6
Tłuszcz surowy (g)	2,0	3,3
Węglowodany (g)	62,3	63,4
Włókno surowe (g)	2,91	2,73
Sucha masa (g)	90,6	91,4
Popiół ogółem (g)	6,61	6,17
Tiamina (B ₁) (mg)	2,5	0,62
Ryboflawina (B ₂) (mg)	2,1	1,14
Pirydoksyna (B ₆) (mg)	2,35	1,35
Niacyna (PP) (mg)	8,6	4,8
Fe (mg)	25,6	21,3
Energia brutto (kcal/g)	3,89	3,99
(kJ/g)	16,3	16,7
Energia metaboliczna (kcal/g)	3,45	3,59
(kJ/g)	14,4	14,9

Zawartość węglowodanów wyliczono z różnicy pomiędzy suchą masą, a sumą pozostałych składników stałych. Zawartość energii brutto i metabolicznej wyliczono z wykorzystaniem powszechnie stosowanych równoważników energetycznych (8).

Zwierzęta z grupy I i II do picia otrzymywały wodę, zwierzęta grupy III, w porze wzmożonej aktywności, otrzymywały 25 cm³ wodnego roztworu witamin w ilości: B₁ (*Thiamini hydrochloridum*) – 3,1 mg, B₂ (*Riboflavinum*) – 2,3 mg, B₆ (*Pyridoxinum hydrochloricum*) – 2,4 mg, PP (*Nicotinamidum*) – 6,65 mg. Witaminy pochodziły z ogólnie dostępnych preparatów farmaceutycznych, a podawana ilość przekraczała 2–4-krotnie (w zależności od rodzaju witaminy) powstałe różnice pomiędzy paszami (suplementacja nadmiarowa), co do pewnego stopnia imitowało sposób profilaktycznej suplementacji u ludzi. Po wypiciu roztworu witamin zwierzęta dopajano czystą, odstanną wodą wodociągową.

Doświadczenie, po jednotygodniowym okresie kondycjonowania zwierząt, trwało 6 tygodni, w trakcie których na bieżąco obliczano ilość spożytej paszy oraz ilość wypijanych płynów. Raz na tydzień kontrolowano masę ciała zwierząt. Na 12 godz. przed zakończeniem doświadczenia odstawiano zwierzętom paszę. Następnie zwierzęta uśpiono anestetykiem Ketanest (*Pfizer Ireland Pharmaceuticals*) podanym domięśniowo w dawce 10 mg/kg masy ciała i pobrano krew z serca. Po odwirowaniu skrzepu (w temp. 4°C, przy prędkości 3500 U*min⁻¹, przez 20 min) w wirówce MPW-350R uzyskano surowicę i osocze do dalszych analiz, w których wykonano oznaczenie stężenia glukozy metodą kolorymetryczną przy użyciu biotestu firmy BioSystems (nr kat. 11803) w spektrofotometrze Metertech SP-8001 oraz stężenie żelaza metodą kolorymetryczną z ferene za pomocą biotestu firmy BioMaxima (nr kat. 1-418-0150) w spektrofotometrze Metertech SP-8001.

Całkowity potencjał antyoksydacyjny osocza zwierząt do redukcjonowania jonów żelaza badano metodą FRAP (4). Jako roztworu wzorcowego użyto wodnych roztworów wzorcowych Fe²⁺ zawierających 100–1000 μmol/dm³ FeSO₄. Przyrost absorpcji mierzono przy dł. fali 593 nm przez 10 min w temp. 37°C na spektrofotometrze SP-8001v firmy Metertech.

Uzyskane wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji, w układzie ortogonalnym, za pomocą komputerowego programu statystycznego Statistica 9.0®, z zastosowaniem testu NIR, określając istotność różnic przy $p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Jednym z wielu czynników wpływających na ilość pobieranej paszy u zwierząt jest jej wartość energetyczna (9). W przeprowadzonym doświadczeniu zwierzęta otrzymywały *at libitum* paszę izokaloryczną, a dodawane do wody pitnej witaminy z grupy B nie zmieniały wartości energetycznej paszy, co eliminowało wpływ tego czynnika na wielkość pobierania paszy. W przeprowadzonym doświadczeniu, podobnie jak w badaniach innych autorów (10) stwierdzono, że zarówno zmiana składu diety, jak i suplementacja takiej diety witaminami z grupy B nie wpłynęły istotnie na spożycie paszy przez badane zwierzęta (tab. III). Nieco większe pobranie paszy przez zwierzęta grupy kontrolnej (w przeliczeniu na 100 g masy ciała) można tłumaczyć

czyć zdolnością szczurów do kompensowania mniejszej gęstości odżywczej tej diety (11), wynikającej z większej zawartości włókna surowego w tej paszy w porównaniu z paszą zmodyfikowaną.

Pomimo znanego wpływu paszy zawierającej sacharozę na zwiększenie przyrostów masy ciała zwierząt (1), nie stwierdzono statystycznie istotnego przyrostu masy ciała, w przeliczeniu na 100 g spożytej paszy, u zwierząt żywionych paszą zmodyfikowaną w porównaniu do grupy żywionej paszą podstawową. Może to wynikać z faktu, że do syntezy kwasów tłuszczowych z glukozy i fruktozy, które dostarczają atomów węgla i NADPH, niezbędne są odpowiednie ilości witamin z grupy B będących kofaktorami w przemianach metabolicznych (13), a w której pasza zmodyfikowana była zubożona w zakresie 42–75%. Natomiast w grupie zwierząt żywionych paszą zmodyfikowaną i suplementowaną witaminami spodziewanym efektem stwierdzonego istotnie wyższego stężenia glukozy w surowicy (która powoduje ekspresję genów enzymów lipogenezy przy jednoczesnym obniżeniu ekspresji genów biorących udział w utlenianiu kwasów tłuszczowych) mógł być przyrost masy ciała zwierząt (14). Jednakże zastosowana suplementacja nadmiarowa witaminami z grupy B (tab. III) paszy zmodyfikowanej nie wpłynęła istotnie na przyrosty masy ciała u szczurów. Być może przyczyną obserwowanego zjawiska była mniejsza zawartość w paszy zmodyfikowanej cynku, magnezu, wapnia i chromu (z powodu mniejszej zawartości w paszy ziaren zbóż) biorących udział w metabolizmie węglowodanowo-lipidowym, co jednak wymaga prowadzenia dalszych badań.

Tab e l a III. Wpływ składu diety i jej suplementacji witaminami z grupy B na spożycie paszy, przyrosty masy ciała i na wybrane parametry krwi u samców szczura ($\bar{x} \pm SD$, $n = 30$)

Tab l e III. Effects of diet and vitamins B group supplementation on feed consumption, body weight gain, and chosen parameters in male rat serum ($\bar{x} \pm SD$, $n = 30$)

Badana cecha	Pasza podstawowa (a)	Pasza zmodyfikowana (b)	Pasza zmodyfikowana + suplementacja (c)	Istotność różnic
Masa ciała początkowa (g)	428,8 ± 65,3	432,4 ± 50,4	427,0 ± 42,8	–
Masa ciała końcowa (g/6 tyg.)	457,8 ± 63,1	474,5 ± 48,4	460,1 ± 34,6	–
Spożycie płynów (cm ³ /100 g masy ciała/6 tyg.)	276,3 ± 45,8	265,1 ± 33,3	249,7 ± 21,4	–
Spożycie witaminy B ₁ (mg/100 g masy ciała/6 tyg.)				
z paszą	4,81 ± 0,42	1,16 ± 0,11	1,12 ± 0,06	a-b**, a-c**
z wodą	0	0	30,96 ± 2,70	a-c**, b-c**
Razem	4,81 ± 0,42	1,16 ± 0,11	32,09 ± 2,70	a-b**, a-c**, b-c**
Spożycie witaminy B ₂ (mg/100 g masy ciała/6 tyg.)				
z paszą	4,04 ± 0,36	2,13 ± 0,21	2,06 ± 0,10	a-b**, a-c**
z wodą	0	0	16,7 ± 0,82	a-c**, b-c**
Razem	4,04 ± 0,36	2,13 ± 0,21	18,73 ± 0,92	a-b**, a-c**, b-c**

Badana cecha	Pasza podstawowa (a)	Pasza zmodyfikowana (b)	Pasza zmodyfikowana + suplementacja (c)	Istotność różnic
Spożycie witaminy B ₆ (mg/100 g masy ciała/6 tyg.) z paszą z wodą Razem	4,52 ± 0,40 0 4,52 ± 0,40	2,52 ± 0,24 0 2,52 ± 0,24	2,44 ± 0,12 24,0 ± 2,05 26,4 ± 2,16	a-b**, a-c** a-c**, b-c** a-b**, a-c**, b-c**
Spożycie witaminy PP (mg/100g masy ciała/6 tyg.) z paszą z wodą Razem	16,53 ± 1,46 0 16,53 ± 1,46	8,98 ± 0,87 0 8,98 ± 0,87	8,69 ± 0,43 66,4 ± 5,68 75,1 ± 6,06	a-b**, a-c** a-c**, b-c** a-b**, a-c**, b-c**
Spożycie paszy (g/6 tyg.)	872,6 ± 78,9	881,3 ± 64,8	830,7 ± 32,8	–
Spożycie paszy (g/ 100 g masy ciała/6 tyg.)	192,2 ± 17,0	187,0 ± 18,1	181,1 ± 8,90	–
Spożycie Fe (mg/100 g masy ciała/6 tyg.)	49,2 ± 4,3	39,8 ± 3,9	38,6 ± 1,9	a-b** a-c**
Przyrosty masy ciała (g /100 g paszy/6 tyg.)	3,39 ± 1,5	4,76 ± 0,9	4,02 ± 2,2	–
Glukoza (mg/dl)	112,1 ± 12,7	119,3 ± 23,9	135,0 ± 22,4	a-c*
Fe (μmol/dm ³)	16,7 ± 1,5	16,5 ± 4,4	15,4 ± 2,2	–
FRAP (μmol Fe ²⁺ /dm ³)	462,9 ± 79,1	436,7 ± 51,0	414,2 ± 85,4	–

a*, b – różnica istotna statystycznie $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$

Stwierdzony w przeprowadzonych badaniach istotny wzrost stężenia glukozy w surowicy szczurów żywionych paszą zmodyfikowaną i suplementowaną, w stosunku do zwierząt żywionych paszą podstawową, mógł wynikać z sumarycznego większego pobrania ilości niacyny niż w paszy podstawowej. Wykazano bowiem (15), że nadmiar niacyny w diecie powoduje wzrost stężenia glukozy we krwi, nawet pomimo zastosowanej jednoczesnej suplementacji tiaminą, znanej z normalizującego działania w zakresie metabolizmu węglowodanów (16). Przy wysokim stężeniu glukozy we krwi, zarówno u ludzi, jak i u zwierząt, obserwuje się zaburzenia równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej organizmu określanej mianem stresu oksydacyjnego (1).

Zastosowana pasza zmodyfikowana zawierająca sacharozę i jednocześnie zawierająca o blisko 75% mniejszą zawartość witaminy B₁ oraz o ponad 42–45% witamin B₂, B₆ i PP w stosunku do paszy podstawowej, mogła wpłynąć na nasilenie reakcji wolnorodnikowych, gdyż wykazano u szczurów stres oksydacyjny zarówno przy niedoborze tiaminy w diecie (17), jak i przy niedoborze pirydoksyny (18). Jednakże nie stwierdzono istotnej różnicy w aktywności antyoksydacyjnej osocza mierzonej metodą FRAP pomiędzy zwierzętami żywionymi paszą podstawową i zmodyfikowaną, a jedynie tendencję malejącą (wartość FRAP zmniejszyła się o 5,7%). Odmienne wyniki uzyskali *Robert* i współpr. (19), którzy stwierdzili istotny ($p \leq 0,05$) spadek

wartości FRAP o 17% w osoczu u szczurów żywionych paszą zawierającą sacharozę (30%) w stosunku do grupy kontrolnej. Odmienny wynik z przeprowadzonych badań własnych może wynikać z ilości zastosowanej w paszy sacharozy (10%).

Badania *Friedrich i Dolot* (3), wykazały istotny spadek TAS w surowicy szczurów pod wpływem zastosowanej diety zawierającej 10% sacharozy i jej suplementacji witaminami z grupy B, co świadczyło o wzroście natężenia reakcji wolnorodnikowych. Wykazano (20), że TAS jest istotnie ($p \leq 0,05$) wysoko dodatnio skorelowany z FRAP ($r = 0,807$) oraz ze stężeniem glukozy we krwi (21). W przeprowadzonym doświadczeniu pomimo zastosowanej diety zmodyfikowanej zawierającej również 10% sacharozy i suplementowanej witaminami z grupy B nie stwierdzano istotnego jej wpływu na spadek aktywności antyoksydacyjnej osocza mierzonego metodą FRAP, chociaż można zauważyć tendencję spadkową (spadek wartości FRAP o 10,5%). Brak istotnych różnic we FRAP badanych grup zwierząt mógł być wynikiem mniejszej zawartości w paszy zmodyfikowanej żelaza (o 16,8%), istotnie zmniejszonego spożycia tego pierwiastka z paszą, jak i jego niższego stężenia we krwi (choć statystycznie nieistotnego) (tab. III). Wykazano bowiem (22), że zwiększeniu FRAP w osoczu, sprzyja wysokie stężenie wolnego żelaza, które przyczynia się do generacji ROS w reakcji Fentona.

Otwarte pozostaje pytanie czy wielkość zastosowanej suplementacji witaminami B₁, B₂, B₆ i PP (2–4-krotne przekroczenie różnicy w paszy) sprzyjała procesom antyoksydacyjnym. *Higashi-Okai* i współpracownicy (23) wykazali, że tiamina, ryboflawina i niacyna w tych samych stężeniach stosowane krótkoterminowo mogą działać prooksydacyjnie, ale już stosowane długoterminowo (podobnie jak w przeprowadzonym 6-tygodniowym eksperymencie) działają antyoksydacyjnie. Inni autorzy (24) wykazali również działanie antyoksydacyjne tiaminy, która chroniła przed mikrosomalną peroksydacją lipidów wątroby szczura. *Jain i Lim* (25) wykazali silny hamujący wpływ witaminy B₆ na peroksydację lipidów, silniejszy nawet niż suplementowanej witaminy C (26). Ponieważ *Gliszczyńska-Świątło* (27) wykazała, że spośród witamin z grupy B w teście FRAP tylko kwas foliowy w niewielkim stopniu (25-krotnie niższym niż witamina C) wykazywał zdolność do zmniejszenia Fe³⁺, można przypuszczać, że metoda FRAP nie jest specyficznym testem dla określenia całkowitego potencjału oksydacyjnego u szczura.

Reasumując brak istotności różnic w wielkości FRAP pomiędzy badanymi grupami zwierząt, pomimo zastosowanej w diecie sacharozy oraz nadmiarowej suplementacji takiej diety witaminami z grupy B, nie stanowi jednoznacznie o osłabieniu całkowitego potencjału antyoksydacyjnego ustroju szczurów, dlatego istnieje potrzeba dalszych badań w tym zakresie.

WNIOSKI

Analiza uzyskanych wyników wykazała, że:

- 1) zarówno zmiana składu diety, polegająca na zamianie pełnych ziaren zbóż na mąkę pszenną i sacharozę jak i jej suplementacja wybranymi witaminami z grupy B, nie wpłynęła istotnie na spożycie paszy oraz przyrosty masy ciała badanych zwierząt;

2) zmiana składu diety i jej suplementacja spowodowała istotny wzrost stężenia glukozy w surowicy zwierząt;

3) istotnemu wzrostowi stężenia glukozy we krwi zwierząt żywionych paszą zmodyfikowaną i suplementowaną nie towarzyszył istotny spadek całkowitego potencjału antyoksydacyjnego osocza mierzony metodą FRAP.

Z. Goluch-Koniuszy

THE EVALUATION OF INFLUENCE, ON ANIMAL MODEL, OF DIET CHANGE AND ITS SUPPLEMENTATION WITH GROUP B VITAMINS ON TOTAL ANTIOXIDATIVE POTENTIAL OF PLASMA MEASURED WITH FRAP METHOD

Summary

The aim of this research was the evaluation of influence of diet content and its supplementation with B₁, B₂, B₆ and PP vitamins on total antioxidant potential of plasma, on animal model. Male rats of Wistar stain have been divided into three groups and fed ad libitum: Group I with basic feed, Groups II and III with modified feed in which 85% of wheat, contained by basic feed, was exchanged for wheat flour and 50% of maize with saccharose. Animals from Groups I and II received water to drink and animals from III aqueous solution of vitamins. It has been shown that the change of such diet with group B vitamins caused significant increase of glucose concentration in animals' serum, which however was not accompanied with significant decrease of antioxidant ability of plasma measured by FRAP method.

