

Dagmara Orzeł, Monika Bronkowska, Marzena Styczyńska

WPLYW SKROBI OPORNEJ RS4 W DIETACH WYSOKOTŁUSZCZOWYCH NA ABSORPCJE WAPNIA I FOSFORU U SZCZURÓW *WISTAR*

Zakład Żywienia Człowieka Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu
Kierownik: prof. dr hab. *J. Biernat*

Badano wpływ skrobi odpornej RS4 w dietach wysokotłuszczowych na absorpcje wapnia i fosforu u szczurów Wistar. Zwierzęta (4 grupy samców n = 32) karmiono 4 rodzajami diet: kontrolną z 15% dodatkiem oleju sojowego (K₁) i kontrolną z 15% dodatkiem smalcu (K₂) oraz odpowiednio 2 grupy z 10% dodatkiem preparatu skrobi odpornej RS4 (K_{1S} i K_{2S}). Po trzytygodniowym okresie adaptacyjnym zwierzęta umieszczono w klatkach metabolicznych. Przez kolejne 3 dni mierzono spożycie paszy oraz zbierano kał. Wykonano oznaczenia zawartości Ca i P w dietach i kale metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej. Obliczono absorpcje Ca i P u szczurów na podstawie różnicy zawartości tych składników w spożywanych dietach a ilością tych pierwiastków wydalanych z kałem. Stwierdzono zwiększenie absorpcji pozornej wapnia i fosforu odpowiednio o ok. 4 i 17% w grupie zwierząt karmionych dietą wysokotłuszczową (smalec + cholesterol) z dodatkiem preparatu skrobi odpornej RS4 (K_{2S}) w porównaniu do ich grupy kontrolnej (K₂).

Hasła kluczowe: skrobia oporna, absorpcja Ca i P, szczury *Wistar*.
Key words: resistant starch, Ca and P absorption, *Wistar* rats.

Wapń i fosfor są składnikami mineralnymi niezbędnymi do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Niedobory fosforu występują bardzo rzadko, ponieważ pierwiastek ten w stosunkowo dużych ilościach występuje w żywności nieprzetworzonej i jest stosowany jako dodatek w trakcie procesów technologicznych wielu produktów żywnościowych. Nadmiar fosforu w organizmie może powodować m.in. nadczynność przytarczyc, obniżenie wydajności procesu syntezy kalcytriolu oraz zmniejszenie stężenia wapnia we krwi i jego wchłaniania w jelitach, czego efektem jest uruchamianie rezerwy wapnia z kości (1). Zaburzenia gospodarki wapniowo-fosforowej oraz niedobór wapnia w dietach u dzieci powoduje krzywicę, a u dorosłych demineralizację prowadzącą do obniżenia wytrzymałości mechanicznej kości, co w efekcie końcowym powoduje liczne i skomplikowane złamania o charakterze osteoporotycznym (1, 2, 3). Bezpośrednim skutkiem długotrwałych niedoborów wapnia mogą być: nadciśnienie tętnicze, różnego rodzaju alergie, zmiany o charakterze nowotworowym w odcinku jelita grubego i cienkiego, jak również zmiany w układzie nerwowym (4, 5). Dlatego ważne jest odpowiednie pobieranie wapnia i fosforu z całodzienną racją pokarmową oraz ich prawidłowe wchłanianie z przewodu pokarmowego.

Do lepszego wchłaniania składników mineralnych z diety może przyczynić się skrobia oporna (Resistant Starch – RS). Ze względu na właściwości prozdrowotne stała się ona w ostatnich latach przedmiotem licznych badań (6, 7, 8, 9). Skrobia oporna zwiększa przyswajalność składników mineralnych m.in.: wapnia, fosforu, magnezu, żelaza, miedzi, cynku w jelicie grubym. Może to stanowić istotną różnicę między błonnikiem pokarmowym, którego zwiększone spożycie ogranicza wchłanianie związków mineralnych (10, 11, 12).

