

Ewa Stasiuk, Piotr Przybyłowski

THE IMPACT OF THE MODIFIED METHOD
OF USING KNO_3 ON THE FORMATION
OF VOLATILE *N*-NITROSAMINES IN GOUDA CHEESE

Katedra Towaroznawstwa i Ładunkoznawstwa
Wydziału Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa Akademii Morskiej w Gdyni
Kierownik: prof. dr hab. inż. *P. Przybyłowski*

*The paper presents the modified method of saltpetre addition, which comprises adding KNO_3 to brine instead to cheese-making milk. Cheese produced in such a way does not show a greater content of *N*-nitrosamines in comparison to the cheese produced in a traditional method. The modified method of using KNO_3 during the production of a Dutch type Gouda rennet cheese enables obtaining nitrate-free whey in the production process.*

Key words: *N*-nitrosamines, Gouda, nitrates V, nitrate-free whey.

Hasła kluczowe: *N*-nitrozoaminy, ser Gouda, azotany, serwatka bezazotanowa

Cheese of good quality can be obtained from milk of high microbiological purity. Yet, in practice, in spite of pasteurisation at $72^{\circ}C \div 75^{\circ}C$, milk used to produce cheese very frequently contains some *coli* bacteria. Therefore, Polish dairies add 0.01–0.02% saltpetre to milk in the process of ripening rennet cheese production. For sanitary reasons, however, it has been attempted to reduce to a minimum the level of nitrates, and especially nitrates III in food. Nitrates V and III may undergo changes resulting in formation of carcinogenic *N*-nitrosamines in food products, also in cheese. This is why cheese is a product officially monitored for its content of nitrates and nitrites (1, 2, 3, 4, 5).

N-nitrosamines may appear in food, drugs, cosmetics, pesticides, tobacco smoke and ambient air, especially the air polluted by industrial plants (6, 7, 8, 9). The products in which *N*-nitrosamines have been detected include fish, meat and meat products, cheese, alcoholic drinks (beer) and also powdered milk for babies. *N*-nitroso compounds may also be found in human and animal digestive tract, especially in the stomach.

Carcinogenic *N*-nitrosamines are formed most frequently as a result of the reaction of nitrosating the amines II and III (10, 11). Carcinogenic properties of *N*-nitrosamines require monitoring their content in food, especially in products that are consumed every day, such as cheese (12). In Poland, the content of *N*-nitrosamines in cheese was studied by *Przybyłowski, Śmiechowska, Kartowski* and other authors (3, 9, 13).

The addition of saltpetre to cheese-making milk in the process of cheese production has an impact on the presence of nitrates V and III in cheese and whey. It may also influence the formation of carcinogenic *N*-nitrosamines. The aim of this work was to examine how the modified method of using KNO_3 (KNO_3 added to brine instead of adding it to cheese-making milk) affects the formation of *N*-nitrosamines in the ripening cheese.

MATERIAL AND METHOD

The experiments were performed in a commercial plant manufacturing Dutch Gouda-type ripening rennet cheese. Three series of examinations were carried out. Gouda cheese was produced according to the following experimental set:

- A – cheese made of milk without the addition of KNO_3 was pressed and immersed in 0.05% KNO_3 brine,
- B – cheese made of milk without the addition of KNO_3 was pressed and immersed in 0.10% KNO_3 brine,
- C – cheese made of milk without the addition of KNO_3 was pressed and immersed in 0.15% KNO_3 brine,
- D – cheese made of milk without the addition of KNO_3 was pressed and immersed in brine without the addition of KNO_3
- K – control cheese, made of milk containing 0.02% KNO_3 ; after being pressed, the cheese was immersed in KNO_3 – free brine.

The blocks of cheese were about 6 kg each; after cutting, they were immersed in brine as specified above for 48 hours. After that, the cheese was left to ripen for about 6 weeks at 10°C to 12°C and 80% to 90% relative humidity. Samples of cheese produced in each of the five variants were collected (from 3 blocks of cheese per each variant) for examinations.

Volatile *N*-nitrosamines in cheese were determined in two stages. The first stage was to prepare extracts, the other – to make a qualitative and quantitative analysis with the use of a gas chromatograph coupled to an analyser of thermal energy.

The extract was prepared by mixing 50 g cheese sample with redistilled water. Next, NaCl , K_2CO_3 were added and the whole mixture was homogenised. The homogenates were distilled in a vacuum evaporator and potassium hydroxide was added to the distillates. Then, they were saturated with NaCl and extracted with dichloromethane. The resultant extract was dried by anhydrous Na_2SO_4 and concentrated in a Kuderna (Denmark) set to the volume of about 5 cm^3 . The content of volatile *N*-nitrosamines in the concentrated extracts was determined with the use of a VARIAN 1440 Gas Chromatograph coupled to a Thermal Energy Analyser (TEA 502A). The measurements were performed at the National Veterinary Institute (Państwowy Instytut Weterynaryjny) in Puławy. The operating conditions of the chromatograph were:

- spiral glass column 3 m \times 2 mm,
- filling: 10% Carbowax 20M-TPA on Chromosorb W-MP 100/120 mesh,
- temp. of the column: 170°C (443K),
- injecting temp.: 200°C (473K),
- carrier gas: helium, 25 \div 30 $\text{cm}^3/\text{min.}$,

The operating characteristics of the Thermal Energy Analyser, TEA 502A provided with CR-TGas Stream Filter were:

- temp. of pyrolyzer oven: 475°C (748K),
- oxygen flow rate: 15 \div 20 $\text{cm}^3/\text{min.}$,
- pressure: 0.3 \div 0.5 Tor.

The qualitative and quantitative identification was performed by comparing the resultant fractions with the chromatograms of standard solutions of NDMA and NDEA *N*-nitrosamines. The detection limit of the method was 0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

RESULTS AND DISCUSSION

The content of volatile *N*-nitrosamines in Gouda cheese is presented in tab. I and II. The effect of the following variables on the level of *N*-nitrosamines in Gouda cheese was analysed: examination series, cheese block, and experiment variant. Two-way analysis of variance was performed with the aid of the STATISTICA PL software from Statsoft Polska Sp. z o.o. The results of the statistical analysis for NDMA and NDEA are presented in tab. III.

Tabela I
Zawartość NDMA w serach gouda ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Table I
Content of NDMA in Gouda cheese ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Series	Blocks	Experiment variants – the content of NDMA ($\mu\text{g}/\text{kg}$)				
		A	B	C	D	K
I	n = 3	0.26	0.33	0.27	0.32	0.22
		0.30	0.21	0.28	0.20	0.09
		0.17	0.21	0.22	0.16	0.21
II	n = 3	0.26	0.29	0.21	0.09	0.18
		0.17	0.25	0.11	0.16	0.28
		0.30	0.33	0.32	0.17	0.15
III	n = 3	0.22	0.00	0.00	0.15	0.19
		0.13	0.18	0.09	0.14	0.00
		0.23	0.00	0.28	0.55	0.13

Tabela II
Zawartość NDEA w serach gouda ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Table II
Contents of NDEA in Gouda cheese ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Series	Blocks	Experiment variants – the content of NDEA ($\mu\text{g}/\text{kg}$)				
		A	B	C	D	K
I	n = 3	0.39	0.39	0.44	1.44	0.38
		0.54	0.30	0.62	0.32	0.36
		0.02	0.39	0.63	0.26	0.50
II	n = 3	0.28	0.55	0.61	0.50	0.47
		0.65	0.52	0.25	0.34	0.42
		0.25	0.40	0.28	0.45	0.35
III	n = 3	0.54	0.56	0.00	0.49	0.61
		0.42	0.26	0.06	0.58	0.38
		0.07	0.65	0.75	0.48	0.33

A total of 45 samples were examined: NDMA was detected in 41, and NDEA in 44 of the samples. The content of NDMA ranged from 0.0 to 0.55 $\mu\text{g}/\text{kg}$, whereas NDEA content was from 0.0 to 1.44 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

The levels of *N*-nitrosamines detected in Gouda cheese show that the addition of KNO_3 to brine (instead to milk) does not cause any considerable changes in the content of *N*-nitrosamines in the cheese. *N*-nitrosamines were on the same level as in the control variant of cheese. A, B and C cheese showed the maximum content of NDEA: 0.65, 0.65 and 0.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively, whereas the corresponding value for the K cheese (control) was 0.61 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Tabela III
Wyniki analizy wariancji dla sera gouda

Table III
Results of variance analysis for Gouda cheese

Source of variation	Value of test F		
	NDMA	NDEA	F _{tab.}
Experiment series	2.668020	0.199752	F _{2,30;0,05} = 3.32
Experiment variant	0.570708	0.711826	F _{4,8;0,05} = 3.84
Interaction: Series x variant	1.489409	0.498596	F _{8,30;0,05} = 2.27
Cheese block	0.989040	1.441380	F _{2,30;0,05} = 3.32
Experiment variant	0.467067	0.924230	F _{4,8;0,05} = 3.84
Interaction: Block x varian	0.455862	1.677363	F _{8,30;0,05} = 2.27

F – Fisher-Snedecor constant, significance $\alpha = 0.05$.

The analysis of variance did not show any relationship between the level of either NDMA or NDEA in cheese and the variant of the experiment, cheese block, or experiment series. No interaction was observed between these factors either. The two-way analysis of variance used: 1 – series and the experiment variant, 2 – cheese block and the experiment variant as independent (between-group) variables at the level of significance $\alpha = 0.05\%$. The coefficient F for independent variables 1 (series, variant) and the dependant variable NDMA was equal to 2.6680 and 0.5707 respectively, whereas for the dependant variable NDEA it was 0.1997 and 0.7118.

With between-group variables 2 (block, variant) the coefficients of variation were 0.9890 and 0.4670 for NDMA, and 1.4413 and 0.9242 for NDEA, respectively. The values of the coefficients F show no significant effect ($\alpha = 0.05$) of these sources of variation on the content of NDMA and NDEA in the examined cheese samples.

Both NDMA and NDEA are *N*-nitrosamines most frequently found in cheese. They may form due to the transformation of nitrates V to nitrates III, which are precursors of *N*-nitrosamines. Fox (14) reports that the possible nitrate V \rightarrow *N*-nitrosamine transformation was the reason for banning the use of saltpetre from ripening cheese production.

Śmiechowska et al. (9), who examined the occurrence of *N*-nitrosamines in cheese noticed that NDMA commonly appeared at the level of $0.04 \div 3.79 \mu\text{g}/\text{kg}$. She noted higher amounts of NDMA in single cheese samples (maximum: $168.80 \mu\text{g}/\text{kg}$), whereas NDEA was present only in few samples. *Śmiechowska* examined also the occurrence of other *N*-nitrosamines, such as NDPA, NDBA, N-PEP, N-PYR and N-MOR. Yet, their presence in cheese was occasional and had nothing to do with the addition of KNO_3 to milk, while it was somewhat associated with the degree of cheese ripening. In her research, *Śmiechowska* has discovered in Gouda and Edam cheese an *N*-nitro compound which has not been yet described in the literature and whose retention time is somewhere between that for NDEA and NDPA. Also *Przybyłowski et al.* (3) detected NDMA in cheese samples, where the maximum level of NDMA was $30 \mu\text{g}/\text{kg}$. Out of 90 analysed cheese samples, the NDMA was detected in 7 Gouda and in 4 Żuław cheese samples. *Przybyłowski* proved that NDMA occurred only in cheese produced from milk of poor microbiological quality (milk after pasteurisation with $10^{-1} \div 10^{-4}$ *coli* titre).

Karłowski (6) confirmed the occurrence of *N*-nitrosamines in food and determined the level of NDMA for ripening cheese to be from 0.2 to $0.4 \mu\text{g}/\text{kg}$ and of NDEA within $0.1 \div 0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$. NDMA was found in five, and NDEA in four of 22 cheese samples.

Przybyłowski et al. (3) suggest that *N*-nitrosamines are produced in cheese due to *coli* enzymes or metabolites. On the other hand, *Karłowski* associates *N*-nitrosamines contamination of milk products with the presence of nitrates V in milk (15).

Literature data show that nitrosamines may also appear in powdered milk for babies. *Lijinsky* (7) reported that the highest detected level of NDMA in powdered milk was $4.5 \mu\text{g}/\text{kg}$. Yet, *Roderick J. Weston* (16) did not detect the presence of NDMA in milk powder. Moreover, he did not see the correlation between the level of the content of *N*-nitrosamines and the content of nitrates V and III. *Karłowski* (6), while examining powdered milk for babies, noted the occurrence of NDMA in 68% of the samples at the level ranging from 0.1 to $0.6 \mu\text{g}/\text{kg}$. The presence of *N*-nitroso compounds in powdered

milk is very alarming, since this product is for babies and for a certain period of life it constitutes the major food for them.

Data on daily *N*-nitrosamine dietary intakes show that fish, beer and corned meat products constitute the main source of *N*-nitroso compounds in food (6). Dairy products and milk (except for powdered milk – the main nutrient for babies) do not contribute significantly to the intake of *N*-nitroso compounds. *Mitacek et al.* (17) examined *N*-nitrosamine intake with Thai food. They noticed that the main source of these compounds in the diet were meat products and fish, especially dishes prepared from them. However, it is necessary to monitor the content of *N*-nitrosamines in all food products, because the diet is one of the main factors affecting the quality and length of human life.

CONCLUSIONS

Immersing cheese in brine containing 0.05 ÷ 0.15% KNO₃ does not increase the risk of NDMA and NDEA forming in ripening cheese. Thus, it is possible to replace the traditional method involving KNO₃ addition to cheese-making milk with the method of immersing cheese in brine with added KNO₃. The advantage of such a method is obtaining nitrate-free whey during the production process.