PIŚMIENNICTWO

1. Sies H., Stahl W., Sevanian A.: Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. *J. Nutr.*, 2005; 135(5): 969-972. – 2. Pietruszka B., Brzozowska A.: Vitamins and mineral supplement among adults in Central and Eastern Poland. *Nutr. Res.*, 1999; 19(6): 817-826. – 3. Friedrich M., Dolot A.: Assessment of effects of diet composition and vitamin B supplementation in free radical-related processes in the body. Activity of antioxidant enzymes and the total antioxidant status of rat blood. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2010; 60(3): 281-287. – 4. Benzie I.F., Strain J.J.: The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": the FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 1996; 239(1): 70-76. – 5. Reeves P.G., Nielsen F.H., Fahey G.C.: AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76 rodent diet. *J. Nutr.*, 1993; 123(11): 1939-1951. – 6. AOAC.: Association of Official Analytical and Chemists, Official Methods of Analysis. 2003; 17th Edition. Gaithersburg. – 7. PN-EN ISO 6869:2002P. Pasze. Oznaczanie zawartości wapnia, miedzi, żelaza, magnezu, manganu, potasu, sodu i cynku. Metoda absorpcyjnej spektrometrii atomowej. – 8. FAO. Food energy – methods of analysis and conversion factors. Chapter 2: Methods of food. Analysis. Food and Nutrition, 2003; 77: 12-14. – 9. Alhaidary A., Mohamed H.E., Beynen A.C.: Differences between rats and rabbits in their response of feed and energy intake to increasing dietary fat content. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.*, 2010; 37(4): 237-240. – 10. Debski B., Bertrandt J., Klos A., Gralak M.: The Influence of Folic Acid, Vitamins B2 and B6 supplementation on feed intake, body and organs weight, and liver fatty acids composition of rats subjected to 3 months moderate protein deprivation. *Vet. Med. A*, 2007; 54(2): 57-61.
11. Roy H.J., Keenan M.J., Zablah-Pimentel E., Hegsted M., Bulot L., O'Neil C.E., Bunting L.D., Fernandez J.M.: Adult female rats defend "appropriate" energy intake after adaptation to dietary energy. *Obes. Res.*, 2003; 11(10): 1214-1222. – 12. Chepulis L.: The effect of honey compared to sucrose, mixed sugars and a sugar free diet on weight gain in young rats. *J. Food Sci.*, 2007; 72(3): 224-229. – 13. Mooney S., Leuendorf J.E., Hendrickson C., Hellmann H.: Vitamin B6: A long known compound of surprising complexity. *Molecules*, 2009; 14(1): 329-351. – 14. Morral N., Edenberg H.J., Witting S.R., Altomonte J., Chu T., Brown M.: Effects of glucose metabolism on the regulation of genes of fatty acid synthesis and triglyceride secretion in the liver. *J. Lipid Res.*, 2007; 48: 1499-1510. – 15. Alvarsson M., Grill V.: Impact of nicotinic acid treatment on insulin secretion and insulin sensitivity in low and high insulin

responders. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1996; 56(6): 563-570. – 16. *Yenilmez A., Ozçiğçi M., Aydın Y., Turgut M., Uzuner K., Erkul A.*: Protective effect of highdose thiamine (B1) on rat detrusor contractility in streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Acta Diabetol.*, 2006; 43(4): 103-108. – 17. *Sushko L.I., Lukienko P.I.*: Effect of vitamin B1 deficiency on xenobiotic hydroxylation and lipid peroxidation in rat liver microsomes. *Farmakol. Toksikol.*, 1981; 44(1): 102-104. – 18. *Taysi S.*: Oxidant/antioxidant status in liver tissue of vitamin B6 deficient rats. *Clin. Nutr.*, 2005; 24(3): 385-389. – 19. *Robert L., Narcy A., Rayssiguier Y., Mazur A., Rémésy C.*: Lipid metabolism and antioxidant status in sucrose vs. potato-fed rats. *J. Am. Coll. Nutr.*, 2008; 27(1): 109-116. – 20. *Katalinić V., Salamunić I., Pazanin S., Mulić R., Milisić M., Ropac D.*: The antioxidant power and level of lipid peroxidation products in the sera of apparently healthy adult males. *Coll Antropol.*, 2007; 31(1): 165-171.

21. *Jansen E., Ruskovska T.*: Comparative Analysis of Serum (Anti)oxidative Status Parameters in Healthy Persons. *Int. J. Mol. Sci.*, 2013; 14(3): 6106-6115. – 22. *Puntarulo S.*: Iron, oxidative stress and human health. *Mol. Aspects Med.*, 2005; 26(4-5): 299-312. – 23. *Higashi-Okai K., Nagino H., Yamada K., Okai Y.*: Antioxidant and prooxidant activities of B group vitamins in lipid peroxidation. *J. UOEH*, 2006; 28(4): 359-368. – 24. *Jung I.L., Kim J.G.*: Thiamine protects against paraquat-induced damage: scavenging activity of reactive oxygen species. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2003; 15(1): 19-26. – 25. *Jain S.K., Lim G.*: Pyridoxine and pyridoxamine inhibits superoxide radicals and prevents lipid peroxidation, protein glycosylation, and (Na⁺ + K⁺)-ATPase activity reduction in high glucose-treated human erythrocytes. *Free Radic. Biol. Med.*, 2001; 30(3): 232-237. – 26. *Chumnantana R., Yokochi N., Yagi T.*: Vitamin B6 compounds prevent the death of yeast cells due to menadione, a reactive oxygen generator. *Biochim. Biophys. Acta*, 2005; 1722(1): 84-91. – 27. *Gliszczyńska-Świgło A.*: Antioxidant activity of water soluble vitamins in the TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) and the FRAP (ferric reducing antioxidant power) assays. *Food Chem.*, 2006; 96(1): 131-136.

Adres: 71-459 Szczecin, ul. Papieża Pawła VI nr 3

Katarzyna Bielawska, Marta Malinowska¹⁾, Monika Cyuńczyk

WPLYW KUMARYN NA ORGANIZM CZŁOWIEKA

Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
Kierownik: prof. dr hab. *E. Skrzydlewska*

¹⁾Zakład Chemii Produktów Naturalnych, Instytutu Chemii
Uniwersytetu w Białymstoku
Kierownik: prof. dr hab. *J. W. Morzycki*

Słowa kluczowe: kumaryny naturalne, kumaryny syntetyczne, działanie przeciwnowotworowe i fotouczulające.

Key words: natural coumarins, synthetic coumarins, antitumor activity, photosensitizing effect.

Kumaryny stanowią dużą grupę naturalnych związków, powszechnie występujących w świecie roślin, określaną mianem metabolitów wtórnych. Głównym ich źródłem są owoce (głównie cytrusowe), warzywa (głównie pomidory, brokuły, papryka), rośliny strączkowe i selerowate, a także liczne rośliny lecznicze (cynamon, mięta pieprzowa, zielona herbata, lubczyk), rośliny storczykowate, motylkowate i jasnotowate oraz kawa i orzechy. Ponadto, wysoką zawartość kumaryn stwierdzono w olejkach eterycznych kasji, olejku z kory cynamonu oraz olejku lawendowym (1).

Działanie antynowotworowe kumaryn

W przypadku większości naturalnie występujących kumaryn stwierdzono, iż posiadają one szerokie spektrum aktywności biologicznej, a istotny wpływ na aktywność biologiczną kumaryn ma ich struktura chemiczna. Kumaryny wykazują silną aktywność antyoksydacyjną a także działają przeciwnowotworowo (1). Badania nad zależnością aktywności przeciwnowotworowej kumaryn od ich struktury chemicznej wykazały, że cytotoksyczność (w stosunku do m.in. komórek drobnokomórkowego raka płuc GLC-4, komórek raka jelita grubego CoLo 320) determinowana jest występowaniem grupy katecholowej w strukturze kumaryn. Stwierdzono, iż kumaryna i jej hydroksylowa pochodna – umbelliferon (tab. I), hamują proliferację wielu linii komórek nowotworowych człowieka, w tym nowotworu nerki (786-O i A-498) i złośliwego raka prostaty (DU145 i LNCaP). 6,7-dihydroksykumaryna działa specyficznym cytotoksycznie w stosunku do komórek nowotworu jamy ustnej (HSC-2, HSC-3), czerniaka (A373) i białaczki promielocytowej (HL-60) (2), a ostol poprzez m.in. hamowanie aktywacji metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej hamuje migrację i inwazję komórek nowotworu sutka MCF-7 oraz MDA-MB 231 (3). Pochodne kumaryny tj.: 4-hydroksykumaryna, 7-hydroksykumaryna, jak również

Tabela I. Zwyczajowe i systematyczne nazwy pochodnych kumaryny

Table I. Common and systematic names of coumarin's derivatives

Nazwa zwyczajowa	Nazwa systematyczna
ammoresinol	2,7-dihydroksy-3-[(2E,6E)-3,7,11-trimetylododeka-2,6,10-trienylo]chromen-4-on
aurapten	7-geranyloksykumaryna
dafnetyna	7,8-dihydroksykumaryna
dentatyna	5-metoksy-8,8-dimetylo-10-(2-metylobut-3-en-2-ylo)-2H,8H-pirano[3,2-g]chromen-2-on
dikumarol	3,3'-metylobis(4-hydroksykumaryna)
eskuletyna	6,7-dihydroksykumaryna
eskulina	6-glukozyd 6,7-hydroksykumaryny
fraksyna	8-O-D-glukozyd 7,8-dihydroksy-6-metoksykumaryny
kumachlor	4-hydroksy-3-[1-(4-chlorofenylo)-3-okso-butylo]kumaryna
mendiaxon	7-hydroksy-4-metylokumaryna
niffcoumar	4-hydroksy-3-[1-(4-nitrofenylo)-3-oksobutylo]kumaryna
nor-dentatyna	5-hydroksy-8,8-dimetylo-10-(2-metylobut-3-en-2-ylo)-2H,8H-pirano[3,2-g]chromen-2-on
ostol	7-metoksy-8-izopentenokumaryna
ostrutyna	6-(3,7-dimetylo-2,6-oktadienylo)-7-hydroksykumaryna
skopoletyna	7-hydroksy-6-metoksykumaryna
umbelliferon	7-hydroksykumaryna
warfaryna	4-hydroksy-3-(3-okso-1-fenylobutylo)kumaryna

kwasy *o*-, *m*- i *p*-kumarowy, użyte w stężeniach powyżej 100 µg/mL, wywołują silny efekt cytotoksyczny w stosunku do komórek białaczki mysiej (P-815 i P-388). Cytotoksyczne działanie w stosunku do komórek nowotworowych wykazuje również *o*-dihydroksykumaryna – eskuletyna, która nasila apoptozę komórek nowotworowych jamy ustnej człowieka (SAS) i chroni pierwotne hodowle neuronów przed toksycznym działaniem m.in. *N*-metylo-*D*-asparagianu (4). Podobną cytotoksyczność wykazuje półsyntetyczny analog *o*-dihydroksykumaryn – 5-formylo-6-hydroksykumaryna. Ponadto, cytotoksyczność ta może być wzmocniona przez dodatkowe podstawienie wodoru grupą hydroksylową lub metoksyową, w pozycjach 3 i 4 szkieletu benzopirany. Najwyższą cytotoksyczność wywołaną fragmentacją DNA w stosunku do komórek ludzkiej białaczki promielocytowej linii HL60, zaobserwowano po zastosowaniu pochodnych 6,12-dihydro-1-benzopirano[3,4-*b*][1,4] benzotiazyn (5). Natomiast analiza QSAR fosfonowych pochodnych kumaryny wykazała, że ich cytotoksyczność zwiększa się wraz ze wzrostem charakteru hydrofobowego podstawników przy 2, 3 i 4 węgla szkieletu benzopirany (6). Udowodniono także cytotoksyczne działanie piranokumaryn (grandiwityny, agasyliny i benzoesanu aegelinolu) wyizolowanych z korzeni roślin z rodziny selerowatych *Ferulago campestris* (*Apiaceae*) wobec komórek nowotworu płuc (linia A549). Natomiast 4-fenylofuranokumaryny, wyizo-

lowane z kory pnia oraz owoców drzewa *Calophyllum dispar* (*Clusiaceae*) z rodziny kluzjowatych, wykazują cytotoksyczność wobec komórek raka szyjki macicy (linia KB) (7). Działanie przeciwnowotworowe w stosunku do komórek mysiej białaczki (L1210, P388) i czerniaka (B16) wykazuje również chartreusin (aromatyczny poliketido-glikozyd), wyizolowany z bakterii *Streptomyces chartreusis* (1).

Odnotowano również istotną chemoprewencyjną rolę kumaryn w przypadku chemicznie indukowanej kancerogenezy. Wykazano, iż zarówno kumaryna, jak i umbelliferon wykazują działanie przeciwnowotworowe przeciwko nowotworowi piersi samicy szczura indukowanemu 7,12-dimetylobenzoantracenenem (DMBA), a badania kliniczne potwierdziły ich działanie przeciwnowotworowe w leczeniu raka prostaty, czerniaka złośliwego i raka nerki u ludzi (8). Kumaryna, użyta w stężeniach 10 i 40 mg/kg, wykazuje jedynie umiarkowane działanie przeciwnowotworowe w stosunku do allogenicznego mięśniaka Sarcoma-180 (6). Stwierdzono także, iż dieta bogata w kumaryny będące silnym inhibitorem reduktazy aldehydowej aflatoksyny B1, S-transferazy glutationowej A5 i P1 oraz oksydoreduktazy NAD(P)H-chinonowej w znaczący sposób chroni przed rozwojem nowotworu wątroby indukowanego przez aflatoksynę B1 (9). Ponadto zaobserwowano, że zastosowanie diety wzbogaconej w aurapten, występujący w owocach drzewa cytrusowego *Citrus natsudaoidai* Hayata, powoduje znaczny wzrost aktywności enzymów II fazy detoksykacji tj. reduktaza chinonowa i S-transferaza glutationowa w wątrobie i okrężnicy szczurów, a w nabłonku śluzówki okrężnicy zaobserwowano również znaczne zahamowanie ekspresji markerów proliferacji komórkowej tj. aktywność dekarboksylazy ornitynowej i biosynteza poliamin (10). Podawanie auraptenu przyczyniło się również do istotnej poprawy funkcji makrofagów oraz limfocytów u myszy, co sugeruje, że aurapten poprzez wzmocnienie układu odpornościowego może wpływać zapobiegawczo na rozwój nowotworów (10).

Ponieważ pochodne kumaryn wykazują specyficzną cytotoksyczność zależną od ich struktury, prowadzone są próby uzyskania celowanej struktury kumarynopodobnej o selektywnym działaniu zapobiegającym powstawaniu i rozwojowi nowotworów. Stwierdzono, że syntetyczne, heterocykliczne pochodne kumaryny, zawierające w swojej strukturze ugrupowanie 1,2,4-triazolowe, 4,5-dicyjanoimidazolowe lub purynowe działają wyjątkowo cytotoksycznie (11), przy czym pochodna 1,2,4-triazolo-3-karboksyamidowa jest wysoce selektywna wobec ludzkich komórek nabłonkowych raka szyjki macicy (HeLa), natomiast związek zawierający ugrupowanie 2-amino-6-chloropurynowe oddziałuje cytostatycznie na komórki raka wątroby (HepG2) i okrężnicy (SW620), powodując mutacje w genie p53, prawdopodobnie na skutek upośledzenia syntezy DNA (11). 1,2,4-triazolokumaryny poza działaniem antynowotworowym, wykazują również aktywność przeciwko wirusowi HIV. Natomiast chloropurynowe pochodne kumaryn wykazują wyjątkowo silne działanie cytotoksyczne wobec komórek raka jelita grubego (Col2). Aktywność przeciwnowotworową wykazują również metaloorganiczne kompleksy kumaryn tj.: umbelliferon, mendiaxon, warfaryna, kumachlor i nifcoumar z lantanowcami w stosunku do linii komórkowych białaczki tj. P3HR1, K-562 i THP-1 (12).

Znaczącą cytotoksyczność wobec komórek nowotworowych melanocytów (SK-MEL-31) wykazują syntetyczne pochodne nitrowe 7-hydroskikumaryny tj. 7-hydroksy-6-nitrokumaryna oraz 7-hydroksy-3,6,8-trinitrokumaryna. Stwierdzono również

selektywną cytotoksyczność 6-nitro-7-hydroksykumaryny, podobnie jak dafnetyny, w stosunku do komórek raka nerki oraz komórek kanalików proksymalnych człowieka, przy czym cytotoksyczność indukowana przez 6-nitro-7-hydroksykumarynę, w odróżnieniu od drugiej pochodnej była nieodwracalna (13). Pochodne te hamują syntezę DNA, ale nie wpływają na interkalację DNA i nie wykazują właściwości mutagennych. Uzyskane wyniki sugerują, iż związki te mogłyby odgrywać rolę terapeutyczną w leczeniu raka nerki. Cytostatyczny i cytotoksyczny efekt zaobserwowano również w przypadku 7-hydroksy-8-nitrokumaryny, która poprzez zmianę cyklu komórkowego oraz hamowanie syntezy DNA prowadzi do apoptozy komórek ludzkiej białaczki (linia K562 i HL-60) (14).

Niezależnie od wykazanego działania cytotoksycznego w stosunku do komórek nowotworowych, jak i hamującego rozwój nowotworów, kumaryny wpływają również na powstawanie przerzutów nowotworowych oraz angiogenezę. Wykazano, że warfaryna, stosowana jako lek przeciwzakrzepowy, hamuje powstawanie przerzutów w przypadku raka sutka (MtlN3) u szczura, bez wpływu na rozwój nowotworu pierwotnego. Dikumarol oraz komadyna (sól sodowa warfaryny), kolejne leki z grupy leków przeciwzakrzepowych, również mają wpływ na zahamowanie powstawania przerzutów nowotworowych (15). W celu poprawienia efektywności oraz obniżenia toksyczności kumaryn badano różne kombinacje antymitotycznych kumaryn z innymi chemioterapeutykami. Wykazano, że połączenie dikumarolu z Taxolem potęguje hamowanie angiogenezy nowotworowej w wyniku synergizmu wynikającego z różnych mechanizmów działania leków (16). Dlatego też uważa się, że rozwój farmakoterapii skojarzonej z wykorzystaniem kumaryn stanowi racjonalne podejście do nowoczesnej chemioterapii.

Syntetyczne, tetrahydrobenzo- i benzopsoraleno- pochodne kumaryn, posiadające w pozycji 5 lub 8 szkieletu furanokumarynowego ugrupowanie metoksyłowe, hydroksyłowe lub dimetylamino- i propoksyłowe wykazują natomiast działanie fotoantyproliferacyjne. Ich aktywność biologiczna wynika z ich kowalencyjnej fotoaddycji do zasad azotowych A-T w DNA. Aktywując furanokumaryny, zawierające szkielet pirolowy i imidazolowy, za pomocą promieniowania UV stwierdzono wzrost ich potencjału fototoksycznego wobec komórek przewlekłej białaczki szpikowej (linii K562) (17). Wykazano, iż fototoksyczność analogów psoraleno-pirolowych jest ponad 300-krotnie wyższa niż fototoksyczność 8-metoksypsoralenu, 250-krotnie wyższa niż odpowiednich koniugatów kumaryny i 15-krotnie silniejsza niż toksyczność analogów imidazolowych. Związki te tworzą nieodwracalne połączenia z DNA pod wpływem promieniowania o dł. fali 366 nm (17). Ponieważ koniugaty psoralenu są bardziej fototoksyczne niż ich analogi kumarynowe, dlatego też tworzenie międzylańcuchowych wiązań sieciujących DNA może stanowić ważny mechanizm ich biologicznej aktywności w komórkach.