Celem pracy była ocena wpływu preparatu skrobi opornej RS4 w dietach wysokotłuszczowych na absorpcję wapnia i fosforu u szczurów *Wistar*. Do badań zastosowano wysokoenergetyczne diety, które odzwierciedlały nieracjonalny sposób żywienia populacji krajów ekonomicznie rozwiniętych i rozwijających, przyczyniający się do rozwoju chorób cywilizacyjnych.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie przeprowadzono na grupie 32 szczurów – samców *Wistar* o średniej początkowej masie ciała 276 g. Zwierzęta pochodziły ze Zwierzętarń Zakładu Anatomii Patologicznej Akademii Medycznej we Wrocławiu. Uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach przy Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu. Zwierzęta były hodowane w przystosowanych do tego celu klatkach ze stałym dostępem do paszy i wody. Szczury losowo podzielono na cztery grupy ze względu na rodzaj spożywanych diet (po 8 szt./grupę). Skład ilościowy każdej z nich przedstawiono w tab. I. Zwierzęta karmiono syntetyczną dietą dla gryzoni laboratoryjnych AIN – 93 M (13), odpowiednio zmodyfikowaną. We wszystkich dietach zwiększono zawartość tłuszczu do 15%. Grupy K_1 i K_{1S} otrzymywały w diecie tłuszcz roślinny – olej sojowy, natomiast grupy K_2 i K_{2S} – tłuszcz zwierzęcy – smalec oraz 1% dodatek cholesterolu.

Szczury z grup K_{1S} i K_{2S} otrzymywały diety wzbogacone o dodatek skrobi opornej, która została przygotowana w Katedrze Technologii Rolnej i Przechowalnictwa Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Do badań wykorzystano fosforan monoskrobiowy sporządzony z ziemniaczanej skrobi rozpuszczalnej. Na podstawie stopnia scukrzenia tego preparatu, pod wpływem glukoamylazy w temp. 60°C w czasie 120 min., określono stopień jego oporności. Następnie obliczono dodatek preparatu RS do diet K_{1S} i K_{2S} , tak aby zawierały one 100 g skrobi opornej na 1 kg paszy.

Szczury otrzymywały eksperymentalne diety przez 4 tygodnie. W 3 tygodniu badań zwierzęta umieszczono w klatkach metabolicznych. Po kilkudniowym okresie adaptacyjnym, przez kolejne 3 doby mierzono spożycie paszy oraz zbierano kał. Zwierzęta miały nieograniczony dostęp do paszy i wody. Wykonano oznaczenia zawartości Mg i Fe w dietach i kale metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej przy użyciu aparatu spektrometrii atomowej firmy Varian AA 240FS. Obliczono absorpcje pozorne Ca i P (%) u szczurów na podstawie różnicy zawartości tych składników w spożywanych dietach a ilością Ca i P wydalanego z kałem. W doświadczeniu wzięto pod uwagę zawartość Ca i P w spożywanej wodzie i wydalonym moczu, ale ilości te były nieistotne statystycznie w porównaniu do zawartości tych składników w pobieranych dietach i wydalonym kale.

Tabela I. Skład ilościowy diet doświadczalnych

Table I. Quantitative composition of experimental diets

Składnik diety	Dieta			
	K ₁	K ₂	K _{1S}	K _{2S}
	g/kg diety			
Celuloza	50,00	50,00	50,00	50,00
Cholesterol	–	1,00	–	1,00
Cholina	2,50	2,50	2,50	2,50
Cysteina	1,80	1,80	1,80	1,80
Kazeina	140,00	140,00	140,00	140,00
Tłuszcz roślinny – olej sojowy	150,00	–	150,00	–
Sacharoza	100,00	100,00	100,00	100,00
Składniki mineralne – mieszanka AIN-93M-MX	35,00	35,00	35,00	35,00
Skrobia oporna	–	–	227,20	227,20
Skrobia pszenna	506,85	505,85	279,65	278,65
Tłuszcz zwierzęcy – smalec	–	150,00	–	150,00
Witamina E	3,85	3,85	3,85	3,85
Witaminy płynne	10,00	10,00	10,00	10,00

Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono za pomocą programu Statistica 6.0 PL. Wpływ preparatu skrobi opornej RS4 w dietach na wchłanianie wapnia i fosforu u szczurów doświadczalnych oceniono metodą jednokierunkowej analizy wariancji ANOVA. Do testowania różnic między wartościami średnimi wykorzystano test *Duncana*, przy poziomie istotności $p < 0,05$. W tab. II i III tą samą literą oznaczono grupy jednorodnie statystycznie.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W tab. II przedstawiono średnie zawartości wapnia i fosforu w podawanych zwierzętom dietach oraz wydalonym kale. Średnie stężenia wapnia w badanych paszach były jednorodnie statystycznie. W grupach szczurów karmionych dietami z dodatkiem skrobi opornej (K_{1S} i K_{2S}) stwierdzono 2–3-krotnie wyższe zawartości fosforu w porównaniu do diet kontrolnych. Wyższe stężenia tego pierwiastka w dietach ze skrobią oporną spowodowane były dodatkiem fosforanu monoskrobiowego jako źródła RS. Zawartości wapnia w wydalonym kale nie wykazały statystycznie istotnych różnic we wszystkich grupach zwierząt. Średnie stężenia fosforu w kale szczurów z grup K_{1S} i K_{2S} były ok. 2–2,5-krotnie wyższe w porównaniu do ich grup kontrolnych.