E. Stasiuk, P. Przybyłowski

WPLYW ZMODYFIKOWANEGO SPOSOBU STOSOWANIA KNO₃ NA MOŻLIWOŚĆ TWORZENIA SIĘ LOTNYCH N-NITROZOAMIN W SERACH GOUDA

Streszczenie

W warunkach przemysłowych wyprodukowano sery gouda. W pracy zastosowano zmodyfikowany sposób dodawania saletry potasowej polegający na dodawaniu KNO₃ do solanki, a nie do mleka serowarskiego. Tak wyprodukowane sery nie wykazywały większych zawartości *N*-nitrozoamin w stosunku do serów wyprodukowanych metodą tradycyjną. W serach wariantów doświadczalnych stwierdzono maksymalnie 0,33 g/kg NDMA i 0,75 g/kg NDEA. Zmodyfikowany sposób stosowania KNO₃ w produkcji serów podpuszczkowych typu holenderskiego – gouda, pozwala na otrzymywanie w procesie produkcyjnym serwatki bezazotanowej.

REFERENCES

1. *Nabrzyński M., Ganowiak Z.*: Problem obecności w żywności powstających naturalnie oraz tworzących się w czasie procesów technologicznych związków rakotwórczych. *Roczn. PZH.* 1992; (3-4): 223-233. – 2. *Nabrzyński M., Gajewska R.*: Zawartości azotanów i azotynów w owocach i warzywach oraz niektórych innych środkach spożywczych. *Roczn. PZH.* 1994; (3): 167-180. – 3. *Przybyłowski P., Kiszka J., Karłowski K., Sajko W., Urbańska J., Janicka B.*: Badania występowania azotanów i produktów ich przemian w mleku i wyrobach mleczarskich. Cz. II. Charakterystyka przemian azotanów i azotynów podczas produkcji i dojrzewania serów typu edamskiego i żuławskiego. *Roczn. PZH.* 1987; (3): 214-228. 4. *Zbieć M.*: Azotany i azotyny w żywności. Występowanie i metody badań. *Normalizacja.* 1995; (2): 7-11. – 5. Zgłoszenie patentowe nr P 352082 na projekt wynalazczy pt.: Solenie serów podpuszczkowych dojrzewających typu holenderskiego i szwajcarskiego – autorzy: *P. Przybyłowski, E. Stasiuk, J. Tatarynowicz.* – 6. *Karłowski K., Bojewski J.*: Zawartość *N*-nitrozoamin w wybranych środkach spożywczych. *Roczn. PZH.* 1981; (5-6): 403-409. – 7. *Lijński W.*: *N*-nitroso compounds in the diet. *Mutation Research.* 1999; (443): 129-138. – 8. *Obiedziński M., Korzycka-Iwanow M.*: Zanieczyszczenia chemiczne żywności, krytyczne wyróżniki jakości i bezpieczeństwa żywności. *Przemysł Spożywczy.* 2005; (2): 10-12, 38. – 9. *Śmiechowska M., Przybyłowski P., Kowalski B.*: Study of formation of volatile *N*-nitrosamines in żuław, gouda and edam cheese.. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences.* 1994; (3): 71-80. – 10. *Mirvish S.S.*: Role of *N*-nitroso compounds (NOC) and

N-nitrosation in etiology of gastric, esophageal, nasopharyngeal and bladder cancer and contribution to cancer of known exposures to NOC. *Cancer Letters*. 1995; (1): 17-48.

11. *Szumilak K.*: Mechanizm tworzenia się *N*-nitrozoamin. *Bromat. Chem. Toksykol.* 1983; XIV (1): 75-79. – 12. *Piekut M.*: Spożycie serów w Polsce. *Przegląd Mleczarski*. 2004; (12): 4-9. – 13. *Karłowski K., Bojewski J.*: Badanie krajowych serów dojrzewających na obecność azotanów i lotnych *N*-nitrozoamin. *Roczn. PZH*. 1987; (38): 199-201. – 14. *Fox P.F., Stepaniak L.*: Enzymy w technologii mleczarskiej. Cz.I, Enzymy egzogenne. *Przemysł Spożywczy*. 1994; (2): 52-54. – 15. *Karłowski K., Bojewski J.*: Występowanie azotanów i azotynów w żywności. Cz. I. Środki spożywcze przeznaczone dla niemowląt i dzieci. *Roczn. PZH*. 1983; 34 (1): 41-46. – 16. *Roderick J. Weston*: Trace Amount of Nitrosamines in Powdered Milk and Milk Protein. *J. Sci. Food Agric.* 1983; (34): 893-895. – 17. *Mitacek E.J., Brunemann K.D., Suttajit M., Martin N., Limsila T., Ohshima H., Caplan L.S.*: Exposure to *N*-nitroso compounds in a population of high liver cancer regions in Thailand: Volatile nitrosamine (VNA) levels in Thai food. *Food and Chemical Toxicology*. 1999; (37): 297-30.

Adres: 81-225 Gdynia, ul. Morska 81-87.

Małgorzata Grembecka, Ewa Malinowska, Wioletta Moufakkir, Piotr Szefer

ZAWARTOŚĆ PIERWIASTKÓW CHEMICZNYCH W KAWACH MIELONYCH I ROZPUSZCZALNYCH Z UWZGLĘDNIENIEM OCENY STOPNIA ICH ŁUGOWANIA DO NAPARU

Katedra i Zakład Bromatologii Akademii Medycznej w Gdańsku
Kierownik: prof. dr hab. P. Szefer

Oznaczono zawartość magnezu, miedzi, manganu i fosforu w kawach mielonych i rozpuszczalnych. Oceniono także wydajność procesu ługowania analizowanych pierwiastków z kawy do naparu oraz realizację zalecanego dziennego zapotrzebowania na niezbędne składniki mineralne.

Hasła kluczowe: składniki mineralne, kawa mielona, kawa rozpuszczalna, proces ługowania.

Key words: mineral components, ground coffee, soluble coffee, leaching.

Kawa ze względu na korzystne walory sensoryczne jest środkiem spożywczym będącym niejednokrotnie stałym elementem codziennej diety każdego człowieka. Uprawiana jest blisko w 50 krajach świata, wśród których największymi producentami są: Brazylia (dostarczająca jedną trzecią tego surowca), Kostaryka, Jemen, Haiti, Republika Dominikany, Kuba, Kenia, Hawaje, Uganda, Zambia i Zimbabwe (1, 2, 3, 4). Jej uprawy zajmują ok. 11 mln ha powierzchni (5, 6, 7). Rozróżnia się ok. 40 gatunków kawy, ale tylko trzy z nich mają gospodarcze i użytkowe znaczenie: kawa arabska, dająca najbardziej cenną arabikę, kawa kongijska, z której otrzymywana jest gorszej jakości robusta i kawa liberyjska.

Od wielu lat na całym świecie obserwuje się ciągły wzrost spożycia kawy, która oprócz wspaniałego smaku, aromatu i barwy odznacza się również zróżnicowaną zawartością składników mineralnych. Zarówno różnorodność odmian, jak i położenie geograficzne, warunki klimatyczne, praktyki kulturowe oraz sposób fermentacji mogą mieć wpływ na skład chemiczny poszczególnych gatunków kawy dostępnych w sprzedaży.

Badania wykazały, że w ziarnie kawowym występuje wiele różnych związków chemicznych (8). Skład chemiczny kawy palonej różni się od składu kawy surowej. Kawa zielona zawiera: 1,5–2,3% alkaloidu kofeiny, niewielkie ilości teobrominy i teofiliny, do 15% tłuszczu, 8% cukrów, 7% soli mineralnych (K, Na, Mg, P, Ca, Fe, Cu, Zn, Mn), alkaloid trygonelinę, pektyny, 13% białek, 11% wody, 1,2% substancji garbnikowych i 24% błonnika. Kawa palona zawiera mniej kofeiny i cukrów, a więcej substancji aromatycznych. Ważnym składnikiem kształującym smak i aromat są polifenole, występujące w łącznej ilości ok. 8%. Są to głównie:

kwask chlorogenowy, chinowy i kawowy. Kwask chlorogenowy ma ściągający, lekko kwaśny smak, służy do oceny właściwości smakowych naparów poszczególnych gatunków kaw. Gatunek Arabica zawiera nieco mniej tego kwasu niż Robusta lub mieszanka tych kaw (1, 9, 10, 11).

Napój kawowy spożywany jest nie tylko ze względów aromatyczno- smakowych, ale również z uwagi na zawartą w nim kofeinę. Najistotniejsze dla ludzi pijących kawę jest pobudzające działanie kofeiny na cały ośrodkowy układ nerwowy, a zwłaszcza korę mózgową, co skutkuje poprawą koncentracji i pamięci oraz zmniejszeniem uczucia zmęczenia, znużenia i senności (1). Ponad 99% konsumowanej kofeiny jest absorbowane z przewodu pokarmowego i osiąga najwyższy poziom we krwi w ciągu 15–45 min. (1, 9).

MATERIAŁ I METODYKA

Przedmiot badań stanowiły różne gatunki kawy mielonej i rozpuszczalnej dostępne w sprzedaży na naszym rynku. Charakterystykę produktów poddanych analizie przedstawiono w tab. I.

W celu oszacowania stopnia przechodzenia oznaczanych metali do ekstraktu analizowano równolegle napary sporządzone z tych samych gatunków kawy.

Tabela I
Charakterystyka materiału badawczego

Table I
Characteristic of research material

Lp.	Nazwa handlowa kawy	Charakterystyka produktu
1	Elite Optima	Kawa mielona, mieszanka ziaren
2	Elite Sahara	Kawa mielona, mieszanka kaw
3	Jacobs Krönung	Kawa mielona, mieszanka kaw
4	Jacobs Aroma	Kawa mielona
5	Maxwell House	Kawa mielona, ziarna z górskich plantacji
6	Cafe Prima Arabica	Mieszanka kaw mielonych z rejonów tropikalnych Ameryki Łacińskiej, Afryki i Azji
7	Cafe Prima Rumba	Kawa mielona, mieszanka standardów kaw z rejonów tropikalnych Afryki i Azji
8	Cafe Prima Niebieska	100% kawy mielonej z rejonów tropikalnych Ameryki Łacińskiej, Afryki i Azji
9	Vivenza Classic	Kawa mielona, kompozycja ziaren z Ameryki Płd. i Azji
10	Tchibo Family	Kawa mielona, ziarna wysokiej jakości ze światowych upraw
11	Astra Cafe	Kawa mielona, 100% Cafe de Colombia, oryginalna arabika z wysokogórskich plantacji Kolumbii
12	Astra Excellens	Kawa mielona, mieszanka Arabiki z Etiopii, Kolumbii i Brazylii
13	Davidoff Cafe	Kawa mielona, bogaty aromat, 100% arabiki
14	Elite Cafe Active Pedro's	Kawa mielona
15	MK Cafe Premium	Kawa naturalna, drobno mielona
16	Woseba Domowa	Kawa naturalna, mielona, mieszanka kaw z Azji, Afryki i Ameryki Płd.
17	Jacobs Krönung	Kawa rozpuszczalna, mieszanka kaw z najlepszych plantacji, liofilizowana
18	Maxwell House	Kawa rozpuszczalna aglomerowana, 100% naturalnej kawy z górskich plantacji
19	Nescafe Gold	Kawa rozpuszczalna, kompozycja ziaren arabiki i robusty
20	Tchibo Family	100% kawy naturalnej rozpuszczalnej

Z każdego analizowanego gatunku kawy odważano w tygłach kwarcowych po trzy próbki o masie od 5 do 10 g (z dokładnością do 0,0001 g) oraz sporządzano napary. W celu sporządzenia naparu kawowego pobierano ok. 6 g suchego produktu, odważkę zalewano 150 cm³ wrzącej wody wodociągowej i pozostawiano do zaparzenia pod przykryciem w ciągu 5 min. Następnie uzyskany napar sączono przez bibułę filtracyjną i dalej postępowano jak z postacią suchą. Jednocześnie dla każdej serii nparów sporządzano próbki kontrolne z wody wodociągowej.

Badane pierwiastki (Mg, Cu, Mn) po uprzedniej mineralizacji „na sucho” oznaczano za pomocą spektrometrii atomowo-absorpcyjnej przy użyciu aparatu AAS PU 9100X firmy Philips. Zastosowano atomizację płomieniową i deuterową korekcję tła. Stężenia manganu i miedzi oznaczano bezpośrednio z mineralizatu. Natomiast w przypadku magnezu, ze względu na jego wysokie poziomy w badanym materiale, sporządzono rozcieńczenia 1:100 z dodatkiem 0,1% roztworu chlorku lantanu jako buforu korygującego. Oznaczenia zawartości fosforu dokonano za pomocą metody kolorymetrycznej z wytworzeniem błękitu fosfomolibdenowego. Absorbancję barwnego kompleksu mierzono się przy dł. fali 650 nm. Równocześnie analizowano próbki kontrolne.

Dokładność i precyzję pomiarów analitycznych sprawdzano na drodze analizy dwóch materiałów referencyjnych, tj. Cabbage IAEA – 359 i Spinach IAEA – 331. Uzyskano zgodność pomiędzy wynikami badań własnych, a wartościami deklarowanymi dla materiałów referencyjnych. Wartość odzysku oszacowana dla wyników badań kontrolnych oraz wartości deklarowanych dla materiałów referencyjnych wynosiła od 80,3 do 107%.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Wyniki oznaczeń metali w kawach mielonych i rozpuszczalnych zebrano w tab. II i III.