W odróżnieniu od cytotoksycznego działania kumaryny i jej pochodnych (tj.: 7-hydroksykumaryna, 4-hydroksykumaryna, kwas *o*-hydroksyfenylooctowy i kwas *o*-kumarowy) w stosunku do komórek nowotworowych, związki te wykazują efekt cytotoksyczny dopiero w stężeniu 10^{-4} mol/dm³ w stosunku do prawidłowych hepatocytów szczura, a hepatocyty człowieka są odporne nawet na takie stężenie tych związków (6). Wynika to z odmiennego metabolizmu kumaryn u różnych gatunków zwierząt (18). Cytotoksycznego wpływu nie stwierdzono również w przypadku

innych hydroksylowych i metoksylowych pochodnych kumaryny w stosunku do komórek prawidłowych człowieka (fibroblastów skóry linii HGF, fibroblastów przyzębia linii HPLF i fibroblastów mięśni linii HPC) (2). Wykazano również, że kumaryna, 4-hydroksykumaryna, 7-hydroksykumaryna, jak również kwasy o-, m- i p-kumarowy użyte w niższych stężeniach (10 µg/mL i niższych) nie wykazywały aktywności mitogennej w stosunku do limfocytów śledziony myszy oraz limfocytów krwi obwodowej poddanych działaniu PHA (fitohemaglutynina) (6). Jedynie 7-hydroksykumaryna użyta w stężeniach 2 i 20 µg/mL wywołała znaczne nasilenie fagocytozy w granulocytach krwi obwodowej człowieka i makrofagach otrzewnowych myszy, odpowiednio o 124 i 84%. Stwierdzono natomiast, że fraksyna chroni komórki śródbłonka ludzkiej żyły pępowinowej (HUVEC) przed cytotoksycznym wpływem nadtlenu wodoru, a heterocykliczne pochodne kumaryny o działaniu cytotoksycznym wobec komórek nowotworowych nie są cytotoksyczne w stosunku do prawidłowych fibroblastów człowieka (11). Natomiast w przypadku metylowych pochodnych kumaryny, tj. 3-metylokumaryna, 4-metylokumaryna i 3,4-dimetylokumaryna, stwierdzono ich toksyczny wpływ jedynie na hepatocyty szczura (19).

Inne aspekty działania biologicznego kumaryn

Oprócz działania przeciwnowotworowego, kumaryny wykazują również inne działania biologiczne. Wykazano, że piranokumaryny tj. dentatyna i nor-dentatyna, wyizolowane z *Clausena excavata*, wpływają na zahamowanie działania wirusa HIV-1. Natomiast fenylokumaryny wyizolowane z drzewa *Calophyllum inophyllum* L. (*Guttiferae*), okazały się silnym inhibitorem wczesnego antygeny wirusa Epstein-Barr (EBV-EA) (1). Stwierdzono również, iż pochodne kumaryn tj.: inophyllum B i inophyllum P, wyizolowane z wydzieliny ślimaka z gatunku *Achatina fulica*, hamują aktywność odwrotnej transkryptazy HIV (RT) o wartość IC₅₀ równą odpowiednio 38 i 130 nM, i wykazują aktywność anti-HIV-1 w hodowlach komórkowych (odpowiednio o IC₅₀ 1,4 i 1,6 µM) (20). Kalanolid A (dipiranokumaryna) i B (piranokumaryna) wyizolowane z liści drzewa *Calophyllum lanigerum* (*Clusiaceae*, kluzjowate) stanowią całkowitą ochronę przeciwko replikacji HIV-1. Kumaryny te stanowią nienukleozydowe inhibitory odwrotnej transkryptazy HIV. Piranokumaryny tj.: pseudocordalide C i calanolide F, obecne w ekstrakcie z *Calophyllum lanigerum* i *Calophyllum teysmannii* także wykazują znaczną aktywność anti-HIV. W ostatnim czasie zbadano również, że istotną aktywność anti-HIV wykazują piranokumaryny tj. khellacton i jego analogi (1).

Istotną aktywność przeciwbakteryjną stwierdzono natomiast w przypadku długołańcuchowych alkilowych pochodnych kumaryny tj.: ammosesinol i ostrutyna. Działają one przeciwbakteryjnie w stosunku do bakterii Gram-dodatnich tj.: *Bacillus megaterium*, *Micrococcus luteus*, *Micrococcus lysodeikticus* i *Staphylococcus aureus*. Imperatoryna, fumarokumaryna wyizolowana z *Angelica dahurica* i *Angelica archangelica* (*Umbelliferae*, selerowate) wykazuje natomiast aktywność przeciwbakteryjną wobec *Shigella dysenteriae* (1). W korzeniach roślin z rodziny selerowatych *Ferulago campestris* zidentyfikowano kilka piranokumaryn (grandwityna, agasylina i benzoesan aegelinolu) oraz stwierdzono ich znaczny potencjał antyoksydacyjny, jak również właściwości przeciwbakteryjne w stosunku do bakterii Gram-dodatnich

i Gram-ujemnych tj.: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes* oraz *Helicobacter pylori* (13). Natomiast novobiocyna, wtórny metabolit grzybów *Streptomyces niveus* i *Streptomyces spheroides* wykazuje również szerokie spektrum działania wobec zarówno bakterii Gram-dodatnich (tj.: *Corinebacterium diphtheria*, *Staphylococcus aureus*, *Streptomyces pneumonia* i *Streptomyces pyogenes*), jak i Gram-ujemnych (tj.: *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitides* i *Pasteurella*), działa on również hamująco na gyrazę DNA (21).

Kumaryna wykazuje również właściwości przeciwzapalne i dlatego znalazła ona zastosowanie m.in. w leczeniu obrzęków. Mechanizm jej działania polega na wspomaganiu usuwania białka i płynu z uszkodzonej tkanki poprzez stymulację fagocytozy, wytwarzanie enzymów proteolitycznych. Kolejnym związkiem działającym przeciwzapalnie jest imperatoryna z grupy furanokumaryn. Kumaryna ta blokuje ekspresję genów syntazy tlenku azotu (iNOS) i cyklooksygenazy-2 (COX-2). Aktywność przeciwzapalna eskuletyny, w zapaleniu jelita grubego u szczura, związana jest natomiast z zahamowaniem cyklooksygenaz i lipooksygenaz, jak i zahamowaniem generowania, zależnego od neutrofilii, anionorodnika ponadtlenkowego (22).

Wykazano, że bogaty w kumaryny tj.: ostol, imperatoryna, bergapten, izopimpinellina i ksantotoksyna, ekstrakt z nasion *Cnidium monnieri*, rośliny z rodziny baldaszkowatych, popularnej w chińskiej medycynie ludowej, oprócz działania przeciwhistaminowego, przeciwgrzybicznego i przeciwbakteryjnego, posiada właściwości tonizujące i pobudzające układ nerwowy. Stosowany jest także, jako afrodyzjak. Natomiast angeliczyna, furanokumaryna pochodzenia naturalnego i jej syntetyczne pochodne, posiadają właściwości przeciwgrzybicze wobec m.in.: *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae* i *Aspergillus Niger*, ale również wykazują działanie ochronne wobec wątroby podczas stanu zapalnego indukowanego przez galaktozaminę-D (D-GalN) i lipopolisacharyd (LPS) (23).

Kumaryny są antagonistami witaminy K. Ich działanie przeciwkrzepliwie polega na upośledzeniu cyklu przemian witaminy K i jej 2,3-epoksydu. Witamina K jest kofaktorem w potranslacyjnej karboksylacji reszt kwasu glutaminowego do γ -karboksylglutaminowego w N-końcowych obszarach białek zależnych od witaminy K. γ -karboksylacja warunkuje aktywność biologiczną tych białek (czynniki krzepnięcia: II, VII, IX i X). Efekt antykoagulacyjny kumaryn polega na hamowaniu cyklu przemian witaminy K, czego wynikiem jest wytwarzanie w wątrobie częściowo karboksylowanych i dekarboksylowanych białek o zmniejszonej aktywności prokoagulacyjnej. Pod wpływem kumaryn zaburzeniu ulega również karboksylacja białek regulatorowych (białka C i białka S), mających działanie antykoagulacyjne, i dlatego mogą one też wywierać efekt prokoagulacyjny (24).

W ostatnich latach wiele naturalnych, jak i syntetycznych kumaryn oceniano pod kątem ich wpływu na centralny układ nerwowy. Stwierdzono, że kumaryny mogą wykazywać działanie antydepresyjne. Ponadto, niektóre kumaryny np. skopoletyna lub metoksalen są inhibitorami acetylocholinoesterazy (AChE), gdyż poprzez hamowanie metabolizmu ACh zwiększają jej poziom, dzięki czemu mogą znaleźć zastosowanie jako potencjalne środki łagodzące objawy choroby Alzheimera (25), chociaż niektórzy sugerują, iż wybrane furanokumaryny są inhibitorami raczej butyrylocholinoesterazy (BuChE). Ich funkcja i działanie w leczeniu choroby Alzheimera wymaga zatem dalszych badań (25).

Eskuletyna wyizolowana z mniszka lekarskiego *Taraxacum officinale* i rośliny ozdobnej *Alchemilla speciosa* znalazła zastosowanie w ziołolecznictwie, jak również jako środek przeciwbólowy i przeciwzapalny (26). Stwierdzono, iż ostol, występujący w owocach roślin z rodziny selerowatych (*Cnidium monnieri* L.), wykazuje szerokie spektrum działania przeciwgrzybiczego, przeciwko m.in.: *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora capsici*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* i *Fusarium graminearum*. Poza właściwościami przeciwgrzybiczymi, kumaryna ta działa również przeciwzapalnie, przeciwnowotworowo, zapobiega osteoporozie, przeciwdziała apoptozie, jak również charakteryzuje się wysokim potencjałem antyoksydacyjnym. Znaczną aktywność przeciwgrzybiczną wykazują także inne kumaryny, tj.: psoralen, imperatoryna i ostrutyna (27).

Charakterystyczną cechą kumaryny jest zdolność do fluorescencji (z wyjątkiem niepodstawionej kumaryny), np. 7-hydroksykumaryny pod wpływem promieniowania UV wykazują zdolność do fluorescencji w zakresie światła niebieskiego, fioletowego lub żółto-zielonego. Wykazano, że ekstrakt z *Fraxinus chinensis*, którego główne składniki to eskulina i eskuletyna, chronią ludzkie fibroblasty przed działaniem promieniowania UV. Z tego powodu przypuszcza się, iż ekstrakt z *Fraxinus chinensis* znajduje zastosowanie w produkcji kosmetyków chroniących skórę np. podczas opalania. Ponadto ekstrakty z roślin zawierających psoraleny były wykorzystywane w Egipcie oraz Indiach już ok. 2000 r. p.n.e. w celu zapobiegania hiperproliferacyjnym chorobom skóry (28). Psolareny tworzą fotoaddukty z DNA, skąd wynika ich działanie fotouczulające. W wyniku oddziaływania z DNA kumaryny dodatkowo hamują replikację DNA i zmniejszają szybkość podziału komórkowego. Mogą one oddziaływać również z innymi składnikami komórek tj. fosfolipidy, RNA i białka. W związku z powyższym, psolareny znalazły zastosowanie w leczeniu m. in. bielactwa, łuszczycy, chłoniaków, chorób autoimmunologicznych oraz atopowego zapalenia skóry (29).

Dihydromammea C/OB – kumaryna wyizolowana z nasion drzewa rosnącego w Afryce Zachodniej tj.: *Mammea africana* Sabine (*Guttiferae*) wykazuje działanie hipotensyjne. Spadek ciśnienia tętniczego krwi zaobserwowano także po zastosowaniu skopoletyny, w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*. Wisnadyna (piranokumaryna), aktywny składnik owoców *Ammi visnaga* (aminek egipski), rozszerza naczynia krwionośne obwodowe i wieńcowe, stosowana jest także w leczeniu duszniczy bolesnej. Właściwości rozszerzające naczynia krwionośne wykazuje także khellacton (piranokumaryna), wyizolowany z *Phlojodicarpus sibiricus* (30).

W przypadku skopoletyny, umbeliferonu, phellodenolu A, (+)-(S)-marmezyny oraz ksantyletyny stwierdzono ich aktywność wobec *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv i dzięki temu działanie przeciwgruźlicze (1). Natomiast imperatoryna i ostol wykazują działanie przeciwdrgawkowe. Sugeruje się, że ostol może być potencjalnym środkiem terapeutycznym w leczeniu stwardnienia rozsianego. Eskuletyna wspomaga redukowanie tkanki tłuszczowej wykazując silną aktywność wobec mysich preadypocytów 3T3-L1 oraz charakteryzuje się aktywnością neuroprotekcijną. Kumaryny wykazują również działanie przeciwcukrzycowe, np. fraksydyna hamuje powstawanie indukowanej syntazy tlenu azotu (iNOS) i charakteryzuje się aktywnością przeciwhiperglykemiczną. Działanie przeciwcukrzycowe stwierdzono także w przypadku halogenopochodnej kumaryny – klorikromenu. Natomiast

izokumaryny, tj.: bergenina i norbergenina oraz piranokumaryna – luwangetyna, wykazują znaczną ochronę przed ligacją odźwiernika oraz indukowanymi przez aspirynę wrzodami żołądka u szczurów (1).

Kumaryny stanowią zatem dużą grupę związków aktywnych biologicznie, powszechnie stosowanych w medycynie naturalnej. Wykazują działanie terapeutyczne, w tym przeciwutleniające, antyproliferacyjne, przeciwnowotworowe, przeciwzapalne, przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe (w tym anty-HIV), przeciwgruźlicze, przeciwzkrzepowe, hipotensyjne, rozkurczowe i przeciwcukrzycowe zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro*. Ponadto stosowane są jako środki uspokajające, hipnotyczne, przeciwdrgawkowe, przeciwbólne czy przeciwwrzodowe.

K. Bielawska, M. Malinowska, M. Cyuńczyk

SYSTEMIC EFFECTS OF COUMARINS IN HUMANS

PIŚMIENNICTWO

1. *Venugopala K.N., Rashmi V., Odhav B.*: Review on Natural Coumarin Lead Compounds for Their Pharmacological Activity. *BioMed Res Int*, 2013; Vol 2013 Article ID 963248, 14 pages. – 2. *Kawase M., Sakagami H., Hashimoto K., Tani S., Hauer H., Chatterjee S.S.*: Structure-cytotoxic activity relationships of simple hydroxylated coumarins. *Anticancer Res*, 2003; 23: 3243-6. – 3. *Yang D., Gu T., Wang T., Tang Q., Ma C.*: Effects of osthole on migration and invasion in breast cancer cells, *Biosci Biotech Biochem C*, 2010; 74(7): 1430-1434. – 4. *Lee C.R., Shin E.J., Kim H.C., Choi Y.S., Shin T., Wie M.B.*: Esculetin inhibits N-methyl-D-aspartate neurotoxicity via glutathione preservation in primary cortical cultures. *Lab Anim Res*, 2011; 27(3): 259-263. – 5. *Shah A., Naliapara Y., Sureja D., Motohashi N., Kurihara T., Kawase M., Satoh K., Sakagami H., Molnar J.*: Biological activity of 6,12-dihydro-1-benzopyrano (3,4-b)(1,4) benzothiazin-6-ones. *Anticancer Res*, 1998; 18: 61-3. – 6. *Budzisz E., Brzezinska E., Krajewska U., Różalski M.*: Cytotoxic effects, alkylating properties and molecular modelling of coumarin derivatives and their phosphonic analogues. *Eur J Med Chem*, 2003; 38/6: 597-603. – 7. *Guilet D., Helesbeux J.J., Seraphin D., Sevenet T., Richomme P., Bruneton J.*: Novel cytotoxic 4-phenylfuranocoumarins from *Calophyllum dispar*. *J Nat Prod*, 2001; 64: 563-68. – 8. *Thornes R.D., Daly L., Lynch G., Breslin B., Browne H., Browne H.Y., Corrigan T., Daly P., Edwards G., Gaffney E.*: Treatment with coumarin to prevent or delay recurrence of malignant melanoma. *J Cancer Res Clin Oncol*, 1994; 120: S32-S34. – 9. *Kelly V.P., Ellis E.M., Manson M.M., Chanas S.A., Moffat G.J., McLeod R., Judah D.J., Neal G.E., Hayes J.D.*: Chemoprevention of aflatoxin B1 hepatocarcinogenesis by coumarin, a natural benzopyrone that is a potent inducer of aflatoxin B1-aldehyde reductase, the glutathione S-transferase A5 and P1 subunits, and NAD(P)H:quinone oxidoreductase in rat liver. *Cancer Research*, 2000; 60: 957-69. – 10. *Tanaka T., Sugiura H., Inaba R., Nishikawa A., Murakami A., Koshimizu K., Ohigashi H.*: Immunomodulatory action of citrus auraptene on macrophage functions and cytokine production of lymphocytes in female BALB/c mice. *Carcinogenesis*, 1999; 20: 1471-1476.