W tab. III przedstawiono absorpcje pozorne wapnia i fosforu u badanych szczurów w zależności od rodzaju zastosowanej diety. Nie wykazano statystycznie istotnych

różnic w absorpcji wapnia i fosforu u szczurów karmionych dietami z tłuszczem roślinnym (K_1) oraz tłuszczem roślinnym i skrobią oporną (K_{1S}). U zwierząt karmionych dietą z dodatkiem tłuszczu zwierzęcego i cholesterolu (K_2) zaobserwowano statystycznie istotnie niższe średnie wartości absorpcji wapnia i fosforu w porównaniu do absorpcji tych pierwiastków w pozostałych grupach szczurów. Dodatek skrobi opornej RS4 do diety z tłuszczem zwierzęcym i cholesterolem (K_{2S}) spowodował wzrost średniej absorpcji pozornej wapnia i fosforu odpowiednio o 4 i 17% w porównaniu do grupy kontrolnej (K_2).

Tab e l a II. Średnia zawartość wapnia i fosforu w dietach i wydalonym kale badanych szczurów ($\bar{x} \pm SD$)

Table II. Mean contents of calcium and phosphorus in diets and excreted faeces of examined rats (mean $\bar{x} \pm SD$)

Rodzaj diety	Zawartość Ca w dietach	Zawartość P w dietach	Zawartość Ca w kale	Zawartość P w kale
	mg/100 g			
K_1	1178,5 \pm 109,7 a	82,2 \pm 23,1 a	320,2 \pm 51,8 a	74,0 \pm 16,4 a
K_{1S}	1144,3 \pm 160,9 a	165,6 \pm 6,7 b	341,9 \pm 40,8 a	133,3 \pm 21,6 b
K_2	1241,1 \pm 79,9 a	76,1 \pm 3,3 a	342,0 \pm 44,7 a	65,5 \pm 1,8 a
K_{2S}	1222,3 \pm 136,1 a	244,5 \pm 12,4 b	362,4 \pm 20,9 a	158,6 \pm 22,1 b

1-czynnikowa *Anova*, różnice statystycznie istotne $p < 0,05$; tą samą literą zaznaczono grupy jednorodne statystycznie.

Tab e l a III. Wpływ skrobi opornej RS4 na absorpcję pozorną wapnia i fosforu u szczurów ($\bar{x} \pm SD$)

Table III. Effect of RS4 resistant starch on the apparent absorption of calcium and phosphorus in rats (mean $\bar{x} \pm SD$)

Grupa zwierząt	Ca			P		
	pobranie z diety (mg/dzień)	wydalanie z kałem (mg/dzień)	absorpcja pozorna (% pobrania)	pobranie z diety (mg/dzień)	wydalanie z kałem (mg/dzień)	absorpcja pozorna (% pobrania)
K_1 (n = 8)	209,9 \pm 1,1 a	11,7 \pm 0,8 a	94,4 \pm 2,4 a	14,6 \pm 0,2 a	2,7 \pm 0,8 a	81,5 \pm 5,1 a
K_{1S} (n = 8)	176,6 \pm 1,4 ab	9,4 \pm 0,7 a	94,7 \pm 3,4 a	25,5 \pm 0,1 b	3,7 \pm 0,6 a	85,5 \pm 4,2 a
K_2 (n = 8)	147,8 \pm 1,7 b	15,3 \pm 0,6 b	89,6 \pm 3,8 b	9,1 \pm 0,2 a	2,9 \pm 0,5 a	68,1 \pm 3,1 b
K_{2S} (n = 8)	193,1 \pm 1,2 a	12,6 \pm 0,8 ab	93,5 \pm 2,9 a	38,6 \pm 1,1 b	5,5 \pm 0,6 a	85,5 \pm 4,1 a

1-czynnikowa *Anova*, różnice statystycznie istotne $p < 0,05$; tą samą literą zaznaczono grupy jednorodne statystycznie.