W próbkach kaw mielonych (tab. II) zawartość manganu wahała się od 1,65 do 4,06 mg/100 g produktu, średnio 2,23 mg/100 g. Najwyższą zawartość (4,06 mg/100 g) stwierdzono w kawie Cafe Prima Arabica, natomiast najniższe stężenie oznaczono w kawie Elite Cafe Active Pedro's (1,65 mg/100 g). Pozostałe gatunki kawy charakteryzowały się zbliżoną zawartością manganu.

Błoniarz i Buliński (8) oznaczyli w kawach mielonych zawartość manganu w przedziale stężeń od 1,35 do 2,9 mg/100 g, co stanowi wynik zbliżony do otrzymanego w badaniach własnych. Podobne wyniki badań przedstawili *Olędzka i Sędrowicz* (12), u których zawartość manganu była w granicach 1,28–2,89 mg/100 g. *Cyran i Nowak* (13) w wyniku przeprowadzonych analiz kawy Jacobs i Orient otrzymali średnią zawartość tego metalu wynoszącą odpowiednio 1,91 i 1,99 mg/100 g. Podobne zawartości manganu (1,96 mg/100 g) zostały oznaczone przez *Martin'a* i współpr. (14). Nieco wyższe poziomy manganu w kawach Jacobs oznaczono w niniejszej pracy, gdzie średnia zawartość wynosiła 2,44 mg/100 g. *Falandysz i Kotecka* (15) stwierdzili podobne stężenie manganu w kawach nieznanego pochodzenia wynoszące 2,3 mg/100 g. Zawartość manganu w kawach mielonych w przedziale wartości od 1,83 do 3,77 mg/100 g podają *Anderson i Smith* (16).

Tabela II

Zawartość pierwiastków chemicznych (mg/100 g produktu rynkowego) w kawach mielonych dostępnych w sprzedaży na polskim rynku

Table II

Content of mineral elements in ground coffee brands available in the Polish market (mg/100 g)

Nazwa produktu	Mg	P	Cu	Mn
	$\bar{x} \pm SD$ zakres			
Elite Optima	196 ± 32,3 (163–228)	236 ± 3,51 (232–238)	1,81 ± 0,03 (1,77–1,84)	1,86 ± 0,04 (1,84–1,91)
Elite Sahara	211 ± 14,5 (199–227)	224 ± 8,65 (214–230)	1,70 ± 0,03 (1,68–1,74)	2,10 ± 0,19 (1,88–2,24)
Jacobs Krönung	205 ± 17,0 (193–224)	194 ± 0,78 (193–195)	1,62 ± 0,04 (1,58–1,66)	2,83 ± 0,45 (2,31–3,13)
Jacobs Aroma	218 ± 3,84 (214–221)	212 ± 3,74 (209–216)	1,80 ± 0,04 (1,76–1,83)	2,04 ± 0,03 (2,01–2,06)

Tabela II (cd.)

Nazwa produktu	Mg	P	Cu	Mn
	$\bar{x} \pm SD$ zakres			
Maxwell House	224 ± 19,4 (203–242)	214 ± 3,22 (211–217)	1,99 ± 0,02 (1,97–2,01)	1,66 ± 0,03 (1,64–1,69)
Cafe Prima Arabica	217 ± 11,4 (204–227)	197 ± 3,61 (194–201)	1,67 ± 0,08 (1,62–1,76)	4,06 ± 0,21 (3,91–4,21)
Cafe Prima Rumba	209 ± 12,6 (197–222)	224 ± 4,90 (219–228)	1,59 ± 0,01 (1,58–1,60)	2,28 ± 0,05 (2,24–2,31)
Cafe Prima Niebieska	217 ± 8,77 (207–223)	214 ± 3,44 (210–216)	1,60 ± 0,02 (1,58–1,62)	2,07 ± 0,17 (1,92–2,26)
Vivenza Classic	224 ± 10,4 (218–236)	267 ± 1,78 (265–269)	1,92 ± 0,02 (1,90–1,94)	1,98 ± 0,01 (1,97–1,99)
Tchibo Family	180 ± 9,58 (169–186)	209 ± 4,76 (203–212)	1,77 ± 0,04 (1,72–1,80)	2,13 ± 0,03 (2,09–2,16)
Astra Cafe	223,5 ± 28,6 (196–253)	201 ± 2,70 (198–203)	1,36 ± 0,01 (1,35–1,37)	2,25 ± 0,02 (2,24–2,26)
Astra Excellens	212 ± 4,14 (209–215)	190 ± 7,21 (183–198)	1,52 ± 0,01 (1,51–1,54)	2,18 ± 0,07 (2,13–2,26)
Davidoff Cafe	225 ± 22,3 (202–246)	207 ± 6,92 (200–213)	1,40 ± 0,04 (1,36–1,44)	2,51 ± 0,31 (2,15–2,70)
Elite Cafe Active Pedro's	208 ± 23,7 (189–235)	242 ± 7,28 (236–241)	1,65 ± 0,04 (1,61–1,68)	1,65 ± 0,05 (1,60–1,70)
MK Cafe Premium	230 ± 27,8 (204–260)	198 ± 4,78 (195–204)	1,41 ± 0,06 (1,37–1,47)	2,20 ± 0,05 (2,16–2,24)
Woseba Domowa	230 ± 6,65 (225–237)	220 ± 5,75 (214–226)	1,70 ± 0,02 (1,68–1,72)	1,86 ± 0,00 (1,86–1,86)
Elite Optima	196 ± 32,3 (163–228)	236 ± 3,51 (232–238)	1,81 ± 0,03 (1,77–1,84)	1,86 ± 0,04 (1,84–1,91)
Elite Sahara	211 ± 14,5 (199–227)	224 ± 8,65 (214–230)	1,70 ± 0,03 (1,68–1,74)	2,10 ± 0,19 (1,88–2,24)
Jacobs Krönung	205 ± 17,0 (193–224)	194 ± 0,78 (193–195)	1,62 ± 0,04 (1,58–1,66)	2,83 ± 0,45 (2,31–3,13)
Jacobs Aroma	218 ± 3,84 (214–221)	212 ± 3,74 (209–216)	1,80 ± 0,04 (1,76–1,83)	2,04 ± 0,03 (2,01–2,06)
Maxwell House	224 ± 19,4 (203–242)	214 ± 3,22 (211–217)	1,99 ± 0,02 (1,97–2,01)	1,66 ± 0,03 (1,64–1,69)
Cafe Prima Arabica	217 ± 11,4 (204–227)	197 ± 3,61 (194–201)	1,67 ± 0,08 (1,62–1,76)	4,06 ± 0,21 (3,91–4,21)
Cafe Prima Rumba	209 ± 12,6 (197–222)	224 ± 4,90 (219–228)	1,59 ± 0,01 (1,58–1,60)	2,28 ± 0,05 (2,24–2,31)
Cafe Prima Niebieska	217 ± 8,77 (207–223)	214 ± 3,44 (210–216)	1,60 ± 0,02 (1,58–1,62)	2,07 ± 0,17 (1,92–2,26)
Vivenza Classic	224 ± 10,4 (218–236)	267 ± 1,78 (265–269)	1,92 ± 0,02 (1,90–1,94)	1,98 ± 0,01 (1,97–1,99)
Tchibo Family	180 ± 9,58 (169–186)	209 ± 4,76 (203–212)	1,77 ± 0,04 (1,72–1,80)	2,13 ± 0,03 (2,09–2,16)
Astra Cafe	223,5 ± 28,6 (196–253)	201 ± 2,70 (198–203)	1,36 ± 0,01 (1,35–1,37)	2,25 ± 0,02 (2,24–2,26)

Tabela III
Zawartość pierwiastków chemicznych (mg/100 g produktu rynkowego) w kawach rozpuszczalnych dostępnych w sprzedaży na polskim rynku

Table III
Content of mineral elements in soluble coffee brands available in the Polish market (mg/100 g)

Nazwa produktu	Mg	P	Cu	Mn
	$\bar{x} \pm SD$ zakres			
Jacobs Krönung	352 ± 22,0 (328–371)	348 ± 15,3 (332–362)	0,07 ± 0,00 (0,06–0,07)	2,01 ± 0,03 (1,99–2,04)
Maxwell House	310 ± 3,56 (307–312)	348 ± 10,8 (341–361)	0,05 ± 0,00 (0,05–0,05)	1,71 ± 0,01 (1,71–1,72)
Nescafe Gold	359 ± 43,5 (312–398)	372 ± 15,4 (359–389)	0,08 ± 0,01 (0,07–0,09)	1,40 ± 0,03 (1,37–1,43)
Tchibo Family	332 ± 15,0 (319–349)	360 ± 4,9 (356–366)	0,08 ± 0,00 (0,08–0,08)	1,26 ± 0,17 (1,16–1,45)

W kawach rozpuszczalnych (tab. III) zawartość manganu mieściła się w granicach od 1,26 do 2,01 mg/100 g, średnio 1,6 mg/100 g, tzn. była niższa w porównaniu z kawami mielonymi. Najwyższe stężenie oznaczono w kawie Jacobs Krönung (2,01 mg/100 g), a najniższe w kawie Tchibo Family (1,26 mg/100 g). *Kłobukowski* (9) w kawach rozpuszczalnych Jacobs stwierdził znacznie niższą średnią zawartość manganu, wynoszącą 0,05 mg/100 g produktu. *Souci* i współpr. (17) podają średnią zawartość manganu w kawach rozpuszczalnych równą 1,8 mg/100 g produktu rynkowego, podczas gdy nieco niższą (1,51 mg/100 g) podają *Santos* i *Oliveira* (3).

W próbkach kaw mielonych (tab. II) zawartość miedzi mieściła się w granicach od 1,36 do 1,99 mg/100 g produktu, średnio 1,66 mg/100 g, przy czym najwyższą zawartość zanotowano w kawie Maxwell House, a najniższą w Astra Cafe. *Błoniarz* i *Buliński* (8) podają średnią zawartość miedzi w badanych kawach mielonych w zakresie od 1,30 do 1,88 mg/100 g, średnio 1,57 mg/100 g. *Ołędzka* i *Sędrowicz* (12) ustalili poziom miedzi w kawach mielonych w granicach od 1,03 do 1,68 mg/100 g. *Cyran* i *Nowak* (13) podali zawartość pierwiastka w kawach Jacobs na średnim poziomie 0,15 mg/100 g, podczas gdy w badaniach własnych średnia ilość w tych kawach wynosiła 1,71 mg/100 g, co stanowi ponad ośmiokrotnie wyższe stężenie w porównaniu z otrzymanym przez powyższych autorów. Zbliżone stężenia do wyników przedstawionych w niniejszej pracy podają *Martin* i współpr. (14) oraz *Anderson* i *Smith* (16).

W kawach rozpuszczalnych (tab. III) zawartość miedzi mieściła się w granicach 0,05–0,08 mg/100 g, średnio 0,07 mg/100 g. Największe ilości pierwiastka stwierdzono w kawie Nescafe Gold i Tchibo Family (0,08 mg/100 g), a najmniej Maxwell House (0,05 mg/100 g). W opracowaniu *Kłobukowskiego* (18) poziom miedzi w kawach rozpuszczalnych Jacobs wynosił średnio 0,152 mg/100 g, podczas gdy w badaniach własnych otrzymano wartość dwukrotnie mniejszą (0,07 mg/100g). *Souci* i współpr. (17) podają zawartość miedzi w kawach instant równą 0,059 mg/100 g. Zawartość miedzi w kawach rozpuszczalnych wg *Santos* i *Oliveira* (3) mieściła się w przedziale od 0,05 do 0,23 mg/100 g.

W próbkach kaw mielonych (tab. II) zawartość fosforu mieściła się w przedziale od 190 do 267 mg/100 g produktu, średnio 216 mg/100 g. Najwyższy poziom metalu oznaczono w kawie Vivenza Classic (267 mg/100 g), a najniższy w Astra Excellens (190 mg/100 g). Podobne wartości zostały stwierdzone przez *Anderson* i *Smith'a* (16), którzy oznaczyli fosfor w przedziale stężeń od 165 do 204 mg/100 g. Nieco niższa zawartość fosforu w kawach mielonych (150 mg/100 g) została oznaczona przez *Martin'a* i współpr. (14). Niemieckie tabele składu i wartości odżywczej żywności (17) podają średnią zawartość miedzi w kawach mielonych na poziomie 192 mg/100 g produktu rynkowego. W tabelach składu i wartości odżywczej żywności opracowanych przez *Kunachowicz* i współpr. (19) średnia ta wynosiła 11 mg/100 g.

W kawach rozpuszczalnych (tab. III) określono zakres stężeń fosforu od 348 do 372 mg/100 g, średnio 357 mg/100 g. Najniższe ilości stwierdzono w kawie Jacobs Krönung i Maxwell House (348 mg/100 g). Wykazano prawie dwukrotnie wyższy poziom fosforu w kawach rozpuszczalnych w porównaniu z mielonymi. *Kłobukowski* (18) podaje średnią zawartość fosforu w kawach rozpuszczalnych Jacobs równą 11,0 mg/100 g, podczas gdy w badaniach własnych średnie stężenie dla kawy rozpuszczalnej Jacobs Krönung wynosiło 348 mg/100 g. *Souci* i współpr. (17) podają zbliżoną do badań

własnych średnią zawartość fosforu w kawach instant na poziomie 400 mg/100 g produktu rynkowego. Także Santos i Oliveira (3) zanotowali podobne stężenie fosforu (350 mg/100g) w kawach rozpuszczalnych.