11. *Benci K., Mandić L., Suhina T., Sedić M., Klobučar M., Kraljević Pavelić S., Pavelić K., Wittine K., Mintas M.*: Novel Coumarin Derivatives Containing 1,2,4-Triazole, 4,5-Dicyanoimidazole and Purine Moieties: Synthesis and Evaluation of Their Cytostatic Activity. *Molecules*, 2012; 17: 11010-11025. – 12. *Manolov I., Kostova I., Netzeva T., Konstantinov S., Karaivanova M.*: Cytotoxic activity of cerium complexes with coumarin derivatives. Molecular modeling of the ligands. *Arch Pharm (Weinheim)*. 2000; 333(4): 93-8. – 13. *Finn G.J., Kenealy E., Creaven B.S., Egan D.A.*: In vitro cytotoxic potential and mechanism of action of selected coumarins, using human renal cell lines. *Cancer Lett*, 2002; 183: 61-8. – 14. *Egan D., James P., Cooke D., O'Kennedy R.*: Studies on the cytostatic and cytotoxic effects and mode of action of 8-nitro-7-hydroxycoumarin. *Cancer Lett*, 1997; 118: 201-11. – 15. *Smith G.F., Neubauer B.L., Sundboom J.L., Best K.L., Goode R.L., Tanzer L.R., Merriman R.L., Frank J.D., Herrmann R.G.*: Correlation of the *in vivo* anticoagulant, antithrombotic, and antimetastatic efficacy of warfarin in the

- rat. *Thromb Res* 1988; 50(1): 163-74. – 16. *Madari H., Panda D., Wilson L., Jacobs R.S.*: Dicoumarol: a unique microtubule stabilizing natural product that is synergistic with Taxol. *Cancer Res*, 2003; 63(6): 1214-20. – 17. *Lee M., Roldan M.C., Haskell M.K., McAdam S.R., Hartley J.A.*: In vitro photoinduced cytotoxicity and DNA binding properties of psoralen and coumarin conjugates of netropsin analogues: DNA sequence-directed alkylation and cross-link formation. *J Med Chem*, 1994; 37(8): 1208-13. – 18. *Malinowska M., Bielawska K.*: Metabolizm i właściwości antyoksydacyjne kumaryn. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2013; 46(3): 393-403. – 19. *Fernyhough L., Kell S.W., Hammond A.H., Thomas N.W., Fry J.R.*: Comparison of in vivo and in vitro rat hepatic toxicity of coumarin and methyl analogues, and application of quantitative morphometry to toxicity in vivo. *Toxicology*, 1994; 88: 113-125. – 20. *Patil A.D., Freyer A.J., Eggleston D.S., Haltiwanger, R.C.; Bean M.F., Taylor P.B., Caranfa M.J., Breen A.L., Bartus H.R., Johnson R.K., Hertzberg R.P., Westley J.W.*: The inophyllums, novel inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase isolated from the Malaysian tree, *Calophyllum inophyllum* Linn. *J Med Chem*, 1993; 36(26): 4131-4138.
21. *Gellert M., O'Dea M.H., Itoh T., Tomizawa J.I.*: Novobiocin and coumermycin inhibit DNA supercoiling catalyzed by DNA gyrase. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1976; 73(12): 4474-4478. – 22. *Fylaktakidou K.C., Hadjipavlou-Litina D.J., Litinas K.E., Nicolaides D.N.*: Natural and synthetic coumarin derivatives with anti-inflammatory/antioxidant activities. *Curr Pharm Des*, 2004; 10(30): 3813-3833. – 23. *Matsuda H., Murakami T., Kageura T., Ninomiya K., Toguchida I., Nishida N., Yoshikawa M.*: Hepatoprotective and nitric oxide production inhibitory activities of coumarin and polyacetylene constituents from the roots of *Angelica furcujuga*. *Bioorg Med Chem Lett*, 1998; 8: 2191-6. – 24. *Malhotra O.P., Nesheim M.E., Mann K.G.*: The kinetics of activation of normal and γ -carboxyglutamic acid-deficient prothrombins. *J Biol Chem*, 1985; 260(1): 279-287. – 25. *Changwong N., Sabphon C., Ingkaninan K., Sawasdee P.*: Acetyl- and Butyryl-cholinesterase Inhibitory Activities of Mansorins and Mansonones. *Phytother Res*, 2012; 26(3): 392-396. – 26. *Kim S.H., Kang K.A., Zhang R., Piao M.J., Ko D.O., Wang Z.H., Chae S.W., Kang S.S., Lee K.H., Kang H.K., Kang H.W., Hyun J.W.*: Protective effect of esuletin against oxidative stress-induced cell damage via scavenging reactive oxygen species. *Acta Pharmacol Sin*, 2008; 29(11): 1319-26. – 27. *Liu M., Ma X., Jiang Y., Mao X., Hu X.*: Attenuation of experimental autoimmune encephalomyelitis in C57 BL/6 mice by osthole, a natural coumarin. *Eur J Pharmacol*, 2010; 629(1-3): 40-46. – 28. *Dalla Via L., Uriarte E., Santana L., Magno S.M., Gia O.*: Methyl derivatives of tetracyclic psoralen analogues: antiproliferative activity and interaction with DNA. *ARKIVOC*, 2004; 2004(5): 131-146. – 29. *Zarebska Z., Waszkowska E., Caffieri S., Dall'Acqua F.*: PUVA (psoralen + UVA) photochemotherapy: processes triggered in the cells. *Farmaco*, 2000; 55(8): 515-520. – 30. *Iranshahi M., Askari M., Sahebkar A., Hadjipavlou-Litina D.*: Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and lipoxigenase inhibitory activities of the prenylated coumarin umbelliprenin. *DARU*, 2009; 17(2): 99-103.

Adres: 15-222 Białystok, ul. Mickiewicza 2D

Iwona Cieślik, Ewa Cieślik¹⁾

ZAWARTOŚĆ DIOKSYN, FURANÓW I POLICHLOROWANYCH BIFENYLI W PASZACH I ŻYWNOSCI

Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych,
Uniwersytetu Rolniczego im. H. Kołłątaja w Krakowie
Kierownik: dr hab. inż. *J. Domagała*, prof. UR

¹⁾ Katedra Technologii Gastronomicznej i Konsumpcji, Małopolskie Centrum
Monitoringu Żywności, Uniwersytetu Rolniczego im. H. Kołłątaja w Krakowie
Kierownik: prof. dr hab. inż. *E. Cieślik*

Hasła kluczowe: dioksyny, furany, polichlorowane bifenyly, pasze, żywność.
Key words: dioxins, furans, PCB, fodder, food.

Większość informacji dotyczących wpływu ksenobiotyków (zanieczyszczeń) na zdrowie człowieka pochodzi z badań toksykologicznych z udziałem zwierząt laboratoryjnych, które w doświadczeniach są ekspozowane na działanie pojedynczego związku chemicznego. Organizm człowieka natomiast jest narażony na ekspozycję nie tylko jednego czynnika, ale wielu występujących w żywności, wodzie, powietrzu czy lekach. Woda pitna zawiera raczej małe ilości związków organicznych (pestycydy), rozpuszczalników (polichlorowanych bifenyli – PCB, polichlorowanych dibenzo-*p*-dioksyn – PCDD i polichlorowanych dibenzo-furanów – PCDF i innych) i związków nieorganicznych (metale ciężkie) (1). Tymczasem głównym źródłem narażenia człowieka na toksyczne substancje jest żywność. W związku ze zdolnością tych związków zwanych ogólnie dioksynami (PCDD/F, PCB) do kumulowania się w tkance tłuszczowej, najwyższe stężenia występują w produktach spożywczych pochodzenia zwierzęcego o wysokiej zawartości tłuszczu (2).

Stężenia PCDD/F, PCB wyrażane są zazwyczaj w tzw. równoważnikach toksyczności TEQ (ang. Toxic Equivalent) będących sumą iloczynów stężeń poszczególnych kongenerów i ich współczynników toksyczności TEF (ang. Toxicity Equivalency Factor).

Dioksyny w paszach

Obecność PCDD/F, PCB w żywności w znacznej mierze jest efektem skażenia pasz przeznaczonych dla zwierząt hodowlanych, ze względu na ich oporność na procesy metaboliczne oraz bioakumulację w tkankach zwierząt (2). W ramach wieloletniego programu monitoringowego przebadano 616 próbek pasz i składników paszowych. Generalnie poziomy PCDD/F były niskie, z wyjątkiem mączek rybnych, w których stwierdzono poważne przekroczenie dopuszczalnych limitów tych substancji. Wy-

niki badań wstępnych dotyczące dioksynopodobnych PCB w paszach zawierających mączkę rybną były podobne (3).

Schwind i współprac., (4) w przebadanych próbkach pasz roślinnych przeznaczonych dla trzody chlewnej i drobiu pochodzących z Niemiec wykazali, że średnia zawartości PCB mieściła się w zakresie 0,04–0,07 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Zaobserwowano pod tym względem zróżnicowanie pomiędzy paszami treściwymi i objętościowymi. Stwierdzony w mieszankach pasz treściwych poziom PCB znajdował się poniżej 0,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Najwyższy poziom PCB stwierdzony w próbkach pasz objętościowych wahał się w zakresie od 0,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ do 0,48 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Najwyższe stężenia markerów PCB wynoszące ok. 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ zostały stwierdzone w próbkach kisonki z kukurydzy.

Całkowite stężenia PCDD/F w paszy kurczaków (11 i 3,3 pg/g ś.m.) były podobne do tych stwierdzonych w paszy dla świń (18 i 3,2 pg/g ś.m.). Koncentracja PCDF w tłuszczu kurczaka (9,0 pg/g tł.) była kilkakrotnie wyższa niż w tłuszczu wieprzowym (1,4 pg/g tł.), podczas gdy koncentracja PCDD była podobna do wyników z przed 10 lat (5).

Średnia zawartość wskaźnika WHO-PCB-TEQ we wszystkich analizowanych próbkach paszy wynosiła 0,017 ng/kg . Wskaźnik TEQ dotyczący zanieczyszczeń PCDD/F w mieszankach paszowych i paszach objętościowych wynosił 0,03 ng/kg . Najwyższy obserwowany poziom WHO-PCDD/F-TEQ w paszach objętościowych był dwa razy wyższy w porównaniu do mieszanek paszowych (4).

Podobne wartości (0,25–0,61 pg TEQ/g ś. m.) tego wskaźnika stwierdzono w próbkach pasz pochodzących z sześciu obszarów Toskanii narażonych na działanie spalarni odpadów. Wszystkie wykazane wartości znajdowały się poniżej maksymalnego poziomu (1,25 pg WHO TEQ/g ś.m.) dozwolonego na mocy ustawy europejskiej w odniesieniu do materiałów paszowych pochodzenia roślinnego (dyrektywa Komisji 2006/13/WE) i wykazały poziomy zanieczyszczenia porównywalne do tych wykrytych w innych krajach na obszarach nie będących pod bezpośrednim wpływem emisji ze spalarni. Wkład PCDD/F, PCB w całość TEQ wynosił odpowiednio 0,070 do 0,40 i 0,090 do 0,30 pg WHO TE/g ś.m. Te poziomy były znacznie niższe od limitów ustalonych przez KE (tj. 0,75 pg WHO TE/g ś.m. PCDD i PCDF, Dyrektywa Komisji 2006/13/WE) i niższe niż poziom ustanowionych przez UE (0,5 i 0,35 pg WHO TE/g ś.m.; Dyrektywa Komisji 2006/13/WE) (6).

Badania wykazały, że całkowita zawartość PCB w paszy przeznaczonej dla nerek było zdeterminowane poziomem ryb w paszy. Poziom wskaźnika WHO-PCB-TEQ wynosił od 2,5 ng/kg w paszy z 0% udziałem ryb do 73 ng/kg w paszy z 30% udziałem ryb poławianych z rzeki Saginaw (Michigan, USA) (7).

Dioksyny w żywności

Badania żywności pod względem zawartości PCDD/F, PCB dotyczą najczęściej takich produktów jak: mleko i przetwory mleczne, mięso, jaja, ryby, owoce morza (6, 8–10). Zanieczyszczenie paszy z terenu Toskanii PCDD/F, PCB wpłynęło na zawartość tych substancji w surowym mleku z tego terenu. Wartości TEQ znajdowały się w zakresie 0,7–2,9 pg/g tłuszczu w próbkach mleka pochodzących z sześciu gospodarstw rolnych w obszarze będącym pod wpływem spalarni. Dla porównania zawartość wskaźnika WHO-TEQ w próbkach pochodzących z gospodarstw z obsza-

rów kontrolnych wynosiła 0,52–0,59 pg/g tłuszczu. Wkłady PCDD/PCDF i PCB do całkowitej wartości TEQ wynosiły odpowiednio 0,21–0,95 i 0,37–1,92 pg/g tłuszczu na obszarach w pobliżu spalarni i 0,14–0,25 i 0,27–0,45 pg WHO-TE/g tłuszczu w obszarach kontrolnych. Wszystkie wartości TEQ były niższe niż maksymalny poziom (3 pg WHO-TE/g tłuszczu PCDD/F i 6 pg WHO-TE/g tłuszczu dla całości TEQ; Rozporządzenie Komisji 1881/2006/EC) i aktywnych poziomów (2 pg WHO-TE/g tłuszczu dla PCDD/F i PCB; 2006/88/CE Zalecenie Komisji) ustalonego dla surowego mleka. Uzyskane wyniki były podobne do obserwowanych na obszarach ekspozycji w innych krajach (11, 12, 13). Średni poziom PCB wahał się w granicach 1,4–8,2 ng/g tłuszczu w próbkach pobranych w sześciu gospodarstwach w pobliżu spalarni. Wartości te są znacznie niższe niż wartości średniej (10,7 ng/g tłuszczu), obliczonego przez Europejską Agencję Bezpieczeństwa Żywności (2005) na podstawie rozkładu występowania w niektórych krajach europejskich (cyt. za 6).

Wyniki badania mleka krowiego w Kampanii (Włochy) wykazały poziomy PCDD/F, w tłuszczu mleka w zakresie 0,05–16,4 pg-TE/g tłuszczu ze średnią 1,67 i medianą 1,03 (n = 79). Poziomy PCB wynosiły 0,04–0,40 pg-TE/g tłuszczu, o średniej wartości 1,39 i medianie równej 1,08 (n = 79). Ponadto suma PCDD/F i PCB wahała się między 0,46–26,80 pg/g tłuszczu mleka, średnia wartość 3,06 i mediana 2,10. W 11 próbkach mleka, poziom PCDD/F przekroczył maksymalny dopuszczalny ustalony rozporządzeniem limit 1881/2006 WE (WHO-TEQ=3,0 pg/g tłuszczu), ale w rzeczywistości tylko siedem próbek mleka było niezgodnych z uwzględnieniem niepewności związanej z wynikiem końcowym. Całkowite stężenia PCDD/F wahały się między 3,36 i 16,4 pg/g tłuszczu. Pozostałe 58 próbek mleka znajdowało się poniżej ograniczenia prawnego, PCDD/F posiada wartości WHO-TEQ od 0,05–2,38 pg/g tłuszczu (mediana 0,91), podczas gdy wartość WHO-TEQ dl-PCB wynosiła od 0,04 do 2,62 pg/g tłuszczu (mediana 1,04). W większości badanych próbek głównym składnikiem TEQ były kongenery PCDF, a w szczególności niższe (tetra- i penta-) chlorowane PCDF, przy czym były one bardziej liczne niż pochodne wyższe (siedmio- lub ośmio-) chlorowane PCDF. W innych badaniach dotyczących 19 próbek mleka wykazano wyższą zawartość PCDD/F wynoszącą średnio 0,9 pg/g tłuszczu. Zaobserwowano przewagę związków PCDD nad ilością PCDF (8).

W badaniach przeprowadzonych przez *Santelli* i współpr., (14) stwierdzono, że znacznie bardziej zanieczyszczony tymi analitami był tłuszcz mleka koziego. Poziom PCDD/F wahał się w zakresie 0,5–4,5 pg/g tłuszczu, a łączna suma PCDD/F i PCB mieściła się w zakresie 0,9–5,1 pg/g tłuszczu. Natomiast żadna z 90 próbek sera mozzarella wytworzonego z mleka bawolego nie przekroczyła limitu wskaźnika TEQ wynoszącego 3 pg/g tłuszczu (Rozporządzenie CEN 2375/2001). Około 87% próbek sera posiadało wartości TEQ poniżej 1 pg/g tłuszczu, a w 11% próbkach sera poziom wskaźnika wahał się między 1 i 2 pg/g tłuszczu (cyt. za 14).

Stosunkowo wysokie stężenia obu grup analitów (PCDD/F i PCB) stwierdzono w mięśniach zwierząt żyjących na wolnym wybiegu, w ich produktach oraz dziczyźnie. Spośród mięśni zwierząt gospodarskich większości krajów Unii Europejskiej najniższe poziomy zarejestrowano w wieprzowinie. Jednakże od 2006 r. najwyższe dopuszczalne poziomy ostrzegawcze dla tej grupy zwierząt przestały obowiązywać. Wydaje się, że istnieje potencjalna możliwość przekroczenia obowiązujących najwyższych dopuszczalnych poziomów tych związków w dziczyźnie.

Badania dotyczące zawartości PCDD/F i PCB w tkankach cieląt wykazały wysokie ich poziomy, przy czym wartości TEQ wynosiły średnio 17,8 pg/g tłuszczu. Około dwa razy niższe wartości stwierdzono w próbkach krwi badanych cieląt (7,3 pg/g). Zaobserwowano, że wartości wskaźnika TEQ wszystkich związków były wyższe w tkance tłuszczowej cieląt niż w ich krwi (15).

W kolejnych badaniach dotyczących zawartości PCDD/F i PCB w jajach wykazano, że wartości WHO-TEQ kształtowały się poniżej 0,7 pg dla PCDD/F/g tłuszczu i 1 pg dla sumy PCDD/F i PCB/g tłuszczu. W próbkach o podwyższonej zawartości sumy PCDD/F i PCB (>1 pg WHO-TEQ/g tłuszczu) określono profil kongenerów 2,3,7,8-PCDD/F. Stwierdzono dominujący udział PCDD; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD przy niskim wkładzie PCB do sumarycznej toksyczności wskaźnika WHO-TEQ, co pozwala przypuszczać, że źródłem podwyższonego stężenia w niektórych z próbek mogła być obecność pentachlorofenolu. Wyższe poziomy PCDD/F i PCB stwierdzano w jajach kur utrzymywanych na wolnym wybiegu. Przekroczenia najwyższych dopuszczalnych stężeń stwierdzano najczęściej w Holandii (26% badanych stad, co daje 14% tzw. ekologicznej produkcji jaj w Holandii), ale również w Belgii, Irlandii, Niemczech oraz Szwajcarii. W mleku krowim stężenie zarówno PCDD/F i PCB stanowiło ok. 25–30% najwyższych dopuszczalnych stężeń (11, 12).