W badaniach *Younesa* i współpr. (14) stwierdzono wzrost absorpcji wapnia o 8% u szczurów karmionych dietą z 15% dodatkiem skrobi opornej RS1 (surowej skrobi ziemniaczanej) w porównaniu do grupy kontrolnej. Wykazano istotny wzrost absorpcji badanego składnika mineralnego (o 30%) po spożyciu diety z dodatkiem skrobi opornej i inuliny.

Badania *Lopez* i współprac. (15) wykazały korzystny wpływ 20% dodatku skrobi opornej RS1 (surowej skrobi ziemniaczanej) do diet szczurów na wchłanianie składników mineralnych. Absorpcje wapnia i fosforu w grupie zwierząt otrzymujących skrobię oporną wzrosły odpowiednio o 15% i 11% w porównaniu do grupy kontrolnej. Dodatek do diety otrąb pszennych jako źródła błonnika pokarmowego nie wpłynął korzystnie na absorpcje składników mineralnych u badanych szczurów.

Stwierdzono zwiększenie stopnia wchłaniania wapnia o ok. 12–14% u szczurów karmionych dietami z dodatkiem ziemniaczanej i kukurydzianej skrobi opornej RS2 w porównaniu do zwierząt w grupach kontrolnych (16).

Badania *Schulza* i współprac. (17) wykazały o 10% większą absorpcję wapnia u szczurów karmionych dietą z dodatkiem skrobi opornej RS2 w porównaniu do diety kontrolnej. Nie stwierdzono korzystnego wpływu skrobi opornej RS2 na absorpcję fosforu oraz skrobi opornej RS3 na wchłanianie wapnia i fosforu.

Badania większości autorów potwierdzają korzystny wpływ różnych rodzajów skrobi opornych na absorpcję składników mineralnych u szczurów. Wiąże się to z powiększeniem jelita ślepego u zwierząt karmionych dietami z dodatkiem modyfikowanych skrobi, co równocześnie zwiększa powierzchnię absorpcji pierwiastków. Kwasy SCFA przyspieszają przepływ krwi w krążeniu jelitowym, sprzyja to lepszej wymianie jonów i szybszemu wchłanianiu składników mineralnych. Powstające podczas fermentacji skrobi opornej przy współdziałaniu flory bakteryjnej krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (SCFA) obniżają pH treści jelita ślepego powodując dysocjację związków chemicznych. Zwiększa to poziom pierwiastków w formie jonowej, która jest łatwiej wchłaniana (16, 17, 18, 19). Kwasy SCFA mogą tworzyć kompleksy ze składnikami mineralnymi, które na zasadzie transportu aktywnego są wchłaniane z przewodu pokarmowego (14, 20).

WNIOSKI

1. Stwierdzono wzrost absorpcji pozornej wapnia i fosforu odpowiednio o ok. 4 i 17% w grupie zwierząt karmionych dietą wysokotłuszczową (smalec + cholesterol) z dodatkiem preparatu skrobi opornej RS4 (K_{2S}) w porównaniu do ich grupy kontrolnej (K_2).

2. Nie stwierdzono wpływu 10% dodatku skrobi opornej RS4 w diecie z dodatkiem tłuszczu roślinnego na wchłanianie wapnia i fosforu u badanych szczurów.

D. Orzeł, M. Bronkowska, M. Styczyńska

THE INFLUENCE OF RESISTANT STARCH RS4 IN HIGH-FAT DIETS ON CALCIUM AND PHOSPHORUS ABSORPTION IN WISTAR RATS

Summary

The effect of resistant starch RS4 on apparent absorption of calcium and phosphorus was studied in Wistar rats. The rats (4 groups, males, $n=32$) were fed for 4 weeks the following diets: control with addition of 15% of soybean oil (K_1); control with addition of 15% lard (K_2), and 2 diets with addition of 10% modified resistant starch RS4 (K_{1S} and K_{2S} , respectively). After an adaptation period (21 days), rats were transferred to metabolic cages. Dietary intake and faeces were monitored for 3 days, Ca and P levels were

assessed in diets and faeces by atomic absorption spectrometry. The absorption of minerals was calculated as mineral intake minus faecal excretion and expressed as percentage of intake. Our results confirmed that Ca and P apparent absorption in rats fed diet with high-fat (lard + cholesterol) and resistant starch (K_{28}) was significantly increased (Ca by 4%; P by 17%) compared with the control group (K_2).