W próbkach kaw mielonych (tab. II) zawartość magnezu wynosiła od 180 do 230 mg/100 g produktu rynkowego, średnio 220 mg/100 g. Najwyższą wartość oznaczono w kawie MK Cafe Premium i Woseba Domowa (230 mg/100 g), a najniższą w Tchibo Family (180 mg/100 g). Różnice w zawartości magnezu pomiędzy poszczególnymi kawami były niewielkie. Również nieistotne statystycznie różnice w stężeniach ww. pierwiastka w kawach mielonych, wynoszące od 199 do 233 mg/100 g, stwierdzili również Anderson i Smith (16). Według Błoniarz i Zaręby (20) średnia zawartość magnezu była w przedziale od 202 do 255 mg/100 g. Olędzka i Sędrowicz (12) podają średni zakres stężeń od 184,5 do 201,4 mg/100 g. Nieco mniejsze ilości magnezu wynoszące średnio 174,5 i 168 mg/100 g oznaczyli w swych badaniach Chorąży (21) oraz Martin i współpr. (14). Z kolei nieznacznie wyższą średnią zawartość tego pierwiastka uzyskali Cyran i Nowak (13) na podstawie analiz kawy firmy Jacobs, wynoszącą 301,3 mg/100 g produktu. Natomiast w badaniach własnych dla kawy Jacobs średnie stężenie wynosiło 208 mg Mg/100 g. Souci i współpr. (17) podają średnią zawartość magnezu w kawach mielonych na poziomie 210 mg/100 g produktu rynkowego. Według Kunachowicz i współpr. (19) średnie stężenie ww. pierwiastka w różnych gatunkach kawy wynosi 12 mg/100 g.

W kawach rozpuszczalnych (tab. III) ilość magnezu w próbkach wynosiła od 310 do 359 mg/100 g produktu, średnio 338 mg/100 g. Najmniejszą zawartość magnezu oznaczono w kawie Maxwell House (310 mg/100 g), podczas gdy największą w Nescafe Gold (359 mg/100 g). Kłobukowski (18) podaje średnią zawartość magnezu w badanych przez niego próbkach kawy rozpuszczalnej Jacobs wynoszącą średnio 30,0 mg/100 g produktu rynkowego, podczas gdy w badaniach własnych zawartość ww. pierwiastka w kawie Jacobs Krönung była o rząd wielkości większa, bowiem wynosiła 352 mg/100 g. Tablice składu i wartości odżywczej żywności opracowane przez niemieckich ekspertów (17) podają średnie stężenie magnezu w kawach instant wynoszące 403 mg/100 g produktu rynkowego. Podobne do wyników badań własnych zawartości magnezu podają Santos i Oliveira (3), tj. 340 mg/100 g.

Ze względu na fakt, że kawy spożywane są w postaci naparu określono stopień przechodzenia metali do ekstraktu, a wyniki tych badań zamieszczono w tab. IV.

Tabela IV
Procent ługowania składników mineralnych z kawy mielonej do naparu

Table IV
Rate of extraction of the minerals from ground coffee into the infusion

Nazwa produktu	Mg	P	Cu	Mn
	% ługowania			
Elite Optima	52,1	44,9	2,36	19,2
Elite Sahara	46,5	39,3	1,93	16,5
Jacobs Krönung	53,2	41,4	2,47	29,0
Jacobs Aroma	46,5	43,8	3,25	18,0
Maxwell House	34,4	33,4	3,89	14,7
Cafe Prima Arabica	57,2	48,5	1,57	25,9
Cafe Prima Rumba	56,0	39,5	3,37	16,1
Cafe Prima Niebieska	51,3	43,0	1,12	18,5
Vivenza Classic	34,5	35,8	5,19	8,77
Tchibo Family	61,5	49,2	3,42	19,4
Astra Cafe	51,0	38,6	3,88	25,7
Astra Excellens	58,0	40,5	4,31	32,4
Davidoff Cafe	58,2	45,6	2,39	51,5
Elite Cafe Active Pedro's	61,2	44,4	2,90	17,6
MK Cafe Premium	67,6	61,4	4,54	38,9
Woseba Domowa	58,4	44,1	2,28	22,5

Procent ługowania manganu oscylował od 8,77% dla kawy Vivenza Classic do 51,5% dla Davidoff Cafe, średnio 23,4%. *Buliński i Błoniarz* (8), badając zawartość manganu w naparach kaw mielonych stwierdzili, że stopień efektywności ekstrakcji tego metalu do fazy wodnej wyniósł średnio 45,3%. W pracy *Olędzkiej i Sędrowicza* (12) ekstrakcja magnezu przebiegała z wydajnością od 36% do 59,2%.

Procent ługowania miedzi do naparu mieścił się w przedziale od 1,12 (Cafe Prima Niebieska) do 5,19% (Vivenza Classic), średnio 3,05%. *Buliński i Błoniarz* (8) określili średni procent ługowania miedzi dla kaw mielonych 8,2%. Natomiast niewielki stopień ługowania miedzi do naparu sporządzonego „po turecku” zaobserwowali *Olędzka i Sędrowicz* (12); wyniósł on średnio 1,98%, tj. był nieco niższy od uzyskanego w badaniach własnych. Stopień przechodzenia miedzi z kaw mielonych do naparu w pracy *Falandysza i Koteckiej* (15) wyniósł średnio 6,0%.

Średni procent przechodzenia fosforu do ekstraktu wahał się w granicach od 33,4 (Maxwell House) do 61,4% (MK Cafe Premium), średnio 43,3%.

Procent ługowania magnezu oscylował od 34,5% dla Maxwell House do 75,2% dla Tchibo Exclusive, średnio 52,0%. *Błoniarz i Zaręba* (20) podają, że do naparów wodnych kawy mielonej przechodziło średnio od 55,4 do 67,5% magnezu. Średni procent ługowania magnezu wg *Olędzkiej i Sędrowicza* (12) wyniósł 4% dla kaw zaparzanych „po turecku” i ok. 59% dla kawy z ekspresu.

Na podstawie oznaczonego składu mineralnego kaw mielonych i rozpuszczalnych obliczono procent pokrycia zalecanego dziennego zapotrzebowania dla osoby dorosłej na składniki mineralne zawarte w 300 cm³ naparu w porównaniu z zalecanymi normami (22, 23). Wyniki przedstawiono w tab. V.

Tabela V
Ocena dziennego pokrycia zapotrzebowania na składniki mineralne zalecane dla osoby dorosłej

Table V
Intake of minerals vs. recommended daily allowance for adults

Pierwiastek	Zalecane normy dzienne (mg)	Średnia zawartość w 300 cm ³ naparu		Pokrycie zalecanego dziennego pobrania %	
		kawy mielone	kawy rozpuszczalne	kawy mielone	kawy rozpuszczalne
Mg	300–370	13,8±2,72	37,6±3,37	3,72–4,59	10,2–12,5
P	650–900	11,1±1,55	40,5±3,21	1,24–1,72	4,5–6,2
Cu	2–2,5	0,01±0,00	0,01±0,00	0,25–0,32	0,29–0,37
Mn*	2–3	0,07±0,04	0,19±0,04	2,20–3,30	6,38–9,57

* Według danych amerykańskich (2)

Z danych liczbowych zawartych w powyższej tabeli wynika, iż dwie filiżanki naparu kawowego sporządzonego (ok. 300 cm³) z kaw mielonych dostarczają średnio 3,72–4,59% dziennego zapotrzebowania na magnez, 1,24–1,72% na fosfor, 2,20–3,30% na mangan i 0,25–0,32% na miedź. Wartości te w przypadku spożycia tej samej ilości ekstraktu z kawy rozpuszczalnej wynoszą odpowiednio: 10,2–12,5%, 4,5–6,2%, 6,38–9,57% i 0,29–0,37%.

Ogólnie stwierdza się, iż napary kaw rozpuszczalnych zawierają więcej powyższych pierwiastków niż sporządzone z kawy mielonej. Jednak produkt ten nie stanowi znaczącego ich źródła w codziennej diecie.

M. Grembecka, E. Malinowska, W. Moufakkir, P. Szefer

THE CONTENT OF CHEMICAL ELEMENTS IN GROUND
AND SOLUBLE COFFEE AND THE EVALUATION
OF MINERALS LEACHING INTO INFUSIONS

Summary

The determination of mineral nutrients was made in 20 brands of commercially available roasted ground and soluble coffee from different geographic regions obtained from the local market. The contents of chemical elements (Mg, P, Cu, Mn) were determined after dry mineralisation of both ground and instant coffee samples as well as infusions evaporated to dryness. The examined mineral components (except phosphorus) were analysed by flame atomic absorption spectrometry (FAAS). The phosphorus was determined in the form of phosphormolybdate blue by spectrophotometry. Reliability of the procedure was checked by analysis of certified reference materials. The contents of mineral elements, depending on coffee brand, were as follows: 180 to 230 mg Mg; 190–267 mg P; 1.36–1.99 mg Cu and 1.65–4.06 mg Mn in 100 g of examined ground coffee. For soluble coffee grades, the concentrations were: 310 to 359 mg Mg; 348–372 mg P; 0.05–0.08 mg Cu and 1.26 to 2.01 mg Mn in 100 g of the analysed product. Extraction rate of the minerals from ground coffee into the infusion was as follows: Mg 52%; P 43.3%; Cu 3.05% and Mn 23.4%.

PIŚMIENNICTWO

1. *Steinbrich J.*: Ciekawostki nie tylko dla kawiarzy. *Wiad. Ziel.*, 1994; 9: 21-23. – 2. *Trzcionka L.*: Kawa. *Młody Technik* 1990; 10: 36-37. – 3. *dos Santos E.J., de Oliveira E.*: Determination of mineral nutrients and toxic elements in Brazilian soluble coffee by ICP-AES. *J. Food Comp. Anal.*, 2001; 14:523-531. – 4. www.swiatkawy.of.pl. – 5. *Łuków M.*: Tajemnice małej czarnej. *Wiedza i Życie*, 1999; 48-51. – 6. *Nowak T.*: Kawa arabska. *Wiad. Ziel.*, 1988; 11: 13-14. – 7. *Rumińska A., Ożarowski A.*: Leksykon roślin leczniczych. Wydawnictwo PWRiL, Warszawa 1990. – 8. *Błoniarz J., Buliński R.*: Badania zawartości wybranych składników mineralnych w kawach naturalnych i naparach kawowych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1999; 4: 329-339. – 9. *Kłobukowski J.*: Kawa – wpływ na organizm oraz wykorzystanie składników pokarmowych. *Żywnienie a Zdrowie, Materiały Sesji Naukowej*, Gdańsk 1997. – 10. *Kohlmünzer S.*: *Farmakognozja*. Wydawnictwo Lekarskie, PZWL, Warszawa 1993.

11. *Waszkiewicz-Robak B.*: *Towaroznawstwo żywności przetworzonej*. Wydawnictwo SGGW, Warszawa 1999. – 12. *Oleđzka R., Sędrówic Ł.*: Badania zawartości składników mineralnych w kawie i jej naparach. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1999; 4: 397-402. – 13. *Cyran A., Nowak J.*: Mikro – i makroelementy w przyprawach. *Przem. Spoż.*, 1999; 53: 50-51. – 14. *Martin M.J., Pablos F., Gonzalez A.G.*: Characterization of arabica and robusta roasted coffee varieties and mixture resolution according to their metal content. *Food Chem.*, 1999; 66: 365-370. – 15. *Falandysz J., Kotecka W.*: Zawartość miedzi, manganu, cynku i żelaza w ziarnie i naparze kawy naturalnej. *Przem. Spoż.*, 1990; 44: 253-254. – 16. *Anderson K.A., Smith B.W.*: Chemical profiling to differentiate geographic growing origins of coffee. *J. Agric. Food Chem.*, 2002; 50(7): 2068-2075. – 17. *Souci S.W., Fachmann H., Kraut H.*: *Food Composition and Nutrition Tables*. Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart 2002. – 18. *Kłobukowski J.*: Badanie zawartości wybranych składników mineralnych w kawie. XXVIII Sesja Naukowa, *Postępy w Technologii i Chemii Żywności*, Gdańsk 1997. – 19. *Kunachowicz H., Nadolna I., Iwanow K., Przygoda B.*: *Wartość odżywcza wybranych produktów spożywczych i typowych potraw*. Wyd. III. Wydawnictwo Lekarskie, PZWL, Warszawa 2001. – 20. *Błoniarz J., Zaręba S.*: Badania zawartości wybranych składników mineralnych w kawach naturalnych i naparach kawowych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2000; 3: 241-249.

21. *Chorąży W.*: Magnez niedocenionym kationem w diagnostyce i terapii. *Farmacja Polska* 1988; 12: 705-709. – 22. *Panczenko-Kresowska B., Ziemiański Ś.*: Składniki mineralne – ich znaczenie w żywieniu człowieka. W: *Normy żywienia człowieka – fizjologiczne podstawy*. Red. Ziemiański Ś. Wydawnictwo Lekarskie, PZWL, Warszawa 2001. – 23. *Feltman J.*: *Prevention's giant book of health facts. The ultimate reference for personal health*. Rodale Press, Emmaus, Pensylwania 1991.

Ewa Malinowska, Małgorzata Grembecka, Katarzyna Żabko, Piotr Szefer

OCENA ZAWARTOŚCI WYBRANYCH BIOPIERWIASTKÓW W HERBATAKACH ZIOŁOWYCH I MIESZANKACH HERBAT Z DODATKAMI ROŚLINNYMI

Katedra i Zakład Bromatologii Akademii Medycznej w Gdańsku
Kierownik: prof. dr hab. P. Szefer

Celem pracy było określenie zawartości wapnia, magnezu, żelaza, cynku, manganu, miedzi, chromu i niklu w afrykańskich herbatkach ziołowych rooibos i honey bush, południowo amerykańskich yerba mate i lapacho oraz mieszankach herbat czarnych, zielonych i białych z ziołami i dodatkami roślinnymi. Oceniono procent ługowania składników mineralnych do naparu oraz realizację dziennej normy na oznaczane biopierwiastki.