Stężenia PCDD/F i PCB w tkankach ryb morskich były znacznie wyższe niż w tkankach ryb hodowlanych i ryb słodkowodnych. Zawartość tych związków w rybach bałtyckich jest wyższa od zawartości w rybach pochodzących z innych rejonów (16). Szczególnie wysokie stężenia zawierały ryby tłuste (łosoś, szprot, śledź), przy czym związki dioksynopodobne PCB stanowiły 60% udział całkowitej toksyczności przebadanych próbek. Stwierdzono również, że kumulacja PCDD/F i PCB w tłuszczu ryb była znacznie wyższa niż w tłuszczu zwierząt lądowych. W tłuszczu ryb morskich wykazano znacznie wyższe (kilka–kilkadziesiąt pg WHO-TEQ/g) stężenia PCDD/F i PCB niż w tłuszczu ryb słodkowodnych (kilka pg WHO-TEQ/g). Pomimo spadku stężeń PCDD/F i PCB w tkankach ryb bałtyckich w stosunku do apogeum z lat 70 ubiegłego wieku, skażenie ryb w ciągu ostatniego dziesięciolecia pozostaje na stałym, wysokim poziomie (9).

Badania *Szlinger-Richter* i współpracownicy (17) wykazały zależność pomiędzy stężeniami PCDD/F i PCB w tkankach ryb, a ich cechami biologicznymi takimi jak: zawartość tłuszczu, czy rozmiar (długość). Najwyższe stężenia PCDD/F stwierdzono w tłuszczu śledzia (35–42 pg PCDD/g, 150–230 pg PC – 190 pg PCDF/g). Procentowy udział PCDD/F w całkowitej toksyczności wyrażonej w jednostkach WHO-TEQ wynosił od 39% u łososia, 44% u szprotka i 50% u śledzia. Udział najbardziej toksycznych kongenerów PCDD: TCDD i 1,2,3,7,8-PCDD był wyższy w próbkach łososia (>70%) niż w próbkach dwóch pozostałych badanych gatunków (szprot <50%, śledź >55%). Podobna sytuacja miała miejsce w odniesieniu do PCDF. Silna, negatywna korelacja między stężeniami badanych związków, a zawartością tłuszczu znalazła odzwierciedlenie w sezonowych zmianach zawartości PCDD/F i PCB wyrażonych na gram tłuszczu (17). Wykazano ponadto, że proces wędzenia powoduje wzrost stężenia PCDD/F wyrażone jako wskaźnik WHO-TEQ dla PCDD i PCDF ng/kg w makrelach o 22%, a w mięsie halibuta grenlandzkiego aż o 62% i koresponduje z zawartością tłuszczu (18).

Badania *Usydus* i współpracownicy (19) wykazały, że olej (tran) z ryb bałtyckich pochodzący z produktów ubocznych przekraczał dozwoloną zawartość PCDD/F

(6 WHO-TEQ pg/g oleju) i PCDD/F i PCB (24 WHO-TEQ pg/g oleju) (Dyrektywa 2006/13/WE) (6). Tylko oleje pochodzące z hodowli łososia norweskiego odznaczały się zawartością mieszczącą się w granicach dopuszczalnych wartości (3,5 WHO-TEQ pg/g PCDD/F i 11,70 WHO-TEQ pg/g PCDD/F+PCB). Najwyższą zawartość PCDD/F i PCB stwierdzono w oleju szprota (średnio 64,6 WHO-TEQ pg/g oleju PCDD/F+PCB) (19).

Znacznie wyższe poziomy związków PCDD/F (489 pg/g tłuszczu) wykazano w próbkach krewetek (*Aristeus antennatus*) występujących na głębokości 650 m w Zatoce Barcelońskiej (zachodnia część Morza Śródziemnego). W tłuszczu gatunku należącego do tej samej rodziny (*Melicertus kerathurus*) występującego w płytkiej wodzie (50 m), oznaczone wartości PCDD/F były nieznacznie niższe i wynosiły 402 pg/g tłuszczu). Natomiast całkowita zawartość związków PCDD/F w mięśniach krewetek obu gatunków (*A. antennatus* i *M. kerathurus*) była bardzo niska i kształtowała się na granicy wykrywalności. Zaobserwowano, że bioakumulacja PCDD/F w tłuszczu krewetek wzrastała wraz z głębokością ich występowania zarówno w zachodniej i wschodniej części Basenu Morza Śródziemnego. W krewetkach występujących w wodach wokół Wypś Balearów poziom PCDD/F i PCB kształtował się w zakresie 153–416 pg/g, a w zachodniej części Morza Jońskiego 61–206 pg/g. W obu obszarach koncentracja PCDD/F i PCB była nieco wyższa na głębokości 1000 m (20).

Zawartość dioksyn w organizmie człowieka

Badania przeprowadzone w Japonii (Osaka) wykazały, że całkowita dzienna dawka PCDD/F i PCB wyrażona jako TEQ pobrana z żywnością systematycznie spada. W ciągu ostatniego dziesięciolecia obniżyła się prawie o 30%, tj. z ilości 104,2 pg TEQ/osobę/dzień (w 2000 r) do wartości 72,7 pg TEQ/osobę/dzień (w 2011 r.) (21).

Komitet Naukowy ds. Żywności Komisji Europejskiej ocenia dopuszczalną tygodniową dawkę tych substancji chemicznych na poziomie 14 pg/kg m.c. wyrażoną jako równoważnik toksyczności (WHO-TEQ) (5). W większości uprzemysłowionych krajów europejskich, dzienna dawka PCDD/F i PCB znajduje się obecnie na poziomie 1–3 pg WHO-TEQ/kg m.c./dzień (22).

Badania przeprowadzone w Belgii wykazały, że nawożenie mineralne może być źródłem 20% PCDD/F i PCB pobieranych z dzienną racją pokarmową (10).

Zawartość PCDD/F i PCB w organizmie człowieka została oszacowana na podstawie stężenia tych substancji w surowicy krwi, mleku kobiecym, włosach (21, 23–27). Zarówno mleko kobiece, jak i surowica krwi są uważane za obiektywne wskaźniki ekspozycji organizmu człowieka (w tym niemowląt) na te toksyczne zanieczyszczenia środowiska i żywności (11, 23). Badania przeprowadzone z udziałem mieszkańców terenów uprzemysłowionych Korei wykazały poziom wskaźnika TEQ dla PCDD/F w osoczu krwi w zakresie 1,0–11,9 pg TEQ/g tłuszczu (24). We krwi mieszkańców Japonii stwierdzono nieco wyższą zawartość PCDD/F i PCB (7,6–16,5 pg TEQ/g tłuszczu) (25). Oznaczone całkowite stężenie wskaźnika TEQ dla PCDD/F i PCB we krwi pacjentów w Yusho (Japonia) w latach 2001–2003 były znacznie wyższe. Wynosiło dla każdego roku odpowiednio: 179,3, 136,4 i 125,0 pg-TEQ/g tłuszczu. Stwierdzone stężenia były od 3 do 5 razy wyższe niż kontrolne, zwłaszcza poziomy PCB. Badania krwi pacjentów z Yusho w latach 2001–2003 wskazują, że nawet po-

nad 35 lat po incydencie w Yusho (pierwsze znane masowe zatrucie żywności PCB, w Japonii w lutym 1968 r., gdy płyn z PCB wyciekł na partię oleju z otrąb ryżowych) poziomy tych związków w organizmie mieszkańców Yusho są nadal wysokie. I tak w surowicy krwi pracowników spalarni odpadów w Kinki (Japonia) wykazano średnie wartości TEQ dla PCDD na poziomie 12,9 pg/g tłuszczu, dla PCDF – 12,4 pg/g tłuszczu, a dla PCB – 13,6 pg/g tłuszczu (26).

Poziom PCDD/F i PCB w mleku matek w Japonii wahały się w zakresie 268–622 pg TEQ/g tłuszczu. Na tej podstawie prognozowano, że dzienne pobranie PCDD/F i PCB przez matki wahało się w granicach 0,78–2,18 pg TEQ/kg/dzień dla PCDD/F i 0,34–0,66 pg TEQ/kg/dzień dla PCB, a przez organizm dziecka w jego pierwszym roku życia na poziomie 85 pg TEQ/kg m.c. dobę. Ogólny poziom PCDD/F i PCB w ludzkim mleku systematycznie spada. Na przykład w Japonii w roku 1973 wynosił średnio 1920 pg/g tłuszczu, w 1996 r. – 279,9 pg/g tłuszczu, a obecnie wynosi 250,4 pg/g tłuszczu (21). Stwierdzono również, że średni poziom PCDD/F i PCB w mleku matek (n = 95), które paliły papierosy był nieco niższy i wynosił 227,3 pg/g tłuszczu, podczas gdy średni poziom tych związków w mleku matek (n = 204) niepalących – 261,2 pg/g tłuszczu (27).

Badania przeprowadzone z udziałem japońskich mężczyzn wykazały stężenia sumy PCDD/F i PCB w zakresie 1,18–3,26 pg TEQ/g tłuszczu we włosach i 12,8–51,2 pg TEQ/g tłuszczu w surowicy krwi (28).

Wykazano, że stężenia TEQ-WHO dla sumy PCDD/F i PCB w tkance tłuszczowej grupy płodnych mężczyzn były niższe niż w grupie niepłodnych mężczyzn z rejonu Ankary (Turcja), przy czym wartości wahały się odpowiednio 3,0–15,8 pg/g tłuszczu i 2,8–17,2 pg/g tłuszczu (29).

WNIOSKI

Zintegrowane podejście do kwestii narażenia konsumentów na PCDD/F i PCB oparte na szacowaniu ryzyka, jakie niesie ta grupa związków, zakłada postępującą redukcję ich uwalniania do środowiska oraz progresywne obniżanie narażenia poprzez urzędową kontrolę żywności oraz pasz. Dlatego zadaniem priorytetowym w krajach Unii Europejskiej, związanym z oceną narażenia ludzi na toksyczne działanie tej grupy niepożądanych związków chemicznych, jest również konieczność scharakteryzowania i stałego monitoringu poziomów PCDD/F i PCB w żywności we wszystkich krajach członkowskich.

W celu wdrożenia aktywnego podejścia do obniżania poziomów PCDD/F i PCB w środkach spożywczych, UE wprowadziła dodatkowo – oddzielne dla obu grup zanieczyszczeń – tzw. poziomy ostrzegawcze. Wymagania dotyczące pobrania prób oraz metod analizy PCDD/F i PCB dla celów urzędowej kontroli reguluje Rozporządzenie Komisji (WE) 1883/2006. Przyjmuje ono dwustopniowy schemat postępowania analitycznego: obok zalecania stosowania wydajnych metod przesiewowych, wprowadza obowiązek stosowania metod potwierdzających, pozwalających na jednoznaczne zidentyfikowanie i oznaczenie ilościowe PCDD/F i PCB. W oparciu o te standardy, żywność, która nie spełnia wymagań w zakresie dopuszczalnych stężeń PCDD/F i PCB, nie może być przedmiotem obrotu ani konsumpcji. Obowiązujące

obecnie najwyższe dopuszczalne poziomy tych związków nie w pełni odzwierciedlają bezpośrednie zagrożenie toksykologiczne PCDD/F i PCB, co jest zamierzoną funkcją poziomów docelowych (9).

I. Cieślík, E. Cieślík

THE CONTENT OF DIOXINS, FURANS AND PCBS IN FODDER AND HUMAN FOOD

PIŚMIENNICTWO

1. *Gregoraszczyk E.*: Wpływ ksenobiotyków na zdrowie. Materiały X Konferencji Naukowej: Dioksyny w Przemysle i Środowisku, Kraków, 2009; 41. – 2. *Cieślík I., Migdał W.*: Dioksyny, furany i polichlorowane bifenyly – toksyczność i występowanie w środowisku. Inż. Ochr. Środ., 2012; 15(3): 237. – 3. *Małagocki P., Piskorska-Pliszczyńska J., Gembal M., Szypuła-Trębas S.*: Dioksynopodobne PCB w paszach – wyniki badań wstępnych. Materiały IX Konferencji Naukowej: Dioksyny w Przemysle i Środowisku, Kraków 2008; 164. – 4. *Schwind K.H., Danicke S., Jira W.*: Survey of dioxins, dioxin-like PCBs and marker PCBs in German feeds of plant origin. J. Verbr. Lebensm., 2010; 5: 413. – 5. *Srogi K.*: Levels and congener distributions of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs in environmental and human samples: a review. Environ. Chem. Lett., 2008; 6: 1. – 6. *Ingelido A. M., Abballe A., Di Domenico A., Fochi I., Iacovella N., Saragosa A., Spagnesi M., Valentini S., De Felip E.*: Levels and Profiles of Polychlorinated Dibenzop-dioxins, Polychlorinated Dibenzofurans, and Polychlorinated Biphenyls in Feedstuffs and Milk From Farms in the Vicinity of Incineration Plants in Tuscany, Italy. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 2009; 57: 397. – 7. *Bursian S. J., Beckett K. J., Yamini B., Martin P. A., Kannan K., Shields K. L., Mohri F. C.*: Assessment of Effects in Mink Caused by Consumption of Carp Collected from the Saginaw River, Michigan, USA. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 2006; 50: 614. – 8. *Esposito M., Cavallo S., Serpe F.P., D'Ambrosio R., Gallo P., Colarusso G., Pellicanò R., Baldi L., Guarino A., Serpe L.*: Levels and congener profiles of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and dioxin-like polychlorinated biphenyls in cow's milk collected in Campania, Italy. Chemosph., 2009; 77: 1212. – 9. *Lizak R.*: Ocena występowania dioksyn, furanów i dioksynopodobnych PCB w krajowej żywności zwierzęcego pochodzenia na podstawie badań urzędowych przeprowadzonych latach 2006–2008. X Konferencja Naukowa: Dioksyny w Przemysle i Środowisku. Kraków, 2009, 49. – 10. *Dumortier P., Elskens M., Focant J.F., Goeyens L., Vandermeiren K., Pusserier L.*: Potential impact of fertilization practices on human dietary intake of dioxins in Belgium. Scien. Tot. Environ., 2009; 423: 47.
11. *Wu Y., Li J., Zhao Y., Chen Z., Li W., Chen J.*: Dietary intake of polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) in populations from China. Organohalogen. Compd., 2000; 57: 221. – 12. *Schmid R., Gujer E., Zennedd M., Studer Ch.*: Temporal and local trends of PCDD/F levels in cow's milk in Switzerland. Chemosph., 2003; 53: 129. – 13. *Dowding A., Foxall C., Fernandes A., Lake I., Lovett A., White S.*: The effects of river flooding on the congener patterns of dioxins in soil, herbage, and cow's milk from flood-prone farms. Organohalogen. Compd., 2006; 68: 440. – 14. *Santelli F., Boscaino F., Cautela D., Castaldo D., Malorniand A.*: Determination of polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzo-p-furans (PCDFs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in buffalo milk and mozzarella cheese. Eur. Food Res. Technol., 2006; 223: 51. – 15. *Hirako M.*: Distribution of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs in the blood, testis and adipose tissue of suckling beef calves. Chemosph., 2008; 71: 219. – 16. *Barska I., Ruczyńska W., Usyduś Z., Szlinder-Richert J.*: Konsekwencje wprowadzenia najwyższych dopuszczalnych poziomów zawartości dioksyn (PPCDD/F) i dioksynopodobnych polichlorowanych bifenyli (dl-PCB) w rybach bałtyckich i produktach rybnych. Materiały IX Konferencji Naukowej: Dioksyny w przemyśle i środowisku. Kraków 2008; 36. – 17. *Szlinder-Richert J., Barska I., Usyduś Z., Ruczyńska W.*: PCDD/F i dl-PCB w rybach z Bałtyku południowego w latach 2002–2006: Profile toksyczności oraz korelacje z czynnikami biologicznymi. Materiały IX Konferencji Naukowej: dioksyny w przemyśle i środowisku. Kraków 2008; 144. – 18. *Karl H., Rudolf U.*: Changes in concentrations of dioxins and dioxin-like PCB during processing of fish. Eur. Food Res. Technol., 2008; 226: 1175. – 19. *Usyduś Z., Szlinder-Richert J., Polak-Juszczak L., Malesa-Ciechwierz M., Dobrzański Z.*: Study on the raw fish oil purification from PCDD/F and dl-PCB-industrial tests. Chemosph., 2009; 74: 1495-1501.

20. *Rotlland G., Abad E., Sarda F., Abalosc M., Company J.B., Rivera J.*: Dioxin compounds in the deep-sea rose shrimp *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) throughout the Mediterranean Sea. *Deep-Sea Research I*. 2006; 53: 1895.

21. *Nakatani T., Yamamoto A., Ogaki S.*: A Survey of Dietary Intake of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2011; 60: 543. – 22. *Loganathan B.G., Senthil K., Shigeki K., Kenneth M., Sajwani S.*: Polychlorinated Dibenzo-p-Dioxins, Dibenzofurans, and Dioxin – Like Polychlorinated Biphenyls in Sediment and Mussel Samples from Kentucky Lake, USA. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2008; 54: 20. – 23. *Kocan A., Chovancowa J., Drobna B., Conka K., Domotorova M., Sejakova Z., Fabisikova A.*: The occurrence of dioxin-like compounds in human blood and milk from Slovakia. IX Konferencja Naukowa: Dioksyiny w Przemysle i Środowisku, Kraków, 2008; 11-18. – 24. *Leem J.H., Lee D.S., Kim J.*: Risk Factors Affecting Blood PCDDs and PCDFs in Residents Living near an Industrial Incinerator in Korea. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2006; 51: 478. – 25. *Furuya H., Kayama F., Hasegawa M., Nagai M., Suzuki T.*: Longitudinal Study of Trends in Blood Dioxins and Dioxin-Like Compounds Levels in Residents from Two Locations in Japan During 2002–2006. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2010; 58: 892. – 26. *Yoshida J., Kumagai S., Tabuchi T., Kosaka H., Akasaka S., Kasai H., Oda H.*: Negative association between serum dioxin level and oxidative DNA damage markers in municipal waste incinerator workers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 2006; 79: 115. – 27. *Nakatani T., Okazaki K., Ogaki S., Itano K., Fujita T., Kuroda k., Endo G.*: Polychlorinated Dibenzo-p-Dioxins, Polychlorinated Dibenzofurans, and Coplanar Polychlorinated Biphenyls in Human Milk in Osaka City, Japan. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2005; 49: 131. – 28. *Nakao T., Aozasa O., Ohta S., Miyataand H.*: Survey of Human Exposure to PCDDs, PCDFs, and Coplanar PCBs Using Hair as an Indicator. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2005; 49: 124. – 29. *Cok I., Donmez M.K., Satýrog M.H., Aydýnuraz B., Henkelmann B., Jarmila H., Kotalik K., Schram W.*: Concentrations of Polychlorinated Dibenzo-p-Dioxins (PCDDs), Polychlorinated Dibenzofurans (PCDFs), and Dioxin-Like PCBs in Adipose Tissue of Infertile Men. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2008; 55: 143.