PIŚMIENNICTWO

1. *Calvo M.S., Park Y.K.*: Changing phosphorus content of the U.S. diet: potential for adverse effects on bone. *J. Nutr.*, 1996; 126: 1168S-1180S. – 2. *Atkinson S.A., Ward W.E.*: Clinical nutrition: 2. The role of nutrition in the prevention and treatment of adult osteoporosis. *Can. Med. Assoc. J.*, 2001; 165: 1511-1514. – 3. *Lorenc S.R.*: Znaczenie spożycia wapnia w fizjologii i patologii człowieka. *Żyw. Żywnienie Zdrow.*, 1994; 96. – 4. *Bronner F., Pansu D.*: Nutritional aspects of calcium absorption. *J. Nutr.*, 1999; 129: 9-12. – 5. *Hardwick L.L., Jones M.R., Brautbar N., Lee D.B.N.*: Magnesium absorption: mechanism and influence of vitamin D, calcium and phosphate. *J. Nutr.*, 1991; 121: 13-23. – 6. *Greger J.L.*, Non-digestible carbohydrates and mineral bioavailability. *J. Nutr.*, 1999; 129: 1434-1435. – 7. *Nugent A.P.*: Health properties of resistant starch. *Brit. Nutr., Foundat Nutr. Bulletin* 2005; 30: 27-54. – 8. *Haralampu S.G.*: Resistant starch – a review of the physical properties and biological impact of RS3. *Carbohydrate Polymers*, 2000; 41: 285-292. – 9. *Bird A.R., Brown I.L., Topping D.L.*: Starches, resistant starches, the gut microflora and human health. *Curr. Issues. Intest. Microbiol.*, 2000; 1: 25-37. – 10. *Lopez H.W., Coudray C., Bellanger J., Younes H., Demigne C., Remesy C.*: Intestinal fermentation lessens the inhibitory effects of phytic acid on mineral utilization in rats. *J. Nutr.*, 1998; 128: 1192-1198.

11. *Morais M.B., Feste A., Miller R.G., Lifschitz C.H.*: Effect of resistant and digestible starch on intestinal absorption of calcium, iron and zinc in infant pigs. *Pediat. Res.*, 1996; 39: 872-876. – 12. *Younes H., Demigne C., Remesy C.*: Acidic fermentation in the caecum increases absorption of calcium and magnesium in the large intestine of the rat. *Brit. J. Nutr.*, 1996; 75: 301-314. – 13. *Reeves P.G., Nielsen F.H., Fahy 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-76A rodent diet. *J. Nutr.*, 1993; 123: 1939-1951. – 14. *Younes H., Coudray Ch., Bellanger J., Demigne Ch., Rayssiguier Y., Remesy Ch.*: Effects of two carbohydrates (inulin and resistant starch) and their combination on calcium and magnesium absorption balance in rats. *Brit. J. Nutr.*, 2001; 86: 479-485. – 15. *Lopez H.W., Coudray C., Bellanger J., Levrat-Verny M., Demigne C., Rayssiguier Y., Remesy C.*: Resistant Starch improves mineral assimilation in rats adapted to a wheat bran diet. *Nutr. Res.*, 2000; 20(1): 141-155. – 16. *Lopez H.W., Levrat-Verny M.A., Coudray C., Besson C., Krespine V., Messenger A., Demigne C., Remesy C.*: Class 2 resistant starch lower plasma and liver lipids and improve mineral retention in rats. *J. Nutr.*, 2001; 131: 1283-1289. – 17. *Schulz A.G.M., Beynen A.C.*: Dietary native resistant starch but not retrograded resistant starch raises magnesium and calcium absorption in rats. *J. Nutr.*, 1993; 123: 1724-1731. – 18. *Ohta A., Ohtsuki M., Baba S., Adachi T., Sakata T., Sakaguchi E.*: Calcium and magnesium absorption from the colon and rectum are increased in rats fed fructooligosaccharides. *J. Nutr.*, 1995; 125: 2417-2424. – 19. *Topping L., Clifton P.M.*: Short – Chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiol. Rev.*, 2001; 15: 529-533. – 20. *Lopez H.W., Coudray C., Bellanger J., Younes H., Demigne C., Remesy C.*: Intestinal fermentation lessens the inhibitory effects of phytic acid on mineral utilization in rats. *J. Nutr.*, 1998; 128: 1192-1198.

Adres: 50-375 Wrocław, ul. Norwida 25.