Hasła kluczowe: składniki mineralne, herbatki ziołowe, proces ługowania.
Key words: mineral components, herbal teas, leaching process.

Napary sporządzone z liści krzewu herbacianego *Camellia sinensis* i *Camellia assamica* są znanym i cenionym napojem na całym świecie. Dużą popularnością cieszą się także herbatki ziołowe sporządzane z naturalnych surowców roślinnych tradycyjnie stosowanych w Europie, jak również pochodzące z Azji, Ameryki Południowej czy Afryki. Rośliny lecznicze od dawna są wykorzystywane w leczeniu pomocniczym i profilaktyce wielu schorzeń, zaliczanych do chorób cywilizacyjnych takich, jak: otyłość, cukrzyca, nadciśnienie, miażdżyca, choroba nowotworowa. W swoim składzie zawierają bowiem szereg substancji farmakologicznie czynnych, które wywierają korzystny wpływ na organizm człowieka (1–9). Często surowce roślinne wchodzi w skład środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego, jak i suplementów diety (10).

Czerwonokrzew (*Aspalathus linearis*) powszechnie znany jako rooibos oraz miodokrzew – honey bush (*Cyklopia* sp.) to rośliny endemiczne występujące w Południowej Afryce. Do produkcji herbaty rooibos zbiera się liście czerwonokrzewu, zaś honey bush sporządza się z liści, łodyg i kwiatów kilku odmian miodokrzewu, głównie *Cyklopia intermedia* i *Cyklopia subternata*. W obydwu przypadkach surowiec zbierany z naturalnych stanowisk poddaje się procesowi fermentacji, a następnie suszy na słońcu. W porównaniu z tradycyjną herbatą napary z czerwonokrzewu i miodokrzewu nie zawierają kofeiny, mają niski poziom taniny i naturalnie słodki smak (11, 12). Zawarty w naparach miodokrzewu pinitol, wykazuje właściwości wykrztuśne oraz aktywność przeciwcukrzycową (13).

Spośród surowców roślinnych dużą popularnością cieszą się rośliny azjatyckie, głównie korzeń żeń-szenia (*Panax ginseng*) oraz miłorząb japoński (*Ginkgo*

biloba). Z najnowszych badań wynika, że obecne w korzeniu żeń-szenia ginsenozydy zwiększają zdolność hemoglobiny do przyłączania tlenu i w związku z tym powodują lepsze zaopatrywanie narządów w tlen zwiększając ilość energii i zdolność organizmu do wysiłku fizycznego i psychicznego, a także wykazują właściwości przeciwnowotworowe (9). Natomiast występujące w liściach miłorzębu japońskiego liczne flawonoidy, w tym charakterystyczne dla tej rośliny biflawonoidy m.in. bilobetyna i ginkgolidy wpływają na poprawę krążenia mózgowego i obwodowego, działają przeciwmiażdżycowo i ochronnie na naczynia krwionośne (1, 14).

Pochodzące z Ameryki Południowej lapacho – kora z drzewa *Tabebula impetiginosa*, yerba mate – suszone liście ostrokrzewu paragwajskiego (*Ilex paraguayensis*), guarana (*Paulinia cupana*) to surowce roślinne wchodzące w skład herbatek zielonych oraz produktów spożywczych i suplementów diety działających pobudzająco i przyspieszających przemianę materii.

MATERIAŁ I METODYKA

Przedmiotem badań były afrykańskie herbatki zielone rooibos i honey bush, południowo amerykańskie yerba mate, lapacho i guarana, azjatyckie z korzeniem żeń-szenia i miłorzębu japońskiego oraz mieszanki herbat czarnych, zielonych i białych z ziołami i różnymi dodatkami roślinnymi i aromatami. Opis materiału badawczego przedstawiono w tab. I. Badaniami objęto 11 rodzajów herbat sypkich, 11 ekspresowych oraz 1 typu instant różnych producentów zakupionych w sklepach na terenie Trójmiasta. Uzyskane wyniki przedstawiono jako średnie z trzech równoległych oznaczeń.

Tabela I
Materiał badawczy
Table I
Examined material

Lp.	Nazwa handlowa	Postać	Skład
1.	Rooibos	sypka	Czerwonokrzew <i>Aspalathus linearis</i> , aromat identyczny z naturalnym
2.	Rooibos	ekspres	Listki czerwonokrzewu <i>Aspalathus linearis</i>
3.	Rooibos Earl grey	ekspres	Herbata z czerwonokrzewu <i>Aspalathus linearis</i> , olejek bergamotowy
4.	Rooibos z autofiltrem	ekspres	Czerwonokrzew <i>Aspalathus linearis</i>
5.	Rooibos	ekspres	Czerwonokrzew <i>Aspalathus linearis</i> , aromat waniliowy
6.	Rooibos	sypka	Czerwonokrzew <i>Aspalathus linearis</i> , aromat miodowy
7.	Rooibos	sypka	Czerwonokrzew <i>Aspalathus linearis</i>
8.	Casablanca Honey Bush	ekspres	Listki miodokrzewu <i>Cyklopa intermedia</i> , hibiskus, trawa cytrynowa, mięta
9.	Yerba mate	sypka	Ostrokrzew paragwajski <i>Ilex paraguayensis</i>
10.	Lapacho	sypka	<i>Tabebula impetiginosa</i>
11.	Ginseng Tea	instant	Sproszkowany korzeń żeń-szenia <i>Panax ginseng</i> , glukoza
12.	Guarana	ekspres	Jabłko, guarana <i>Paulinia cupana</i> , liść mięty, skórka pomarańczy i cytryny, naturalne aromaty egzotyczne
13.	Herbata Żeń-szeń	ekspres	Herbata zielona, liść mate, liść mięty, korzeń żeń-szenia <i>Panax ginseng</i> , skórka pomarańczy i cytryny
14.	Iguana	sypka	Herbata czarna, papaia, skórka pomarańczy, płatki róży i bławatka, aromat identyczny z naturalnym

Tabela I (cd.)

Lp.	Nazwa handlowa	Postać	Skład
15.	Herbata zielona z żeń-szeniem syberyjskim	ekspres	Herbata zielona, <i>Fructus lyci</i> , <i>Panax ginseng</i> , <i>Eleutherococcus senticosus maxim</i> , aromat ananasowo-jabłkowy identyczny z naturalnym
16.	Herbata Ginkgo	ekspres	Herbata zielona, jabłko, liść mate, liść miłorzębu japońskiego <i>Ginkgo biloba</i> , skórka cytryny, skórka pomarańczy, naturalne aromaty egzotyczne
17.	Herbata zielona z liściem Ginkgo biloba	sypka	Herbata zielona, liść miłorzębu japońskiego <i>Ginkgo biloba</i> , aromat egzotik identyczny z naturalnym
18.	Genmaicha	sypka	Herbata zielona, ryż
19.	Sencha lemon	sypka	Herbata zielona, trawa cytrynowa
20.	Jasmine Green	sypka	Herbata zielona, kwiaty jaśminu
21.	Moroccan mint	ekspres	Herbata zielona, liść mięty pieprzowej 20%
22.	Ninghong	ekspres	Herbata zielona, kłącze pochryznu <i>Rhizoma dioscoreae</i> , nasiona senesu, owoc głogu
23.	Pandino	sypka	Herbata biała, młodziutkie listki pędów bambusa, aromat czarnej porzeczki identyczny z naturalnym

Celem pracy było określenie zawartości wapnia, magnezu, żelaza, cynku, manganu, miedzi, chromu i niklu w herbatkach suchych oraz naparach sporządzonych z 2,5 g odważek w 200 cm³ wody pitnej. Czas zaparzenia wynosił w każdym przypadku 5 min. Badane próbki mineralizowano metodą suchą, a następnie metale oznaczano za pomocą spektrometru AAS PU 9100X firmy Philips z atomizacją płomieniową i deuterową korekcją tła. Dokładność i precyzję pomiarów analitycznych sprawdzano na drodze analizy materiału referencyjnego DC73351 Tea uzyskując zgodność pomiędzy wynikami badań kontrolnych, a wartościami deklarowanymi w zakresie 82–120%.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Zawartość składników mineralnych w analizowanych herbatkach ziołowych i mieszankach herbat była zróżnicowana. Wyniki badań zebrano w tab. II.

Oznaczone ilości wapnia w herbatkach ziołowych wahały się w granicach od 6,37 mg% w herbatce Ginseng instant do 2010 mg% w herbatce lapacho. Tak wysoki poziom wapnia w herbatce lapacho wynika z faktu, że surowiec do jej wyrobu pozyskiwany jest z wewnętrznej kory drzewa *Tabebuia impetiginosa*, zawierającej kryształy szczawianu wapnia. Analizowane mieszanki herbat czarnych i zielonych z dodatkami roślinnymi zawierały wapń w ilości od 190 do 813 mg%. Wyniki uzyskane w niniejszej pracy są zbieżne z doniesieniami innych autorów (15, 16, 17) dla herbat czarnych i zielonych. Najniższą ilość wapnia oznaczono w herbatce białej Pandino (średnio 170 mg%).

Najwyższą zawartość magnezu oznaczono w południowo amerykańskiej herbatce yerba mate – średnio 458 mg/100 g, zaś najniższą w Ginseng Tea instant – średnio 0,34 mg%. Wśród mieszanek herbat z dodatkami roślinnymi zawartość magnezu wahała się od 86,2 mg% w herbatce białej Pandino do 274 mg% w herbatce Ninghong. Według *Gajewskiej* i wspólr. (15) herbaty zielone zawierają średnio 144 mg Mg/100 g. Według autorów japońskich (18) herbata zielona zawiera od 120 do 300 mg% magnezu. Wyniki te są zbieżne z uzyskanymi w badaniach własnych.

Analizowane herbatki ziołowe zawierały żelazo w ilości od 0,04 (Ginseng Tea instant) do 16,8 mg% (Yerba mate). Natomiast zawartość żelaza w herbatkach z dodatkami roślinnymi była nieco wyższa i wahała się od 3,27 mg% w herbatce zielonej z ryżem Genmaicha do 35,5 mg% w herbatce zielonej Ninghong z kłączem pochryznu, nasionami senesu i owocem głogu. Uzyskane w pracy wyniki nie odbiegają od danych opublikowanych dla herbat czarnych i zielonych (15, 16, 17).

Najwyższą ilość cynku oznaczono w herbatce yerba mate (średnio 7,49 mg%). W pozostałych przebadanych herbatkach ziołowych zawartość cynku była niższa i wahała się od 0,01 do 2,46 mg/100 g. W mieszankach herbat z dodatkami roślinnymi oznaczono cynk w zakresie 2,03–4,07 mg%. Wyniki te są zbliżone do opublikowanych przez *Herrodor* i *Gonzalez* (19), którzy w herbatkach zielonych oznaczyli

Table II
 Średnia zawartość biopierwiastków w herbatkach ziołowych i mieszanekach herbat z dodatkami roślinnymi [mg% (zakres), N – liczba podpróbek]
 Table II
 Average concentration of bioelements in the herbal teas and mixture of teas with plant additives [mg% (range), N – number of subsamples]

Nazwa handlowa	N	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu	Cr	Ni
Herbatki ziołowe									
Rooibos	24	196±58 (134–257)	145±29 (113–183)	6,72±1,98 (4,88–8,72)	0,79±0,15 (0,67–1,05)	26,5±3,3 (22,9–30,0)	0,24±0,04 (0,18–0,28)	0,05±0,02 (0,02–0,07)	0,06±0,01 (0,05–0,08)
Casablanca	6	215±10 (204–224)	86,5±16 (88,3–109)	8,19±0,67 (6,55–9,61)	2,46±0,51 (2,00–2,68)	22,7±1,64 (20,9–24,8)	0,35±0,05 (0,32–0,39)	0,08±0,01 (0,069–0,087)	0,08±0,02 (0,07–0,096)
Yerba mate	6	463±33 (421–484)	458±46 (411–491)	16,8±3,3 (13,8–21,0)	7,49±2,75 (4,49–10,5)	138±12 (124–152)	0,81±0,03 (0,75–0,87)	0,09±0,01 (0,08–0,10)	0,39±0,02 (0,37–0,41)
Lapacho	3	2010±63 (1959–2076)	25,1±1,52 (23,5–26,5)	1,06±0,15 (0,89–1,19)	0,69±0,004 (0,64–0,71)	1,02±0,04 (0,96–1,06)	0,24±0,01 (0,23–0,24)	0,043±0,002 (0,04–0,044)	0,018±0,002 (0,016–0,02)
Ginseng Tea instant	3	6,37±0,72 (5,64–7,09)	0,34±0,11 (0,24–0,46)	0,04±0,003 (0,03–0,04)	0,01±0,007 (0,01–0,03)	0,02±0,001 (0,019–0,02)	0,001±0,003 (0,0002–0,001)	0,001±0,0004 (0,001–0,002)	0,001±0,001 (0,001–0,003)
Guarana	6	218±76 (144–294)	96,4±15 (79,7–116)	9,38±0,4 (9,00–9,69)	1,26±0,08 (1,15–1,34)	13,9±5,1 (8,34–19,3)	0,71±0,004 (0,70–0,71)	0,06±0,01 (0,05–0,07)	0,11±0,01 (0,10–0,13)

Tabela II (cd.)