Adres: 30-149 Kraków, ul. Balicka 122

Justyna Borawska, Małgorzata Darewicz, Anna Iwaniak, Piotr Minkiewicz

BIOLOGICZNIE AKTYWNE PEPTYDY POCHODZĄCE Z BIAŁEK ŻYWNOSCI JAKO CZYNNIKI PREWENCJI WYBRANYCH CHOROÓB DIETOZALEŻNYCH

Katedra Biochemii Żywności
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
Kierownik: prof. dr hab. inż. *M. Darewicz*

Hasła kluczowe: białka żywności, biologicznie aktywne peptydy, peptydy przeciwnadciśnieniowe – inhibitory konwertazy angiotensyny, peptydy antyoksydacyjne.
Key words: food proteins, biologically active peptides, antihypertensive peptides – angiotensin I-converting enzyme inhibitors, antioxidative peptides.

Żywność i jej składniki odżywcze mają podstawowe znaczenie w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu. W ostatnich latach na rynku produktów żywnościowych pojawił się i rozwija nowy jego segment obejmujący żywność funkcjonalną. Żywność funkcjonalna jest źródłem składników, które mogą regulować działanie np. układu immunologicznego, hormonalnego, nerwowego, krążenia czy pokarmowego (1). Oznacza to, że może być ona źródłem składników pokarmowych zabezpieczających prawidłowe fizjologiczne funkcjonowanie organizmu, jak również sprzyjających intensyfikacji aktywności psychicznej człowieka. Przyjmuje się również, że substancje te nazywane także bioaktywnymi komponentami mogą znaleźć zastosowanie w profilaktyce chorób dietozależnych. Do takich biologicznie aktywnych składników należą niektóre peptydy żywności. Coraz częściej podkreśla się konieczność poszukiwania nowych form działania profilaktycznego, a nawet terapeutycznego w celu wspomaganie leczenia chorób dietozależnych poprzez m.in. modyfikowanie spożywanej diety jako źródła naturalnie występujących w żywności związków bioaktywnych. Dobór odpowiedniej diety wspomagającej leczenie farmakologiczne jest uzasadniony zwłaszcza wtedy, gdy działania profilaktyczne mają na celu zapobieganie takim chorobom dietozależnym, jak nadciśnienie tętnicze, choroby neurodegradacyjne czy nowotworowe.

Biologicznie aktywne peptydy

Bioaktywne peptydy mogą być uwolnione z białkowych prekursorów podczas: – hydrolizy enzymami trawiennymi w układzie pokarmowym człowieka, – procesów fermentacji dzięki aktywności proteolitycznej mikroorganizmów, – enzymatycznej hydrolizy *in vitro*. W celu otrzymania krótkich, funkcjonalnych peptydów z dużym sukcesem stosowano kombinację wyżej wymienionych metod. Biopeptydy mogą być także syntetyzowane chemicznie lub poprzez ekspresję odpowiednich genów (2).

Liczba sekwencji biologicznie aktywnych peptydów pochodzących z białek żywności rośnie z każdym rokiem. Do tej pory zidentyfikowano je we wszystkich surowcach wykorzystywanych do produkcji żywności oraz w wielu produktach spożywczych, głównie w mleku i fermentowanych produktach mleczarskich (2, 3), surowcach i produktach roślinnych (4), mięsie (5), jajach (6) czy surowcach pochodzących z mórz (7). Biologicznie aktywne peptydy pochodzące z białek żywności zazwyczaj zbudowane są z 2 do 20 reszt aminokwasowych (8). Aktywność biologicznie aktywnych peptydów wykazywana w warunkach *in vitro*, nie zawsze przekłada się na efekty biologiczne *in vivo*. Wynika to z mechanizmów molekularnych absorpcji i transportu biopeptydów oraz ich podatności na hydrolizę do nieaktywnych fragmentów (9). Zasadnicze znaczenie dla efektu fizjologicznego ma zachowanie stabilnej, natywnej struktury peptydów podczas interakcji z docelowym receptorem. Udowodniono, że obecność prolina na C-końcu peptydu chroni go przed hydrolizą enzymatyczną w układzie pokarmowym i pośrednio wpływa na jego biodostępność (10). Przeprowadzono badania dotyczące mechanizmu transportu bioaktywnych peptydów z zastosowaniem linii komórkowej Caco-2. Wykazano, że peptydy przeciwnadciśnieniowe np. IF, AF, IPP i VPP zachowują stabilną strukturę podczas przenikania przez monowarstwę nabłonka. Stwierdzono, że efektywność transportu zależy od ładunku, masy cząsteczkowej oraz hydrofobowości peptydów (11). W badaniach z wykorzystaniem modelu zwierzęcego tj. szczurów z genetycznie uwarunkowanym nadciśnieniem tętniczym (SHR), udowodniono, że dwa przeciwnadciśnieniowe tripeptydy IPP oraz VPP są wchłaniane z pożywienia w przewodzie pokarmowym, czego potwierdzeniem była ich obecność w aorcie brzusznej oraz obniżenie ciśnienia tętniczego krwi u badanych zwierząt (12).

Peptydy obniżające ciśnienie krwi – peptydowe inhibitory enzymu konwertującego angiotensynę

Konwertaza angiotensyny I (ACE) [EC 3.4.15.1] nazywana inaczej enzymem konwertującym angiotensynę, hydrolazą peptydyldipeptydową czy dipeptydylokarboksypeptydazą, jest metaloegzopeptydazą cynkową o szerokiej specyficzności substratowej (13). ACE jest szeroko rozpowszechniona w tkankach i płynach ustrojowych ssaków. Mechanizm regulacji ciśnienia z udziałem konwertazy angiotensyny I odbywa się na drodze kilku szlaków biochemicznych w układach: renina [EC 3.4.22.15] – angiotensyna (RAS, ang. renin-angiotensin system), renina-chymaza [EC 3.4.21.39] (RCS, ang. renin-chymase system), kinina-tlenek azotu (KNOS, ang. kinin-nitric oxide system) oraz endopeptydaza obojętna zwana enkefalinazą [EC 3.4.24.11] (NEPS, ang. neutral endopeptidase system). Układ RAS jest uznawany za wiodący wśród systemów odpowiedzialnych za regulację ciśnienia krwi (13). Zgodnie ze szlakiem RAS nerki wydzielają enzym proteolityczny – reninę [EC 3.4.22.15], która przekształca obecne we krwi białko – angiotensynogen w dekapeptyd – angiotensynę I. Angiotensyna I jest przekształcana przez konwertazę angiotensyny w oktapeptyd – angiotensynę II, która m.in. silnie zwęża naczynia krwionośne, powodując wzrost ciśnienia tętniczego krwi. Inhibitory konwertazy angiotensyny są jednymi z najczęściej stosowanych farmaceutyków w leczeniu nadciśnienia. Na przestrzeni lat odkryto wiele inhibitorów ACE, w tym związki syntetyczne oraz peptydy po-

chodzące z hydrolizatów białek żywności (4, 13). Stosowanie syntetycznych leków wiąże się z szeregiem skutków ubocznych, m.in. z kaszlem, wysypkami skórными, niekontrolowanym spadkiem ciśnienia poniżej normy, utratą smaku, obrzękiem naczynioruchowym, zmniejszoną czynnością nerek oraz wadami płodu. Natomiast naturalne peptydy z żywności hamujące ACE nie wywołują wyżej wymienionych efektów ubocznych, ale nie są też tak aktywne jak leki syntetyczne.

Peptydy o aktywności inhibitora ACE stanowią najlepiej poznaną grupę biologicznie aktywnych peptydów pochodzących z żywności. Są to zwykle inhibitory kompetencyjne, które przyłączają się do centrum aktywnego i zmieniając konformację enzymu uniemożliwiają powstanie aktywnego połączenia enzym-substrat (14). Chociaż zależność między strukturą, a funkcją dla peptydowych inhibitorów ACE nie jest nadal w pełni ustalona, wykazują one pewne wspólne cechy. Są bogate w aminokwasy hydrofobowe i odporne na działanie endopeptydaz przewodu pokarmowego oraz mogą stosunkowo łatwo przenikać ze światła jelita do układu krwionośnego (8). Zbudowane są zazwyczaj z 2 do 12 reszt aminokwasowych, choć zdarzają się sekwencje dłuższe (15). Badania nad strukturą inhibitorów ACE wykazały, że decydujące znaczenie mają trzy aminokwasy od C-końca peptydu, które zazwyczaj zawierają resztę aminokwasu hydrofobowego. *FitzGerald* i *Meisel* (16) zauważyli, że w pozycji C-końcowej mogą występować też reszty argininy lub lizyny, wnioskując, że dodatni ładunek tych reszt ma znaczenie dla aktywności peptydów.

Peptydy obniżające ciśnienie krwi – inhibitory enzymu konwertującego angiotensynę pochodzące z białek żywności

Bogatym źródłem peptydów obniżających ciśnienie krwi są m. in. białka mleka (2, 9, 17). Obecność peptydów o aktywności przeciwnadciśnieniowej wykazano także m.in. w: hydrolizatach glutenu pszenicy, zeiny kukurydzy, białek ryżu, soi, gryki, kiełków pszenicy, fasoli zwyczajnej, fasoli Adzuki, rzepaku, czosnku, ziemniaków, cytochromu, hemoglobiny i białek osocza krwi, żelatyny, drożdży, mięsa wieprzowego i drobiowego, jaj oraz w algach, sake i osadzie drożdżowym po produkcji sake, rybach i owocach morza (4, 17, 18, 19, 20, 21, 22). Inhibitory ACE, które naturalnie występują w fermentowanych produktach mleczarskich oraz serach dojrzewających są często uznawane za „naturalną żywność funkcjonalną” (23). W przypadku serów, peptydy te powstają w wyniku procesów proteolitycznych zachodzących podczas ich dojrzewania. Przykładem inhibitorów ACE z sera są kazokininy zidentyfikowane w ekstrakcie wodnym sera Gouda, peptydy z sera Manchego, Cheddar czy Gamalost (24, 25). Peptydowe inhibitory ACE otrzymano także w wyniku hydrolizy enzymatycznej białek jaj. W badaniach na szczurach potwierdzono właściwości przeciwnadciśnieniowe owokininy 2–7 o sekwencji RADHPF z owoalbuminy jaja (26). Peptydy o aktywności inhibitorów konwertazy angiotensyny zidentyfikowano w hydrolizatach termolizynowych białek mięśni kurczaka. Sekwencje IKW, LAP i LKP obniżały rozkurczowe ciśnienie krwi u szczurów SHR (ang. *spontaneously hypertensive rats* – szczury ze spontanicznym nadciśnieniem) o odpowiednio 50, 40 i 75 mmHg po dożylnym podaniu dawki w ilości 10 mg peptydu/kg masy ciała (27). Przykładami peptydów obniżających ciśnienie krwi pochodzącymi z mięsa wieprzowego są miopeptydy np. MNPPK, ITTNP czy DAQEKLE (18, 24, 27). Efekt

działania niektórych z tych peptydów potwierdzono w badaniach na szczurach SHR (24). Surowce i produkty żywnościowe pochodzenia roślinnego także mogą być cennym źródłem peptydów o aktywności inhibitorów ACE. Badania wykazały, że podczas trawienia białek soi w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt, powstawały peptydy o sekwencjach np. VLIVP, YLAGNQ, FF które wyraźnie hamowały działanie konwertazy angiotensyny (28). Obecność peptydów inhibitorów ACE potwierdzono również w szpinaku. Peptydy o sekwencjach MRW oraz MRWD obniżały ciśnienie krwi u szczurów SHR już po 2 h od podania im dawki odpowiednio 20 lub 30 mg peptydu/kg masy ciała (29).

Peptydy o aktywności inhibitorów konwertazy angiotensyny mają zastosowanie w produkcji żywności funkcjonalnej i nutraceutyków. Przykładami żywności funkcjonalnej zawierającej peptydowe inhibitory ACE są: fermentowane kwaśne mleko „Ameal-S” (Calpis Co, Ltd., Japonia), napój mleczny Evolus® (Holandia), hydrolizat białek serwatkowych “BioZate” (Davisco Foods International, Inc., USA), ekstrakt z mięsa kurczka “Brand’s Essence of Chicken” (BEC; Cerebos Pacific Ltd., Singapur), hydrolizat białek ryb PeptACE® Fish Peptides (Natural Factors Nutritional Products Ltd, Kanada) (15, 27).

Peptydy antyoksydacyjne

Stres oksydacyjny powstaje na skutek zaburzeń między produkcją wolnych rodników tlenowych, a zdolnością komórki do ich eliminacji (30). W skład naturalnego enzymatycznego systemu usuwania wolnych rodników wchodzi m.in.: dysmutaza ponadtlenkowa [EC 1.15.1.1], katalaza [EC 1.11.1.6] i peroksydaza glutationowa [EC 1.11.1.9]. Ich efektywne działanie jest uwarunkowane podażą w diecie mikroelementów, takich jak selen i mangan. Do antyoksydacyjnego systemu obrony organizmu należą także nieenzymatyczne antyoksydanty, takie jak: witaminy antyoksydacyjne, mikroelementy, koenzymy i kofaktory (31). Peptydy i hydrolizaty białkowe, przerywając łańcuch reakcji wolnorodnikowych, mogą obniżyć szybkość procesów oksydacji enzymatycznej (pod wpływem lipooksygenazy) i nieenzymatycznej (8). Wolne rodniki, prowadząc reakcje utleniania, są przyczyną uszkodzeń: kwasów nukleinowych (modyfikacja składu i konfiguracji), lipidów (np. peroksydacja lipoprotein osocza), kwasów tłuszczowych (np. peroksydacja kwasów tłuszczowych błon komórkowych) oraz białek (modyfikacja składu i konfiguracji reszt aminokwasowych). Wywołują także proces apoptozy komórek. W konsekwencji wolne rodniki są jednym z czynników etiologicznych wielu chorób cywilizacyjnych, w tym nowotworów, chorób układu krwionośnego, a także uważane są za jedną z przyczyn chorób neurodegradacyjnych, takich jak choroba Alzheimera czy Parkinsona (32). Istnieje szereg doniesień naukowych wskazujących, że hydrolizaty białek żywności wykazują aktywność antyoksydacyjną. Są to m.in. hydrolizaty białek: mleka, pszenicy, soi, jaj, krewetek, ostroboka, kapeliny, makreli, śledzia, tuńczyka, soli czy mintaja (31). Chociaż niewiele badań poświęcono charakterystyce aktywności antyoksydacyjnej ściśle zdefiniowanych fragmentów białek, to pozwalają one na stwierdzenie, że peptydy antyoksydacyjne są na ogół zbudowane z 3 do 16 reszt aminokwasowych (31). Głównymi ich składnikami są reszty aminokwasowe histydyny lub tyrozyny, które w postaci wolnej także wykazują aktywność przeciwutleniającą. Podobne właściwości

mają też: metionina, lizyna, arginina, fenyloalanina i tryptofan (4). Zwykle peptydy antyoksydacyjne zawierają w pozycji N-końcowej reszty aminokwasów hydrofobowych (np. walina, leucyna), reszty proliny, histydyny, tyrozyny, a niektóre z nich zawierają reszty aminokwasów kwaśnych (33). Istnieje zależność między wartością średniej hydrofobowości peptydu a jego aktywnością antyoksydacyjną (33). Nie tylko sekwencja aminokwasowa ale też konfiguracja przestrzenna peptydu wpływa na jego właściwości antyoksydacyjne (34). Na przykład peptydy posiadające prolinę w pozycji N-końcowej bardziej efektywnie zapobiegają oksydacji kwasu linolowego niż peptydy posiadające prolinę w pozycji C-końcowej (35). Przykładem peptydu o właściwościach antyoksydacyjnych, który naturalnie występuje w stanie wolnym w mózgu, nerkach, żołądku, a przede wszystkim w mięśniach szkieletowych ssaków, ptaków i ryb, jest karnozyna zbudowana z β -alaniny i L-histydyny (8). Peptyd ten odpowiada za inaktywację wolnych rodników i produktów peroksydacji lipidów błon komórkowych, pełni funkcję ochronną wobec błon komórkowych, posiada właściwości buforujące i chelatujące jony metali dwuwartościowych oraz reguluje aktywność makrofagów (8).

Peptydy antyoksydacyjne pochodzące z białek żywności

Produkty mleczarskie były pierwszym źródłem, z którego wyizolowano peptydy o właściwościach antyoksydacyjnych. Aktywność taką wykazano dla kazeiny- β i peptydów z niej uwalnianych oraz kazeiny- α_{s1} (2). Udowodniono, że mechanizm antyoksydacyjnego działania peptydów pochodzących z mleka obejmuje zdolność do chelatowania jonów metali przez reszty fosfoserynowe oraz do wymiatania wolnych rodników (36). W przypadku białek serwatkowych aktywność antyoksydacyjna związana jest z dużą zawartością reszt cysteiny wspomagającej syntezę glutationu – wewnątrzkomórkowego przeciwutleniacza (24). *Hernández-Ledesma* i współpr. (37) wyizolowali i zidentyfikowali szereg biopeptydów przeciwutleniających z laktoglobuliny- β poddanej hydrolizie z udziałem preparatu Corolase PP. Peptydy o aktywności antyoksydacyjnej zidentyfikowano w hydrolizatach białek miofibrylarnych wieprzowiny otrzymanych z zastosowaniem papainy i aktynazy (33). Były to sekwencje DAQEKLE, DSGVT, IEAEGE, EELDNALN, VPSIDDQEELM. Udowodniono, że karnozyna oraz hydrolizaty białek serwatkowych i sojowych hamują procesy oksydacji tłuszczów w mięsie wieprzowym (38).

Podsumowanie

Żywność jest nie tylko źródłem energii i składników odżywczych o tradycyjnie pojmowanej roli. Obecnie badacze na całym świecie próbują odkryć nowe jej funkcje związane m.in. z obecnością bioaktywnych peptydów np. peptydów przeciwnadciśnieniowych – inhibitorów enzymu konwertującego angiotensynę i peptydów przeciwutleniających. Takie peptydy pochodzące z żywności mogą znaleźć zastosowanie w produkcji żywności funkcjonalnej oraz nutraceutyków wspomagających profilaktykę niektórych dietozależnych chorób cywilizacyjnych.

J. Borawska, M. Darewicz, A. Iwaniak, P. Minkiewicz

BIOLOGICALLY ACTIVE PEPTIDES FROM FOOD PROTEINS AS FACTORS PREVENTING DIET-RELATED DISEASES

PIŚMIENNICTWO

1. *Bleiel J.*: Functional foods from the perspective of the consumer: How to make it a success? *Int. Dairy J.*, 2010; 20(4): 303-306. – 2. *Darewicz M., Dziuba B., Minkiewicz P., Dziuba J.*: The preventive potential of milk and colostrum proteins and protein fragments. *Food Rev. Int.*, 2011; 27(4): 357-388. – 3. *Muro Urista C., Álvarez Fernández R., Riera Rodríguez F., Arana Cuenca A., Téllez Jurado A.*: Review: Production and functionality of active peptides from milk. *Food Sci. Technol.*, 2011; 17(4): 293-317. – 4. *Pihlanto A., Mäkinen S.*: Antihypertensive properties of plant protein derived peptides. W: *Hernandez-Ledesma B., Hsieh C.-C.*: Bioactive Food Peptides in Health and Disease. INTECH, 2013: 145-182. – 5. *Minkiewicz P., Dziuba J., Michalska J.*: Bovine meat proteins as potential precursors of biologically active peptides--a computational study based on the BIOPEP database. *Food Sci. Technol. Int.*, 2011; 17(1): 39-45. – 6. *Zambrowicz A., Pokora M., Eckert E., Szoltysik M.*: Antioxidant and antimicrobial activity of lecithin free egg yolk protein preparation hydrolysates obtained with digestive enzymes. *Funct. Foods Health Dis.*, 2012; 2(12): 487-500. – 7. *Senevirathne M., Kim S.-K.*: Development of bioactive peptides from fish proteins and their health promoting ability. *Adv. Food Nutr. Res.*, 2012; 65: 235-248. – 8. *Kitts D. D., Weiler K.*: Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery. *Curr. Pharm. Des.*, 2003; 9(16): 1309-1323. – 9. *Hernández-Ledesma B., Quiros A., Amigo L., Recio I.*: Identification of bioactive peptides after digestion of human milk and infant formula with pepsin and pancreatin. *Int. Dairy J.*, 2007; 17(1): 42-49. – 10. *Segura-Campos M., Chel-Guerrero L., Betancur-Ancona D., Hernandez-Escalante V. M.*: Bioavailability of bioactive peptides. *Food Rev. Int.*, 2011; 27(3): 213-226.
11. *Sienkiewicz-Szlapka E., Jarmolowska B., Krawczuk S., Kostyra E., Kostyra H., Bielikowicz K.*: Transport of bovine milk-derived opioid peptides across a Caco-2 monolayer. *Int. Dairy J.*, 2009; 19(4): 252-257. – 12. *Kawaguchi K., Nakamura T., Kamiie J., Takahashi T., Yamamoto N.*: Accumulation of ACE inhibitory tripeptides, Val-Pro-Pro and Ile-Pro-Pro, in vascular endothelial cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2012; 76(9): 1792-1795. – 13. *Iwaniak A.*: Analiza zależności między strukturą peptydów pochodzących z białek żywności a ich aktywnością inhibitorową wobec enzymu konwertującego angiotensynę. Ocena przydatności metod *in silico* w badaniach nad białkowymi prekursorami bioaktywnych peptydów. Wyd. UWM, Olsztyn, 2011: 9-31. – 14. *Lee J. K., Lee M.-S., Park H. G., Kim S.-K., Byun H.-G.*: Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide extracted from freshwater zooplankton. *J. Med. Food*, 2010; 13(2): 357-363. – 15. *Norris R., Fitzgerald R. J.*: Antihypertensive peptides from food proteins. W: *Hernandez-Ledesma B., Hsieh C.-C.*: Bioactive Food Peptides in Health and Disease. INTECH, 2013: 45-72. – 16. *Fitzgerald R. J., Meisel H.*: Milk protein hydrolysates and bioactive peptides. W: *Fox P. F., McSweeney P. L. H.*: Advanced Dairy Chemistry-1 Proteins. Springer US, Boston, 2003: 675-698. – 17. *Li G.-H., Le G.-W., Shi Y.-H., Shrestha S.*: Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins and their physiological and pharmacological effects. *Nutr. Res.*, 2004; 24(7): 469-486. – 18. *Escudero E., Sentandreu M. A., Arihara K., Toldrá F.*: Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides generated from *in vitro* gastrointestinal digestion of pork meat. *J. Agric. Food Chem.*, 2010; 58(5): 2895-2901. – 19. *Faria M., da Costa E. L., Gontijo J. A. R., Netto F. M.*: Evaluation of the hypotensive potential of bovine and porcine collagen hydrolysates. *J. Med. Food*, 2008; 11(3): 560-567. – 20. *Fujita H., Yokoyama K., Yoshikawa M.*: Classification and antihypertensive activity of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins. *J. Food Sci.*, 2000; 65(4): 564-569.
21. *Zhang J., Zhang H., Wang L., Guo X., Wang X., Yao H.*: Isolation and identification of antioxidative peptides from rice endosperm protein enzymatic hydrolysate by consecutive chromatography and MALDI-TOF/TOF MS/MS. *Food Chem.*, 2010; 119(1): 226-234. – 22. *Zhang Y., Kouguchi T., Shimizu M., Ohmori T., Takahata Y., Morimatsu F.*: Chicken collagen hydrolysate protects rats from hypertension and cardiovascular damage. *J. Med. Food*, 2010; 13(2): 399-405. – 23. *Möller N. P., Scholz-Ahrens K. E., Roos N., Schrezenmeir J.*: Bioactive peptides and proteins from foods: indication for health effects. *Eur. J. Nutr.*, 2008; 47(4): 171-182. – 24. *Korhonen H., Pihlanto A.*: Bioactive Peptides from Food Proteins.

- W: Hui Y.: Handbook of Food Products Manufacturing. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 2007: 5-37. – 25. Qureshi T. M., Vegarud G. E., Abrahamsen R. K., Skeie S.: Angiotensin I-converting enzyme-inhibitory activity of the Norwegian autochthonous cheeses Gamalost and Norvegia after in vitro human gastrointestinal digestion. *J. Dairy Sci.*, 2013; 96(2): 838-853. – 26. Yamada Y., Yamauchi D., Usui H., Zhao H., Yokoo M., Ohinata K., Iwai M., Horiuchi M., Yoshikawa M.: Hypotensive activity of novokinin, a potent analogue of ovokinin(2-7), is mediated by angiotensin AT2 receptor and prostaglandin IP receptor. *Peptides*, 2008; 29(3): 412-418. – 27. Ryan J. T., Ross R. P., Bolton D., Fitzgerald G. F., Stanton C.: Bioactive peptides from muscle sources: meat and fish. *Nutrients*, 2011; 3(9): 765-791. – 28. Chen Z.-Y., Peng C., Jiao R., Wong Y. M., Yang N., Huang Y.: Anti-hypertensive nutraceuticals and functional foods. *J. Agric. Food Chem.*, 2009; 57(11): 4485-4499. – 29. Yang Y., Marczak E. D., Yokoo M., Usui H., Yoshikawa M.: Isolation and antihypertensive effect of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from spinach Rubisco. *J. Agric. Food Chem.*, 2003; 51(17): 4897-4902. – 30. Darewicz M., Dziuba J.: Peptydy funkcjonalnie aktywne. W: Dziuba J., Fornal Ł.: Biologicznie aktywne peptydy i białka żywności. WNT, Warszawa, 2009: 71-109.
31. Sarmadi B. H., Ismail A.: Antioxidative peptides from food proteins: a review. *Peptides*, 2010; 31(10): 1949-1956. – 32. Hoelzl C., Bichler J., Ferk F., Simic T., Nersesyan A., Elbling L., Ehrlich V., Chakraborty A., Knasmüller S.: Methods for the detection of antioxidants which prevent age related diseases: A critical review with particular emphasis on human intervention studies. *J. Physiol. Pharmacol.*, 2005; 56(Supp 2): 49-64. – 33. Saiga A., Tanabe S., Nishimura T.: Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment. *J. Agric. Food Chem.*, 2003; 51(12): 3661-3667. – 34. Peña-Ramos E. A., Xiong Y. L.: Antioxidative activity of whey protein hydrolysates in a liposomal system. *J. Dairy Sci.*, 2001; 84(12): 2577-2583. – 35. Chen H.-M., Muramoto K., Yamauchi F., Nokihara K.: antioxidant activity of designed peptides based on the antioxidative peptide isolated from digests of a soybean protein. *J. Agric. Food Chem.*, 1996; 44: 2619-2623. – 36. Kim S.-Y., Je J.-Y., Kim S.-K.: Purification and characterization of antioxidant peptide from hoki (*Johnius belengerii*) frame protein by gastrointestinal digestion. *J. Nutr. Biochem.*, 2007; 18(1): 31-38. – 37. Hernández-Ledesma B., Dávalos A., Bartolomé B., Amigo L.: Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from alpha-lactalbumin and beta-lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLC-MS/MS. *J. Agric. Food Chem.*, 2005; 53: 588-593. – 38. Peña-Ramos E. A., Xiong Y. L.: Whey and soy protein hydrolysates inhibit lipid oxidation in cooked pork patties. *Meat Sci.*, 2003; 64(3): 259-263.

Adres: 10-719 Olsztyn, pl. Cieszyński 1

Monika Protasiewicz, Anna Iwaniak*

ALERGIE POKARMOWE I ALERGENY ŻYWNOŚCI**

Katedra Biochemii Żywności, Wydziału Nauki o Żywności
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
Kierownik : prof. dr hab. inż. *M. Darewicz*

Słowa kluczowe: alergia pokarmowa, alergeny żywności, objawy alergii, żywność.

Key words: food allergy, food allergens, allergy symptoms, food.

Od ponad 50 lat naukowcy obserwują wzrost zapadalności społeczeństwa na choroby alergiczne. Ekspansja tych chorób zwłaszcza w krajach Europy Zachodniej, Stanach Zjednoczonych i Australii stała się przyczyną wprowadzenia określenia „epidemia alergii” (1). Alergie pokarmowe stanowią problem często niedoceniany i budzący kontrowersje, co wynika z niezrozumienia terminologii i mechanizmów patogenetycznych oraz bagatelizowania przez lekarzy dolegliwości chorych (2). *Kaczmarek* i współpr. (3) podają, że problem występowania alergii pokarmowych dotyczy 4–8% populacji dzieci oraz 2–3% dorosłych. Jest to nie tylko problem zdrowotny, ale i społeczny, przejawiający się koniecznością podejmowania przez tak dużą liczbę alergików specjalistycznej terapii oraz działań mających na celu ułatwienie funkcjonowania i poprawy jakości ich życia (4). Działania te, obejmują m. in. poprawę stanu wiedzy na temat alergii pokarmowych wśród grup ludności niezwiązanych ze służbą zdrowia (5).

Alergia i nietolerancja pokarmowa

Termin „alergia” pochodzi z języka greckiego i jest połączeniem dwóch słów: „allos”, czyli „zmieniony” oraz „ergon” oznaczającego reakcję. Do terminologii medycznej pojęcie to zostało wprowadzone przez *Clemensa Pirqueta* (6).

Organizm ludzki może w sposób nieprawidłowy reagować na spożywany pokarm. Reakcja ta, może mieć charakter toksyczny lub nietoksyczny (7). Pojawienie się reakcji toksycznej można przewidzieć znając skład i ilość spożywanego pokarmu. Przykładem reakcji toksycznej jest zatrucie histaminą osób, które spożywały nieprawidłowo przechowywane konserwy z tuńczyka (8). Reakcja nietoksyczna jest

* Uczestnik projektu „Stypendia dla doktorantów województwa podlaskiego”, współfinansowanego w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, Działanie 8.2 Transfer wiedzy, Poddziałanie 8.2.2 Regionalne Strategie Innowacji, ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego, budżetu państwa oraz środków budżetu Województwa Podlaskiego.

** Praca sfinansowana ze środków Katedry Biochemii Żywności, Uniwersytetu-Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

związana z wrażliwością organizmu na określony składnik pokarmu i jest definiowana jako nadwrażliwość pokarmowa (ang. FHS, food hypersensitivity). Występowanie nadwrażliwości pokarmowej z towarzyszącym jej odczynem immunologicznym nazywamy alergią pokarmową. Reakcje immunologiczne mogą przebiegać z udziałem grupy przeciwciał tzw. immunoglobuliny E (IgE-zależne) lub mogą być od niej niezależne (IgE-niezależne) (7, 9). Objawy alergii pokarmowych występują po spożyciu pokarmu, na który dana osoba jest uczulona i zawsze przyjmują tę samą postać (10, 11, 12). W zależności od rodzaju spożywanego pokarmu mogą wystąpić m. in. objawy skórne, nieprawidłowości w funkcjonowaniu układu oddechowego (8) czy zaburzeń trawienia i wchłaniania (13). Według *Skypali* (7) 20% populacji zmienia swoją dietę z powodu nadwrażliwości pokarmowej, a częstość występowania zaburzeń alergicznych związana jest z wiekiem pacjenta, co nazwano „marszem alergicznym”. Pojęcie to oznacza dominację alergii pokarmowej oraz atopowego zapalenia skóry w dzieciństwie, natomiast w życiu młodocianym i dorosłym astmy oraz alergicznego nieżytu nosa (7, 9).

Nadwrażliwość pokarmowa niezwiązana z udziałem mechanizmów immunologicznych jest definiowana jako reakcja niealergiczna (7). Określano ją dawniej jako nietolerancję pokarmową (2). Objawami reakcji niealergicznej są: zaburzenia enzymatyczne (nietolerancja cukru mlecznego – laktozy, spowodowana brakiem lub niedoborem enzymu β -galaktozydazy), nieprawidłowe wchłanianie węglowodanów, następstwa reakcji farmakologicznych wynikające z obecności w pokarmie np. salicylanów lub naczynioaktywnych amin (7, 13). Z występowaniem nadwrażliwości pokarmowej powiązana jest sfera psychospołeczna życia pacjentów (3).

Ze względu na podobieństwo symptomów, odróżnienie objawów klinicznych alergii oraz reakcji niealergicznej jest dość trudne. Ten sam pokarm może zawierać równocześnie np. związki farmakoaktywne odpowiedzialne za nadwrażliwość niealergiczną (np. obecność tyraminy lub kofeiny) (2) oraz alergeny (8).

Pałgan i *Bartuzi* (1) podają, że istnieje kilka czynników wpływających na powstawanie alergii pokarmowych. Są to między innymi czynniki genetyczne oraz środowiskowe (14). Do czynników genetycznych zaliczane są np. mutacje genu kodującego filagrynę – białka odgrywającego istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu bariery skóry oraz nabłonka (1). W przypadku celiakii (in. enteropatii glutenowej, glutenezależnej choroby trzewnej), przyczyną powstawania tej choroby jest pozytywna odpowiedź organizmu w kierunku antygenów HLA (ang. human leukocyte antigen), zwłaszcza HLA-DQ2 oraz HLA-DQ8 (15). Przyłączenie się do wymienionych antygenów peptydów pochodzących z gliadyn pszenicy powoduje zwielokrotnienie specyficznej odpowiedzi komórek tucznych-T (13).

Wśród czynników środowiskowych wymieniane są między innymi zanieczyszczenia przemysłowe, ekspozycja na dym tytoniowy, karmienie piersią, wiek matki karmiącej i jej dieta, a nawet pora roku narodzin dziecka. Wykazano, że dzieci urodzone wiosną lub latem rzadziej zapadają na alergie pokarmowe niż ich rówieśnicy urodzeni jesienią i zimą. Zjawisko to tłumaczy się większą ekspozycją niemowląt na promienie UV-B i syntezę witaminy D₃, która wpływa modulująco na układ immunologiczny (1). Alergie pokarmowe mogą być dziedziczne oraz nabyte. Przykładem dziedziczenia alergii jest występowanie alergii na orzeszki ziemne u bliźniąt jednojajowych. Jeśli jedno z bliźniąt dziedziczyło alergię na orzeszki ziemne, to w 64,3%

przypadków problem dotyczył także drugiego z bliźniąt, przy występowaniu tego schorzenia wśród 0,4% ogólnej populacji dzieci (USA) (16, 17). Astma piekarzy, czyli nietoksyczna reakcja na mąkę występująca wśród pracowników piekarni jest przykładem alergii nabytej (12).

Istnieje zależność między czynnikami wywołującymi alergię, a nawykami żywieniowymi ludności danego obszaru geograficznego oraz uwarunkowaniami ekonomicznymi. Przykładem są Stany Zjednoczone, gdzie liczba pacjentów uczulonych na małże, kraby, czy homary jest wyższa, niż w Niemczech, gdzie produkty te są znacznie droższe (18).