Nazwa handlowa	N	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu	Cr	Ni
Mieszanki herbat z dodatkami roślinnymi									
Iguana	3	668±117 (550-784)	224±35 (188-260)	11,5±2,22 (9,25-13,8)	3,46±0,53 (2,90-4,02)	42,4±1,8 (39,9-44,6)	2,22±0,08 (2,10-2,31)	0,11±0,02 (0,08-0,13)	0,46±0,08 (0,35-0,55)
Herbata Żeń-żeń	6	426±133 (297-568)	145±56,3 (87,2-203)	23,7±2,76 (21,2-26,7)	2,03±0,18 (1,82-2,25)	38,7±5,2 (32,4-44,9)	0,93±0,13 (0,79-1,08)	0,12±0,022 (0,10-0,14)	0,19±0,02 (0,17-0,22)
Herbata zielona z żeń-szeniem syberyjskim	3	371±69 (330-450)	87,2±1,08 (86,4-88,4)	25,7±1,24 (24,7-27,1)	3,33±0,20 (3,27-3,36)	40,1±5,2 (35,6-46,3)	2,44±0,11 (2,31-2,53)	0,114±0,01 (0,10-0,12)	0,42±0,01 (0,41-0,43)
Herbata Ginkgo	6	404±156 (257-639)	166±73 (88,3-243)	21,0±3,79 (17,6-24,8)	3,27±0,37 (2,98-3,67)	45,7±7,6 (38,1-53,2)	0,89±0,05 (0,84-0,92)	0,144±0,016 (0,13-0,16)	0,23±0,03 (0,19-0,27)
Herbata zielona z liściem ginkgo biloba	3	565±24 (540-593)	230±3,89 (226-236)	23,0±1,13 (21,8-24,5)	3,07±0,20 (2,85-3,29)	75,8±0,9 (74,5-76,9)	2,32±0,03 (2,27-2,36)	0,108±0,044 (0,06-0,15)	0,37±0,03 (0,33-0,39)
Genmalicha	3	190±6,34 (184-196)	144±5,04 (138-149)	3,27±0,24 (3,03-3,51)	2,32±0,06 (2,24-2,36)	46,5±3,4 (43,4-50,1)	0,76±0,07 (0,69-0,83)	0,04±0,01 (0,03-0,04)	0,15±0,02 (0,13-0,18)
Sencha lemon	3	277±6,06 (270-282)	135±14 (119-144)	10,9±1,95 (9,82-13,2)	2,56±0,13 (2,46-2,72)	96,4±6,4 (89,3-102)	0,91±0,02 (0,88-0,93)	0,08±0,01 (0,06-0,08)	0,37±0,01 (0,35-0,38)
Jasmine green	3	256±10,6 (244-263)	150±3,41 (141-153)	20,9±0,92 (19,9-21,6)	4,07±0,19 (3,85-4,20)	84,9±9,6 (79,3-95,9)	1,92±0,01 (1,91-1,94)	0,08±0,01 (0,07-0,09)	0,50±0,02 (0,47-0,53)
Moroccan mint	3	444±11 (436-456)	236±48 (201-290)	24,6±2,61 (22,3-27,4)	3,94±0,08 (3,85-3,99)	76,4±1,1 (75,2-77,2)	1,63±0,01 (1,63-1,64)	0,13±0,04 (0,08-0,18)	0,44±0,01 (0,43-0,45)
Ninghong	3	813±25 (786-835)	274±80 (224-356)	35,5±2,3 (33,9-38,2)	3,75±1,01 (2,83-4,93)	70,7±2,3 (68,4-73,1)	1,46±0,01 (1,46-1,48)	0,16±0,02 (0,14-0,19)	0,23±0,01 (0,22-0,25)
Pandino	6	170±6,36 (163-176)	86,2±0,60 (85,6-86,8)	8,77±1,5 (7,72-10,4)	3,79±0,12 (3,65-3,87)	42,2±0,3 (42,0-44,2)	1,34±0,03 (1,31-1,37)	0,08±0,01 (0,79-0,89)	0,69±0,02 (0,67-0,72)

średnio 3,6 mg cynku w 100 g. Według *Xie* i współpr. (20) poziom cynku w herbatach zielonych wynosił średnio 3,77 mg%. Natomiast herbaty czarne przebadane przez *Falandysza* i *Kotecką* (21) zawierały cynk w ilości od 3,0 do 5,5 mg w 100 g.

W analizowanych herbatkach ziołowych zawartość manganu była zróżnicowana i wahała się od 0,02 mg% w Ginseng Tea instant do 138 mg% w yerba mate. Zawartość tego metalu wśród herbat zielonych była najwyższa w herbacie Sencha lemon (średnio 96,4 mg%) i Jasmine green (średnio 84,9 mg%). Zbliżone poziomy manganu oznaczył *Xie* i współpr. (20) w herbatach zielonych od 54,8 do 150 mg%. *Marcos* i współpr. (16) stwierdzili od 54,6 do 160 mg manganu w 100 g herbaty czarnej i zielonej.

Herbatki ziołowe charakteryzowały się niską zawartością miedzi w granicach od 0,001 mg% (Ginseng Tea instant) do 0,81 mg% (yerba mate). Zawartość miedzi w analizowanych mieszankach herbat z dodatkami była najniższa w herbacie Genmaicha (średnio 0,76 mg%), zaś najwyższa w herbacie zielonej z żeń-szeniem syberyjskim (średnio 2,44 mg%). *Herrador* i *Gonzalez* (19) oznaczyli miedź w zakresie od 1,45 do 1,66 mg%. Zbliżone wyniki otrzymali również dla herbat zielonych *Gajewska* i współpr. (15) – od 1,25 do 2,97 mg%, nieco wyższe *Buliński* i *Bloniarz* (22) – od 2,14 do 5,05 mg%.

Oznaczone ilości chromu we wszystkich przebadanych herbatkach ziołowych są na podobnym poziomie i występują w zakresie 0,001–0,09 mg%. Natomiast nieco wyższe zawartości tego metalu stwierdzono w mieszankach herbat zielonych z dodatkami od 0,04 mg% (Genmaicha) do 0,16 mg% (Ninghong). Wyniki te są zbliżone do opublikowanych przez innych autorów dla herbat zielonych i czarnych (15, 16). Według tabel niemieckich średnia zawartość chromu w herbacie czarnej wynosi 0,148 mg% (23).

Poziom niklu w badanych herbatkach ziołowych był niski i wahał się od 0,001 (Ginseng Tea instant) do 0,39 mg% (yerba mate). Mieszanki herbat z dodatkami roślinnymi zawierały wyższe poziomy niklu. Najwięcej tego metalu oznaczono w herbacie Pandino (średnio 0,69 mg%), najmniej w herbacie Genmaicha (średnio 0,15 mg%). Podobne wyniki zawartości niklu w herbatach czarnych i zielonych uzyskali inni autorzy (15, 16, 22, 23).

Ze względu na fakt, że herbaty są spożywane w postaci naparu określono stopień przechodzenia metali z liści do ekstraktu. Wyniki przedstawiono w tab. III. Na podstawie przeprowadzonych badań

Tabela III
Procent ługowania składników mineralnych do naparu

Table III
The percentages of minerals leaching into infusions

Nazwa handlowa	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn	Cu	Cr	Ni
Rooibos	32,7	30,6	15,4	55,7	36,8	49,9	54,7	56,9
Casablanca	37,5	48,9	19,0	31,3	45,0	25,3	66,2	77,6
Yerba mate	32,7	55,7	4,7	60,6	30,0	47,0	72,6	81,0
Lapacho	9,52	28,1	73,4	39,5	51,9	45,3	82,0	49,8
Guarana	45,0	38,5	15,0	58,6	24,2	32,8	64,4	60,0
Iguana	17,4	28,3	14,0	46,3	24,9	9,4	17,1	31,8
Herbata Żeń-szeń	24,0	37,6	4,3	64,2	32,3	15,2	43,0	66,7
Herbata zielona z żeń-szeniem syberyjskim	32,0	40,3	6,9	71,2	40,3	13,2	35,8	50,0
Herbata Ginkgo	19,4	50,5	11,1	40,1	58,7	42,2	38,6	66,0
Herbata zielona z liściem ginkgo biloba	22,0	52,0	9,3	38,6	52,3	31,6	36,0	56,0
Genmaicha	65,7	7,81	9,7	53,4	12,7	4,52	64,1	62,4
Sencha lemon	35,7	13,2	4,2	80,4	14,2	11,6	51,1	84,5
Jasmine Green	41,4	25,7	3,7	73,6	14,2	24,0	57,7	57,1
Moroccan mint	26,3	26,7	2,4	74,6	17,2	33,1	69,4	67,2
Ninghong	26,2	28,4	2,3	92,7	15,3	18,7	17,6	25,6
Pandino	48,0	47,8	12,6	59,2	32,9	10,9	26,9	43,6

stwierdzono, że najwięcej do naparu przechodzi cynku, chromu i niklu. Stopień przechodzenia metali do ekstraktu był najwyższy dla cynku w naparach herbaty Ninghong i wynosił 92,7%. Najmniejsze ilości metalu przechodzące do roztworu wodnego oznaczono w przypadku żelaza – poniżej 20%. Jedynie dla herbatki lapacho procent ługowania żelaza wyniósł 73,4. Natomiast stopień ekstrakcji wapnia w herbatce lapacho był najniższy (średnio 9,52%), mimo wysokiej zawartości tego metalu w suszu. Uzyskane w pracy wyniki odnośnie większości analizowanych pierwiastków są na ogół zbliżone do danych opublikowanych przez innych autorów dla herbat czarnych i zielonych (15, 22, 24, 25).

Z uwagi na fakt, że w piśmiennictwie brak jest danych na temat zawartości pierwiastków w analizowanych herbatkach ziołowych niemożliwe było przeprowadzenie analizy porównawczej.

Biorąc pod uwagę oznaczone zawartości pierwiastków w naparach oceniono realizację zalecanej normy dziennej (26, 27) na analizowane składniki mineralne pobierane z napojem herbacianym (tab. IV). Przebadane herbaty, za wyjątkiem Ginseng Tea instant, są dobrym źródłem manganu. Wypicie 4 szklanek naparu (800 cm³) realizuje od 11 do 200% zalecanej normy dziennej na ten pierwiastek dla osoby dorosłej. Dla pozostałych pierwiastków procent realizacji zalecanej normy dziennej wynosi od 0,01 do 54% w zależności od herbaty.

Tabela IV
Ocena realizacji dziennego zapotrzebowania na składniki mineralne zalecanego dla osoby dorosłej w przeliczeniu na 800 dm³ naparu (* – według danych amerykańskich)

Table IV
Percentage of realization of the recommended daily intake of mineral elements for an adult person on 800 dm³ infusions (* – according to USA data)

Dzienne zapotrzebowanie (mg/osoba dorosła/dzień)	Ca	Mg	Fe	Zn	Mn*	Cu	Ni*	Cr*(n)
	800–1200	280–370	15–18	13–16	2,0–3,0	2,0–2,5	0,05–0,3	0,05–0,2
Nazwa handlowa	Procent realizacji zalecanej normy dziennej (%)							
Rooibos	0,5–0,8	0,8–1,0	0,5–0,6	2,1–2,5	41–46	4,8–6,0	1,1–6,8	1,4–5,5
Casablanca	1,0–1,4	1,1–1,6	0,9–1,0	0,5–0,6	34–51	0,4–0,5	2,1–12	2,5–10
Yerba mate	1,9–2,2	6,8–9,0	0,4–0,5	2,6–3,2	133–200	1,5–1,9	10–61	3,3–13
Lapacho	1,6–2,4	0,2–0,3	0,4–0,5	0,2	17–26	0,3–0,4	0,3–1,6	2,0–8,0
Ginseng Tea instant	0,05–0,08	0,01	0,02–0,03	0,01	0,07–0,1	0,005	0,01–0,04	5,0–20
Guarana	0,7–1,1	1,0–1,3	0,6–0,7	0,3–0,4	11–14	0,8–1,0	1,8–10	1,5–6,0
Iguana	0,4–0,6	1,7–2,3	0,8–1,0	1,0–1,2	22–33	0,6–0,7	3,9–24	0,8–3,0
Herbata zielona z żeń-szeniem	0,9–1,4	1,2–1,6	0,8–0,9	1,1–1,4	48–72	1,0–1,2	5,9–35	2,3–9,2
Herbata zielona z ginkgo biloba	0,8–1,1	2,7–3,6	0,8–0,9	0,7–0,8	80–120	1,2–1,5	4,4–26	1,3–5,0
Genmaicha	3,4–4,5	0,3–0,4	0,2	0,8–0,9	20–30	0,2	3,1–18	1,2–4,8
Sencha lemon	0,8–1,2	0,5–0,6	0,2–0,3	1,3–1,7	45–68	0,3–0,4	10–62	2,0–8,0
Jasmine green	0,9–1,3	1,1–1,4	0,4–0,5	2,0–2,5	40–60	1,8–2,2	9,5–57	2,4–9,6
Moroccan mint	1,0–1,5	1,7–2,2	0,4–0,5	1,8–2,2	44–66	2,1–2,6	9,3–56	5,0–5,6
Ninghong	1,8–2,7	2,1–2,8	0,5–0,6	2,3–2,8	37–56	1,1–1,4	2,0–12	1,4–14
Pandino	0,5–0,8	1,1–1,5	1,8–2,2	0,4–0,5	37–56	0,4–0,5	8,0–48	13–54

Z Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 27 grudnia 2000 r. (28) wynika, że dopuszczalna zawartość cynku w herbiecie i herbatkach ziołowych wynosi 50 mg/kg. Na podstawie badań własnych stwierdzono, że tylko w herbatce ziołowej yerba mate zawartość cynku przekracza dopuszczalną normę i wynosi średnio 74,9 mg/kg. Pozostałe surowce zawierały cynk poniżej dopuszczalnego limitu.