Żywność alergenna oraz objawy kliniczne alergii pokarmowych

Organizm ludzki w różny sposób może manifestować nadwrażliwą reakcję na pokarm. Jest to uzależnione od rodzaju spożywanego pokarmu i jego wpływu na narządy, tkanki oraz układy organizmu (2, 10, 11). Za główne źródło alergenów są uznawane białka o masie cząsteczkowej 10–40 kDa oraz rozpuszczalne w wodzie glikoproteiny o masie 10–70 kDa (2).

Alergie pokarmową mogą wywoływać pokarmy zarówno pochodzenia roślinnego, jak i zwierzęcego. Ponadto, osoby uczulone na jeden pokarm mogą stać się nadwrażliwe na inny o pokrewnej budowie antygenowej. Pokarmami roślinnymi najczęściej uczulającymi są: ziarna zbóż (jęczmień, żyto, ryż, pszenica), jabłka, owoce cytrusowe, orzechy, sliwki, musztarda, kakao, ziemniaki, pomidory, papryka, pieprz, tytoń, marchew, pietruszka, seler oraz niektóre przyprawy. Do grupy produktów alergicznych pochodzenia zwierzęcego należą: mięso wieprzowe i wołowe, mleko krowie i kozie, ryby, skorupiaki, mięczaki oraz jaja i mięso kur, gęsi, kaczek, indyków (18).

Alergie pokarmową u niemowląt i dzieci wywołują głównie produkty pochodzenia zwierzęcego, natomiast u dorosłych produkty pochodzenia roślinnego. Najczęstszym źródłem alergenów powodujących nadwrażliwość pokarmową u dzieci starszych są białka jaja kurzego, orzeszki ziemne, ryby, a dopiero na czwartym miejscu mleko krowie. Inne produkty, takie jak: soja, groszek, soczewica, wołowina, skorupiaki, musztarda, orzechy laskowe, orzechy kokosowe, szynka oraz inne (nasiona zbóż, owoce) są w mniejszym stopniu przyczyną alergii u dzieci (18).

Jednym z głównych objawów alergii pokarmowych jest wstrząs anafilaktyczny. Powodują go białka jaja kurzego, seler, orzeszki ziemne, owoce morza i przyprawy. Na wstrząs anafilaktyczny narażeni są szczególnie chorzy na astmę. Reakcja wstrząsowa może pojawiać się natychmiast po spożyciu pokarmu i mogą jej towarzyszyć inne objawy, takie jak: wymioty, nudności, tachykardia, biegunka, hipotonia (2). W przypadku mleka – pierwszego pokarmu spożywanego przez człowieka, charakterystycznymi objawami alergii pokarmowej jest skaza atopowa. Niemowlę ma wtedy czerwone i szorstkie policzki oraz suchą skórę. Innymi objawami nadwrażliwości na mleko są: nieżyt nosa, wymioty, biegunka, bóle brzucha, dychawica oskrzelowa, pokrzywka oraz anafilaksja. Wraz z wiekiem i wprowadzaniem do diety nowych produktów, organizm dziecka może reagować na inne alergeny pokarmowe (18, 19).

Symptomami alergii pokarmowej ze strony układu oddechowego mogą być astma, nieżyt nosa lub obrzęk naczynioruchowy. Objawami alergii manifestowanymi przez układ pokarmowy są m. in.: zespół alergii jamy ustnej, alergiczne eozynofilowe

zapalenie przełyku, jelit, czy żołądka oraz zapalenie jelita i okrężnicy. Alergia pokarmowa może objawiać się zmianami skórnymi np. wysypką, pokrzywką, obrzękiem naczynioruchowym. Nadwrażliwość na pokarmy może być manifestowana m. in. poprzez nieprawidłowości w funkcjonowaniu niektórych narządów np. wzroku, czego objawem jest zapalenie spojówek (2). Innymi objawami alergii pokarmowych mogą być zaburzenia snu, migrena, przewlekłe zmęczenie, obrzęki stóp, dłoni oraz stawów (14, 18, 19).

Do problemów klinicznych związanych z alergią pokarmową należy krzyżowa reaktywność pokarmowa. Planowanie diety eliminacyjnej u chorego na alergię wymaga zwrócenia szczególnej uwagi na powiązania filogenetyczne występujące między różnymi gatunkami zwierząt (20). Przykład wystąpienia reakcji krzyżowej u pacjenta uczulonego na białka jaja kurzego opisali *Nowacki i Mika* (20). Objawami alergii, jakie wystąpiły u badanego pacjenta w wyniku spożycia jaj kurzych były: atopowe zapalenie skóry, nieżyt nosa oraz astma. Eliminacja z diety pacjenta jaj kurzych i zastąpienie ich jajami przepiórczymi powodowała wystąpienie reakcji krzyżowej manifestowanej pokrzywką i wymiotami (20).

Alergia pokarmowa jako problem medyczny, żywieniowy i społeczny

Problem występowania alergii pokarmowych u ludzi jest rozpatrywany wielopłaszczyznowo. Poprawa jakości życia alergików często związana jest z postawieniem prawidłowej diagnozy, wykonaniem odpowiednich testów medycznych (m. in. testów skórnych, określenia ilości przeciwciał w surowicy, określenia ilości pokarmu nie-wywołującej niepożądanych reakcji). Kluczowe jest przeprowadzenie dokładnego wywiadu z pacjentem celem ustalenia, czy alergia jest IgE-zależna czy IgE-niezależna. Ponadto, dane uzyskane na podstawie wywiadu powinny być potwierdzone lub wykluczone poprzez wykonanie testów diagnostycznych. Zaleca się pacjentom prowadzenie dzienniczka obserwacji, co jest pomocne w poszukiwaniu „właściwego alergenu” w diecie (7).

Obok stosowanych środków farmakologicznych, leczenie alergii pokarmowych polega na eliminowaniu z diety żywności (również jej składników) o właściwościach alergennych, co jak dotąd uznawane jest za najbardziej skuteczną terapię (21). W przypadku osób chorych na chorobę trzewną, produkty takie, jak pieczywo pszenne, makarony należy zastąpić innymi, niezawierającymi glutenu (15). Modyfikacja składników żywności alergennej stanowi także wyzwanie dla technologów żywności. W przypadku żywności zawierającej gluten podejmowane są próby jego detoksykacji za pomocą enzymów proteolitycznych (22, 23).

Konsekwencją wynikającą ze stosowania restrykcyjnej diety przez osoby chore na alergię pokarmowe jest wprowadzanie na rynek żywności zmodyfikowanej. Problem niesie za sobą konsekwencje natury ekonomicznej (żywność dla grupy spersonalizowanej jest droższa) oraz technologicznej (wprowadzanie zamienników, dodatków do żywności) (24). Znakowanie żywności ułatwia osobom z alergią oraz nietolerancją pokarmową unikać kontaktu z uczulającymi składnikami żywności. Na mocy dyrektywy nr 2003/89/WE z dnia 10 listopada 2003 roku wprowadzono obowiązek umieszczania na etykiecie produktu żywnościowego informacji o obecności w nim składników alergennych. W oparciu o wymienioną dyrektywę wprowadzono

zmiany do rozporządzenia Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 28 maja 2008 roku (Dz. U. nr 93, poz. 595). Do rozporządzenia dodano załącznik, w którym zdefiniowano 14 grup produktów mających status potencjalnych alergenów. Na mocy wymienionej regulacji prawnej substancja uczulająca obecna w żywności w formie naturalnej lub zmienionej musi być wymieniona na etykiecie produktu. Na etykiecie należy podać pochodzenie alergenu (np. kazeina z mleka) (25).

Alergia pokarmowa jest problemem społecznym, który nie jest do końca poznany. *Kaczmarski* i współpr. (3) podają, że występowaniu alergii pokarmowych u ludzi towarzyszą zjawiska niekorzystne społecznie, które dotyczą chorego oraz jego rodziny. Są to m. in. ryzyko popełnienia błędu dietetycznego wynikające ze stosowania się do zaleceń diety eliminacyjnej, izolacja od środowiska rówieśniczego i pracowniczego, niska samoocena na skutek widocznych dla otoczenia zmian skórnych, czego konsekwencją jest absencja w szkole lub pracy, stres i wzmożona „czujność” przy przygotowywaniu posiłków. W odniesieniu do różnych sfer życia prywatnego i publicznego (rodzina, praca, dom) oraz działalności sektorów medycznego, spożywczego oraz ekonomicznego, potencjalne skutki społeczne występowania alergii pokarmowych nie zostały jeszcze poznane (3).

Podsumowanie

Alergie pokarmowe są problemem dotykającym coraz więcej ludzi. Problem występowania alergii pokarmowych jest wielopłaszczyznowy i obejmuje m. in. prawidłową diagnozę medyczną, przestrzeganie zaleceń dietetycznych przez pacjenta oraz aspekty społeczne. Występowanie alergii pokarmowych u ludzi jest uzależnione od kilku czynników, takich jak dieta, nawyki żywieniowe oraz region zamieszkania. Prawidłowo skomponowana dieta odgrywa kluczową rolę w profilaktyce chorób dietozależnych, w tym alergii pokarmowej. Znakowanie żywności stanowi duże ułatwienie w komponowaniu posiłków i przyczynia się do poprawy jakości życia alergików.

M. Protasiewicz, A. Iwaniak

FOOD ALLERGY AND FOOD ALLERGENS

PIŚMIENNICTWO

1. *Pałgan K., Bartuzi Z.*: Czynniki genetyczne i środowiskowe w rozwoju alergii na pokarmy. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 385-391. – 2. *Bartuzi Z.*: Alergia na pokarmy dorosłych w praktyce lekarskiej. *Post. Dermatol. Alergol.*, 2009; 26(5): 385-387. – 3. *Kaczmarski M., Korotkiewicz-Kaczmarska E., Bobrus-Chociej A.*: Aspekty epidemiologiczne, kliniczne i społeczne alergii pokarmowej. *Cz. III. Aspekty społeczne alergii pokarmowej. Przegl. Pediatr.*, 2009; 39(2): 139-142. – 4. *Jędrusek-Golińska A., Klarzyńska E.*: Wiedza na temat alergii pokarmowej w różnych grupach zawodowych na terenie Poznania. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009; 43(3): 1006-1010. – 5. *Jędrusek-Golińska A., Piasecka-Kwiatkowska D., Heś M., Małecka K.*: Wiedza na temat alergii pokarmowej wśród uczniów Zespołu Szkół Gastronomicznych w Bydgoszczy. *Nauka Przym. Technol.*, 2010; 4(2): 1-20. – 6. *Kruszewski J.*: Początki alergologii. *Alergia*, 2005; 4(26): 5-9. – 7. *Skypala I.*: Nadwrażliwość pokarmowa – alergia i nietolerancja pokarmowa. W: *Payne A., Barker H.*: *Dietetyka i żywienie kliniczne*. Elsevier Urban & Partner, 2013: 53-71. – 8. *Kurek*

M.: Alergia i pseudoalergia pokarmowa młodzieży i osób dorosłych. *Alergia Astma Immunologia*, 1998; 3(2): 66-75. – 9. *Skypala I.*: Adverse food reactions – an emerging issue for adults. *J. Am. Diet Assoc.*, 2011; 111(12): 1877-1891. – 10. *Jędrychowski L., Wróblewska B., Szymkiewicz A.*: State of the art on food allergies – a review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2008; 58(2): 165-175.

11. *Jędrychowski L., Wróblewska B.*: Definicje, źródła i metody analizy białek i innych składników żywności powodujących nadwrażliwość pokarmową. W: *Dziuba J., Fornal L.*: Biologicznie aktywne peptydy i białka żywności. WNT Warszawa, 2009; 271-296. – 12. *Schwarz G., Carlsson S.*: Alergie pokarmowe. Przyczyny, rozpoznawanie, prawidłowe odżywianie. PZWL Warszawa, 2003; 11-41. – 13. *Cielecka E. M., Dereń K., Grzegorzczak A.*: Nadwrażliwość pokarmowa. *Alergia Astma Immunologia*, 2010; 15(3): 118-124. – 14. *Filipiak-Florkiewicz A., Ponikiwia M., Topolska K., Florkiewicz A., Cieślak E.*: Częstość występowania chorób alergicznych wśród studentów. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2013; 46(4): 462-473. – 15. *Darewicz M., Dziuba J.*: Dietozależny charakter enteropatii pokarmowych na przykładzie celiakii. *Żywn. Nauka Technol. Jakość*, 2007; 1(50): 5-15. – 16. *Sicherer S. H.*: Food allergy, when, how to perform oral food challenges. *Pediatr. Allergy Immunolog.*, 1999; 10: 226-234. – 17. *Sicherer S. H.*: Food allergy. *Lancet*, 2002; 360: 701-710. – 18. *Jarosz M., Dzieniszewski J.*: Alergie Pokarmowe. PZWL Warszawa, 2004; 30. – 19. *Chórek-Borowska S., Wiśniewski K.*: Farmakoterapia chorób alergicznych. PZWL Warszawa, 1993. – 20. *Nowacki Z., Mika M.*: Alergia krzyżowa na jajo przepiórki i jajo strusia u 6-letniego chłopca uczulonego na jajo kurze – opis przypadku. *Post. Dermatol. Alergol.*, 2010; 27(6): 515-521.

21. *Cianferoni A., Spergel J. M.*: Food allergy: review, classification and diagnosis. *Allergology Int.*, 2009; 58: 457-466. – 22. *Kong X., Zhou H., Quian H.*: Enzymatic preparations and functional properties of wheat gluten hydrolysates. *Food Chem.*, 2007; 101: 615-620. – 23. *Siegel M., Bethune M. T., Gass J., Ehren J., Xia J., Johannsen A., Stuge T. B., Gray G. M., Lee P. P., Khosla C.*: Rational design of combination enzyme therapy for celiac sprue. *Chem. Biol.*, 2006; 13: 649-658. – 24. *Darewicz M., Dziuba J., Jaszczak L.*: Celiakia – aspekty molekularne, technologiczne, dietetyczne. *Przem. Spoż.*, 2011; 65(1): 29-32. – 25. *Palka R.*: Alergeny pokarmowe a znakowanie żywności. *Gospodarka Mięsna*, 2009; 8: 38-42.

Adres: 10-719 Olsztyn, pl. Cieszyński 1

BROMATOLOGIA I CHEMIA TOKSYKOLOGICZNA

Journal of health and environmental
research

The online version of the published magazine is a primal version

VOL. XLVII

2014

No. 2

CONTENS

<i>J. Biernat, M. Drzewicka, K. Łoźna, J. Hyla, M. Bronkowska, H. Grajeta</i> : Content of fatty acids in commercially available nuts and seeds in the context of healthy dietary guidelines	121
<i>L. Łyczko, Z. Walczak, M. Starzycki</i> : Zawartość tłuszczu oraz profil kwasów tłuszczowych w wybranych typach musztard	130
<i>B. Paszczyk</i> : Fatty acids and <i>trans</i> isomers in bread spread cottage cheeses	137
<i>B. Paszczyk</i> : Evaluation of fatty acid profile and <i>trans</i> isomers of the curd cheeses	144
<i>A. Telesiński, M. Platkowski, D. Jadcak</i> : Antioxidant properties of fruits of chosen butternut squash (<i>Cucurbita moschata</i> Duch.) cultivars	150
<i>J. Cieślewicz, A. Grzelakowska</i> : Content of polyphenols in selected brands of green tea	155
<i>S. Przybylska</i> : The effect of metal ions on the colour and β -carotene content in sterilised carrot pulp	163
<i>M. Bilek, N. Matłok, J. Gorzelany, J. Kaniuczak</i> : Application of the HPLC-ELSD and HPIC-CD methods to evaluate chemical composition of greenhouse tomato fruits	172
<i>M. Rajkowska-Mysłiwiec, A. Pohoryło, M. Protasowicki</i> : Microelements and toxic metals in edible mushrooms collected in the forest of west pomeranian voivodeship	180
<i>E. Piotrowska, A. Broniecka, M. Frańczak, M. Bronkowska, J. Wyka, J. Biernat</i> : Impact of the socioeconomic conditions on the diets and dietary habits of 13-15 year-old juvenile people from wrocław and its vicinity	186
<i>A. Broniecka, M. Habanova, E. Bator, J. Wyka, M. Bronkowska</i> : Comparison of selected lifestyle factors and dietary habits of polish and slovak students	196
<i>Z. Goluch-Koniuszy</i> : The evaluation of influence, on animal model, of diet change and its supplementation with group B vitamins on total antioxidative potential of plasma measured with frap method	204
<i>K. Bielawska, M. Malinowska, M. Cyuńczyk</i> : Systemic effects of coumarins in humans	213
<i>I. Cieślik, E. Cieślik</i> : The content of dioxins, furans and pcbs in fodder and human food	222
<i>J. Borawska, M. Darewicz, A. Iwaniak, P. Minkiewicz</i> : Biologically active peptides from food proteins as factors preventing diet-related diseases	230
<i>M. Protasiewicz, A. Iwaniak</i> : Food allergy and food allergens	237

REDAKCJA

Redaktor Naczelny: prof. UM dr hab. Anna Wędzisz

Adres Redakcji: 90-151 Łódź, ul. Muszyńskiego 1, tel. 42 677 91 40

KOMITET REDAKCYJNY

dr hab. Jerzy Bertrandt (Warszawa), prof. dr hab. Anna Brzozowska (Warszawa),
dr hab. Halina Grajeta (Wrocław), prof. dr hab. Regina Olędzka (Warszawa),
mgr inż. Grażyna Rychter (Warszawa), prof. dr hab. Piotr Szefer (Gdańsk),
prof. dr hab. Bogumiła Urbanek-Karłowska (Warszawa)

Wydawca

POLSKIE TOWARZYSTWO FARMACEUTYCZNE

DZIAŁ WYDAWNICTW – Redaktor Prowadzący: Hanna Plata

00-238 Warszawa, ul. Długa 16

tel. 22 831 02 41; fax 22 635 84 43

Czasopismo indeksowane/abstraktowane przez Biological Abstracts, Chemicals Abstracts, Nutrition Abstracts and Reviews Series A: Human and Experimental; Nutrition Abstracts and Reviews Series B: Livestock Feeds and Feeding, Apicultural Abstracts, Food Science and Technology Abstracts, Excerpta Medica, Agro-Librex