Zawartość składników mineralnych w surowcach roślinnych podlega wahaniom pod wpływem czynników ekologicznych i antropogenicznych. Przebadane herbatki ziołowe i mieszanki herbat czarnych, zielonych i białych z dodatkami roślinnymi zawierały zróżnicowane poziomy analizowanych metali.

WNIOSKI

1. Na podstawie przeprowadzonych badań najwyższe poziomy magnezu, cynku i manganu stwierdzono w herbatce ziołowej yerba mate, żelaza i chromu w herbatce Ninghong, wapnia w lapacho, miedzi w herbacie zielonej z żeń-szeniem syberyjskim, zaś niklu w herbacie białej Pandino.

2. Herbatka ziołowa z korzenia żeń-szenia Ginseng Tea instant zawierała najniższe poziomy wszystkich analizowanych metali.

3. Procent przechodzenia metali do ekstraktu nie zależał od zawartości w suszu.

4. Stosowanie herbatek ziołowych jako suplementów diety może być korzystne dla organizmu, bowiem są one źródłem wielu cennych składników mineralnych.

E. Malinowska, M. Grembecka, K. Żabko, P. Szefer

CONCENTRATIONS OF SELECTED BIOELEMENTS IN HERBAL TEA
GRADES AND MIXTURES OF TEA WITH PLANT ADDITIVES

Summary

The contents of 8 elements (Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu, Cr, Ni) were determined in herbal teas available in the retail market: Rooibos, Honey Bush, Yerba Mate, Lapacho, Ginseng, Guarana and mixtures of black, green and white teas with plant additives. The total content of the studied minerals was determined by FAAS with deuterium background correction after prior dry mineralisation. The highest concentration of magnesium, zinc and manganese was detected in Yerba mate tea; iron and chromium in Ninghong tea; calcium in Lapacho tea; copper in green tea with the addition of *Eleutherococcus senticosus*, while nickel was the highest in white tea Pandino. The lowest levels of the study metals were detected in Ginseng Tea instant. Based on the concentration of essential elements in the studied tea infusions, the percentage of realization of the recommended daily intake of each metal was estimated for an adult person. The results obtained in this study show that the analysed teas are good sources of manganese in human diet.

PIŚMIENNICTWO

1. Moro C.O., Basile G.: Obesity and medicinal plants. *Fitoterapia*, 2000; 71: S73-S82. – 2. Lambert J.D., Yang Ch.S.: Cancer chemopreventive activity and bioavailability of tea and tea polyphenols. *Mut. Res.*, 2003; 523-524: 201-208. – 3. Dufresne Ch.J., Farnworth E.R.: A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. *J. Nutr. Biochem.*, 2001; 12: 404-421. – 4. Bode A.M., Dong Z.: Cancer prevention by food factors through targeting signal transduction pathways. *Nutrition*, 2004; 20: 89-94. – 5. Serafini M., Ghiselli A., Ferro Luzzi A.: In vivo antioxidant effect of green and black tea in man. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1996; 50: 28-32. – 6. Stensvold I., Tverdal A., Solvoll K.: Tea consumption. Relationship to cholesterol, blood pressure and coronary and total mortality. *Prev. Med.*, 1992; 21: 546-553. – 7. Atoui A.K., Mansouri A., Boskou G., Kefalas P.: Tea and herbat infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chem.*, 2005; 89: 27-36. – 8. Koo M.W.L., Cho Ch.H.: Pharmacological effects of green tea on the gastrointestinal system. *Eur. J. Pharmacol.*, 2004; 500: 177-185. – 9. Sato T., Miyata G.: The nutraceutical benefit, Part II: Ginseng. *Nutrition*, 2000; 16: 391-392. – 10. Mojska H., Nalewczyńska M., Orłowska K., Szponar L.: Rośliny lecznicze jako składniki żywności. *Bromat. Chem. Toksykol.*, Supplement 2003: 5-12.

11. Jaganyi D., Wheeler P.J.: Rooibos tea: equilibrium and extraction kinetics of aspalathin. *Food Chem.*, 2003; 83: 121-126. – 12. www.rooibos.ch. – 13. Bates S.H., Jones R.B., Bailey C.J.: Insulin-like effect of pinitol. *British J. Pharmacol.*, 2000; 130(8): 1944-1948. – 14. Kohlmünzer S.: *Farmakognozja*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1993. – 15. Gajewska R., Nabrzyski M., Ganowiak Z., Cybulski M., Kulakowska D.: Zawartość wybranych składników mineralnych w herbatach zielonych i czarnych. *Roczn. PZH*, 2000; 51: 251-258. – 16. Marcos A., Fisher A., Rea G., Hill S.J.: Preliminary

study using trace element concentrations and a chemometrics approach to determine the geographical origin of tea. *J. Anal. At. Spectrom.*, 1998; 13: 521-525. – 17. *Moreda-PiHeiro A., Fisher A., Hill S.J.*: The classification of tea according to region of origin using pattern recognition techniques and trace metal data. *J. Food Comp. Analysis*, 2003; 16: 195-211. – 18. *Chu D.C., Juneja L.R.*: General chemical composition of green tea and its infusion. W: *Chemistry and Applications of Green Tea*. Ed. Tekehiko Yamamota et al. CRC Press, Boca Raton, New York, 1997; 1-11. – 19. *Herrador M.A., Gonzalez A.G.*: Pattern recognition procedures for differentiation of Green, Black and Oolong teas according to their metal content from inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Talanta*, 2001; 53: 1249-1257. – 20. *Xie M., Bohlen A., Klockenkamper R., Jian X., Günther K.*: Multielement analysis of Chinese tea (*Camellia sinensis*) by total-reflection X-ray fluorescence. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 1998; 207: 31-38.

21. *Falandysz J., Kotecka W.*: Zawartość manganu, miedzi, cynku i żelaza w liściach herbaty czarnej. *Przem. Spoż.*, 1990; 44: 222-233. – 22. *Buliński R., Błoniarz J.*: Badania zawartości niektórych pierwiastków śladowych w herbatach. Cz. I. Zawartość cynku, manganu, miedzi i żelaza w herbatach i naparach herbacianych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1996; 29: 157– 165. – 23. *Souci S.W., Fachmann W., Kraut H.*: *Food Composition and Nutrition Tables*. 6th revised and completed edition. Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart 2000. – 24. *Buliński R., Błoniarz J.*: Badania zawartości niektórych pierwiastków śladowych w herbatach. Cz. II. Zawartość ołowiu, kadmu i niklu w herbatach i naparach herbacianych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1998; 31: 39-45. – 25. *Falandysz J., Kotecka W.*: Zawartość manganu, miedzi, cynku i żelaza w naparze herbacianym w zależności od jego mocy. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1993; 3: 165-170. – 26. *Panczenko-Kresowska B., Ziemiański Ś.*: Składniki mineralne – ich znaczenie w żywieniu człowieka. W: *Normy żywienia człowieka. Fizjologiczne podstawy*. Red. Ziemiański Ś. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2001. – 27. *Feltman J.*: *Prevention's Giant Book of Health Facts. The Ultimate Reference for Personal Health*. Rodale Press, Emmaus, Pennsylvania, 1991: 526-530. – 28. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 27 grudnia 2000 r. w sprawie wykazu dopuszczalnych ilości substancji dodatkowych i innych substancji obcych dodawanych do środków spożywczych lub używek, a także zanieczyszczeń, które mogą znajdować się w środkach spożywczych lub używkach. *Dziennik Ustaw Nr 9, poz. 72.*

Adres: 80-416 Gdańsk, al. Hallera 107.

Barbara Kot, Ewa Bobrowska-Grzesik

ZAWARTOŚĆ NIEKTÓRYCH MIKROELEMENTÓW W ZIARNIE SŁONECZNIKA I DYNI

Katedra Chemii Analitycznej i Ogólnej Politechniki Śląskiej
Kierownik: prof. dr hab. *I. Staneczko-Baranowska*

Przedmiotem badań były nasiona słonecznika i dyni dostępne w handlu i przeznaczone do celów spożywczych. Mogą one zawierać zarówno mikroelementy niezbędne dla funkcjonowania organizmu, jak i pierwiastki toksyczne, w zależności od miejsca ich pochodzenia. Z uwagi na to, że nasiona te stanowią popularny składnik diety, wskazana jest kontrola zawartości pierwiastków, których obecność może być szkodliwa dla organizmu.

W badanym materiale stwierdzono obecność Al, Zn, Mn, Fe, Cu, Cr i Pb, których zawartość oznaczono metodą fluorescencyjnej spektrometrii rentgenowskiej. Z uwagi na poziom zawartości i czułość techniki, śladowe ilości Cd oznaczano metodą ET AAS.

Hasła kluczowe: nasiona słonecznika i dyni, metale ciężkie, XRF, ET AAS.
Key words: sunflower and pumpkin seeds, heavy metals, XRF, ET AAS.

Nasiona słonecznika i dyni posiadają wysoką wartość odżywczą – zawierają tłuszcz, białko lecytynę, a także są źródłem wielu pierwiastków niezbędnych w procesach życiowych różnych organizmów. Stanowią one istotne źródło olei jadalnych oraz białka, stosowane są również jako dodatek do wielu produktów zbożowych oraz jako karma dla ptaków i zwierząt (1, 2). Spożywanie nasion dyni zalecane jest w niektórych dolegliwościach układu pokarmowego, moczopłciowego oraz miazdżycy. Ziarno słonecznika jest ważnym surowcem do produkcji wysoko-odżywczego oleju spożywczego. Nasiona słonecznika, dyni i produkty ich przetwarzania stanowią ważny składnik diety człowieka i są źródłem zarówno ważnych, jak i szkodliwych mikroelementów.

Powszechne stosowanie nasion słonecznika i dyni do celów spożywczych sprawia, że istotna jest informacja o zawartości nie tylko pierwiastków toksycznych takich, jak Cd i Pb ale również o zawartości mikroelementów – istnieje bowiem granica zawartości powyżej której mogą być wręcz szkodliwe. Dlatego należy być świadomym, że w zależności od miejsca pochodzenia nasion, mogą mieć one właściwości toksyczne, ze względu na obecność metali ciężkich i innych zanieczyszczeń. Do najczęściej stosowanych metod oznaczania składników mineralnych zaliczyć należy metodę AAS (3, 4, 5). Stosuje się również metody spektrofotometryczne (6). Nieliczne prace dotyczą wykorzystania w analizie materiałów roślinnych i artykułów spożywczych takich metod, jak XRF (7, 8), absorpcja promieniowania X (9) oraz ICP (10).

Wiele informacji dotyczy przygotowania próbek do analizy zawartości śladowych ilości mikroskładników w materiałach roślinnych (11, 12). Istotne jest ograniczenie liczby operacji z uwagi na możliwość kontaminacji, co wskazuje na zalety XRF jako techniki analitycznej.

Celem pracy była ocena zawartości zarówno mikroelementów niezbędnych dla funkcjonowania organizmu, jak i pierwiastków toksycznych w dostępnych w handlu nasionach słonecznika i dyni oraz porównanie ich zawartości z dziennym zapotrzebowaniem człowieka i dopuszczalnymi zawartościami w badanym materiale. Do analizy Al, Zn, Mn, Fe, Cu, Cr i Pb zastosowano wielopierwiastkową technikę XRF, podczas gdy śladowe ilości Cd oznaczano za pomocą metody ETAAS.

MATERIAŁ I METODY

Przedmiotem badań były nasiona słonecznika i dyni dostępne w handlu jako pokarm dla ludzi i zwierząt. Pochodziły one z różnych źródeł: nasiona słonecznika z Węgier, Słowacji, Ukrainy i Polski natomiast nasiona dyni z Polski, Chin i Węgier.

Pomiary wykonano za pomocą spektrometrów XRF Philips PW 2400 oraz AAS 3 (Carl Zeiss, Jena) wyposażonego w kufkę grafitową. Stosowano roztwory wzorcowe badanych pierwiastków o stęż. 1 mg/cm³ firmy Merck, które rozcieńczano bezpośrednio przed pomiarem. Do prasowania próbek w pastylki dodawano ciekłe lepiszcze (numer katalogowy 800 Chemplex Ind. Inc.)

Do przeprowadzenia analizy jakościowej próbki nasion suszono do stałej masy w temp. 105° – 110°C, ucierano w moździerzu agalitowym, a następnie prasowano w pastylki pod naciskiem 7 T w czasie 30 s. Tak przygotowane próbki analizowano na zawartość metali i niemetalii metodą XRF. Stwierdzono obecność makroskładników: K, Ca, Mg, S, P, Na i Si oraz pierwiastków występujących w ilościach śladowych tj. Al, Mn, Fe, Cu, Zn, Pb i Cr.

Z uwagi na niewielkie stężenie mikroelementów próbki do ich analizy ilościowej przygotowywano następująco:

Wysuszone w temp. 105° – 110°C nasiona spopielało w piecu podnosząc stopniowo temp. do 550°C i utrzymując tę temperaturę przez 4 godz. Otrzymany popiół ucierano w młynku agatowym, a następnie mieszano z ciekłym lepiszczem. Po odparowaniu rozpuszczalnika próbki prasowano w pastylki przez 30 s pod naciskiem 15 T i analizowano na zawartość mikroskładników metodą XRF.

Do oznaczania zawartości analizowanych pierwiastków zastosowano metodę dodatku wzorca. W związku z tym, przygotowano odważki popiołu o masie 0,6 g (z dokładnością do 0,0002 g) do których wprowadzano różne ilości analizowanych pierwiastków (w postaci roztworu). Odważki suszono w temp. 110°C, następnie mieszano z ciekłym lepiszczem i dalej postępowano w sposób przedstawiony powyżej. Parametry pomiarowe dla analizy Al, Zn, Mn, Fe, Cu, Cr i Pb metodą XRF zamieszczono w tab. I.

Tabela I
Parametry programu XRF dla analizy ziarna słonecznika i dyni

Table I
Parameters of measurement program for XRF analysis of sunflower and pumpkin seeds

Pierwiastek	Linia	X-tal	Colimator nm	Detektor	kV	mA	Kąt 2T	Offset Bg 2T
Al	KA	PE002	550	Przepl.	24	125	145,0296	2,4250
Mn	KA	LiF200	150	Przepl.	60	50	62,9566	0,8678
Cr	KA	LiF200	150	Przepl.	50	60	69,3370	0,6362
Fe	KA	LiF200	150	Przepl.	60	50	57,4914	0,7332
Pb	LA	LiF200	150	Scynt	60	50	33,8760	0,4994
Zn	KA	LiF200	150	Scynt	60	50	41,7292	0,6490
Cu	KA	LiF200	150	Przepl.	60	50	44,9982	0,6158
Si	KA	PE002	550	Przepl.	24	125	109,1920	1,9610

Do analizy śladowej zawartości kadmu metodą ET AAS pozostałość po spopieleniu otrzymaną w poprzednim etapie (0,5 g) roztrawiano w 2 cm³ stęż. kwasu azotowego, odparowywano do małej objętości, dodawano znane ilości Cd w postaci roztworu, po czym rozcieńczano wodą do obj. 10 cm³ w kolbie miarowej. Do analizy wprowadzano 20 mm³ roztworu. Jako modyfikator zastosowano mieszaninę zawierającą 2,5 µg Pd w postaci Pd(NO₃)₂ i 20 µg chlorowodoru hydroksyloaminy w 20 mm³ roztworu wprowadzanego do kuwety grafitowej. Pomiaru prowadzono przy λ = 228,8 nm w temp. spopielenia 600°C i temp. atomizacji 1300°C.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Metodą XRF stwierdzono obecność śladowych ilości Al, Mn, Fe, Cu, Zn, Pb i Cr w badanych próbkach nasion słonecznika i pestek dyni. Oznaczone zawartości tych pierwiastków oraz zawartość Cd, analizowanego metodą ET AAS w badanym materiale zamieszczono w tab. II.

Tabela II

Zawartość wybranych pierwiastków w ziarnie słonecznika i dyni w mg/kg s.m.;

$$\mu = x_{sr} \pm t s_{sr}; n = 6; P = 0,95$$

Table II

Results of determination of selected elements in sunflower and pumpkin seeds, mg/kg dry matter;

$$\mu = x_{sr} \pm t s_{sr}; n = 6; P = 0,95$$

Próbka		Al	Zn	Mn	Fe	Cu	Cr	Pb	Cd
Słonecznik 1	µ	9,28±0,17	45,38±0,07	21,25±0,16	80,50±0,38	16,19±0,10	0,55±0,08	0,38±0,05	0,34±0,03
	CV%	1,72	0,15	0,70	0,45	0,62	14,5	13,1	8,8
Słonecznik 2	µ	1,95±0,02	49,50±0,08	20,65±0,15	35,51±0,17	15,37±0,09	0,26±0,04	0,27±0,03	0,18±0,03
	CV%	1,03	0,16	0,68	0,45	0,58	15,4	11,1	16,6
Słonecznik 3	µ	23,02±0,42	47,92±0,08	17,27±0,13	39,18±0,18	17,53±0,11	0,44±0,07	0,28±0,04	0,22±0,03
	CV%	1,74	0,17	0,69	0,43	0,62	15,9	14,2	13,6
Słonecznik 4	µ	10,48±0,19	60,90±0,10	19,28±0,14	42,61±0,20	17,92±0,11	0,25±0,04	0,20±0,03	0,51±0,04
	CV%	1,72	0,16	0,67	0,44	0,61	16,0	15,0	7,8
Dynia 1	µ	3,82±0,07	91,73±0,16	33,27±0,24	43,08±0,20	11,23±0,07	0,62±0,09	0,24±0,03	0,21±0,03
	CV%	1,83	0,16	0,69	0,44	0,62	14,5	12,5	14,3
Dynia 2	µ	15,42±0,28	94,01±0,16	68,77±0,50	111,33±0,52	25,37±0,16	0,95±0,15	0,32±0,04	0,17±0,03
	CV%	1,75	0,16	0,70	0,45	0,58	14,7	12,5	14,7
Dynia 3	µ	57,94±1,07	89,57±0,15	41,88±0,30	65,75±0,30	13,08±0,08	1,10±0,18	0,27±0,03	0,25±0,03
	CV%	1,76	0,16	0,69	0,44	0,61	15,4	11,1	12,0

Uzyskane wyniki wskazują na to, że ziarno słonecznika i dyni może być bogatym źródłem Zn, Mn, Cu i Fe. Pierwiastki te spełniają ważną rolę w organizmie. Przykładowo niedobór cynku może być związany z powstawaniem stanów zapalnych; z kolei jego zwiększona ilość występuje w tkankach niektórych nowotworów. Niedobór manganu jest przyczyną deformacji kości, zaburzeń syntezy steroidów, podczas gdy jego nadmiar zakłóca metabolizm żelaza i uszkadza organy mięsiste. Z kolei miedź w nadmiarze uszkadza wątrobę, nerki i naczynia wieńcowe, podczas gdy jej niedobór powoduje zaburzenia działania systemu nerwowego i układu krążenia. Nadmiar żelaza zakłóca metabolizm innych metali śladowych, natomiast jego niedomiar jest przyczyną powstawania anemii i wielu innych schorzeń (13).

Zaobserwowano wyższą zawartość cynku i manganu w pestkach dyni w porównaniu z nasionami słonecznika. Zakładając, że uzyskane zawartości są reprezentatywne dla całej grupy produktów oszacowano jaki procent dziennego zapotrzebowania na te mikroelementy wprowadzony zostanie do organizmu po zjedzeniu przykładowo 100 g (małej paczki) nasion słonecznika lub pestek dyni. Wyniki zamieszczono w tab. III.

Dopuszczalna zawartość Pb i Cd w ziarnie słonecznika wynosi 0,50 mg/kg i 0,40 mg/kg, podczas gdy dla pestek dyni wynosi ona odpowiednio: 0,30 mg/kg i 0,15 mg/kg (14). Uzyskane wartości Pb

Tabela III

Oszacowanie zaspokojenia dziennego zapotrzebowania na mikroelementy przy spożyciu 100 g nasion słonecznika lub dyni dla średniej zawartości danego pierwiastka

Table III

Contribution of daily intake of 100 g sunflower or pumpkin seeds to the recommended daily allowance for selected elements, assuming mean content of each element in the sample

Pierwiastek	Dzienne zapotrzebowanie mg/dzień (14)	Słonecznik % dziennego zapotrzebowania	Dynia % dziennego zapotrzebowania
Zn	15	34	61
Mn	2,5–6	33–78	80–190
Fe	10–18	20–36* 45–80**	24–43* 62–111**
Cu	1,5–4	42–111	28–75* 63–169**
Cr	5–200 µg/dzień	12–500* 27–1100**	31–1240* 55–2200**
Al	60 dopuszcz.	0,3* 3,8**	0,6* 9,6**
Pb	0,25–0,5 dopuszcz. 0,054 dopuszcz. dla dzieci	2,8–5,6 dawki dopuszcz. 52 dawki dopuszcz. dla dzieci	2,7–5,5 dawki dopuszcz. 51 dawki dopuszcz. dla dzieci
Cd	0,07 dopuszcz. 73** dawki dopuszcz.	45 dawki dopuszcz.	30 dawki dopuszcz.

* – Zakres obliczony dla próbki o najmniejszej zawartości pierwiastka;

** – zakres obliczony dla próbki o największej zawartości pierwiastka.

w badanych materiałach mieszczą się w dopuszczalnych granicach stężeń. Zawartość Cd w pestkach dyni przekracza w niewielkim stopniu dopuszczalne ilości, podczas gdy w nasionach słonecznika tylko w jednym przypadku obserwuje się większą od dopuszczalnej ilość.

WNIOSKI

Nasiona słonecznika i dyni są bogatym źródłem Zn, Fe, Mn i Cu. Spożycie 100 g pestek dyni może zaspokoić w znacznym stopniu dzienne zapotrzebowanie organizmu ludzkiego na Zn i Fe, a w przypadku Mn, Cu i Cr może nawet spowodować przekroczenie wartości dobowego zapotrzebowania na te pierwiastki. W przypadku nasion słonecznika, spożycie 100 gramów może całkowicie zaspokoić dobowe zapotrzebowanie na Cu i Cr oraz w znacznym stopniu na Mn, Fe i Zn.

Pomimo, że zawartość Pb w badanych nasionach jest niższa niż dopuszczalna, spożycie 100 g produktu może wprowadzić do organizmu dziecka nawet 50% dopuszczalnej dziennej dawki tego pierwiastka.

W przypadku Cd, jakkolwiek jego zawartość w pestkach dyni przekracza dopuszczalną (0,15 mg/kg), spożycie 100 gramów produktu nie powoduje przekroczenia dopuszczalnej dziennej dawki.

B. Kot, E. Bobrowska-Grzesik

DETERMINATION OF MICROELEMENTS IN SUNFLOWER
AND PUMPKIN SEEDS

Summary

Multi-element XRF analysis was used to determine the content of Al, Zn, Mn, Fe, Cu, Cr and Pb in sunflower and pumpkin seeds. Trace amounts of cadmium in the material were determined by ET AAS. Both seeds and product of their processing are an important component of the human diet and may be the source of both useful and harmful elements. The quick multiple analysis of elements is essential for the assessment of these products from the point of view of human health. The developed procedure, including sample preparation and final analysis has been described. It was found that both sunflower and pumpkin seeds can be a rich source of Zn, Fe, Mn and Cu. Consumption of 100 g pumpkin seeds can largely meet the daily requirement for Zn and Fe, while Mn, Cu and Cr supply may be even higher than the daily requirement. Consumption of 100 g sunflower seeds can completely meet the daily requirement for Cu and Cr and, to a large extent, for Mn, Fe and Zn. In spite that Pb content in the examined samples was lower than the admissible limit, 100 g of this product can introduce to the organism of a child even 50% of the acceptable daily intake (ADI) for this element. Although the admissible content of Cd in pumpkin seeds is exceeded in all examined samples, consumption of 100 g of this product does not cause exceeding of the provisional maximum tolerable daily intake (PMTDI) for that element.

PIŚMIENNICTWO

1. *Cert A., Moreda W., Perez-Camino M.C.*: Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils. *J. Chromatog.; A*, 2000; 88: 131-148. – 2. *El-Adawy T.A., Taha K.M.*: Characteristic and composition of different seed oils and flours. *Food Chem.*; 2001; 74: 47-54. – 3. *Akintayo E.T., Adebayo E.A., Arogundade L.A.*: Chemical composition, physicochemical and functional properties of akee pulp and seed flours. *Food Chem.*; 2002; 77: 333-336. – 4. *Steenkamp V., von Arb M., Stewart M.J.*: Metal concentrations in plants and urine from patients treated with traditional remedies. *Forensic Sci. Intern.*, 2000; 114: 89-95. – 5. *Correia P.R.M., Oliveira E., Oliveira P.V.*: Simultaneous determination of Cd and Pb in foodstuffs by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 2000; 405: 205-211. – 6. *Hussain Reddy K., Prasad N.B.L.*: Sreenivasulu Reddy T., Analytical properties of 1-phenyl-1,2-propanedione-2-oxime thiosemicarbazone: simultaneous spectrophotometric determination of copper(II) and nickel(II) in edible oils and seeds. *Talanta*, 2001; 59: 425-433. – 7. *Omote J., Kohno H., Toda K.*: X-Ray fluorescence analysis utilizing the fundamental parameter method for the determination of the elemental composition in plant samples. *Anal. Chim. Acta*, 1995; 307: 117-126. – 8. *Cevik U., Ergen E., Budak G., Karabulut A., Tirasoglu E., Apaydin G., Kopya A.I.*: Elemental analysis of Akcaabat tobacco and its ash by EDXRF spectrometry. *J. Quant. Spectrosc. & Radiat. Transfer*, 2003; 78: 409-415. – 9. *Salt D.E., Prince R.C., Pickering I.J.*: Chemical speciation of accumulated metals in plants: evidence from X-ray absorption spectroscopy. *Microchem. J.*, 2002; 71: 255-259. – 10. *Vereda Alonso E., Garcia de Torres A., Cano Pavon J.M.*: Determination of trace heavy metals in biological samples by inductively-coupled plasma atomic emission spectrometry after extraction with 1,5-bis-(di-2-pyridylmethylene) thiocarbonylhydrazide. *Talanta*, 1996; 43: 493-501.
11. *Markert B.*: Sample preparation (cleaning, drying, homogenization) for trace element analysis in plant matrices. *Sci. Total Environ.*, 1995; 176: 45-61. – 12. *Hoenig M.*: Preparation steps in environmental trace element analysis-facts and traps. *Talanta*, 2001; 54: 1021-1038. – 13. *Kabata-Pendias A., Pendias H.*: Biogeochemia pierwiastków śladowych. WN PWN, Warszawa, 1999; 35-102. – 14. Rozporządzenie Ministra Zdrowia, Dz. Ustaw. Nr 9 poz.72 z dnia 27.12.2000.

Adres: 44-100 Gliwice, ul. Ks. Marcina Strzody 9.

*Małgorzata Grembecka, Izabela Zdrojewska, Agnieszka Kusiuk,
Edyta Hendożko, Ewa Malinowska, Piotr Szefer*

ZAWARTOŚĆ MAGNEZU, CYNKU, ŻELAZA I FOSFORU W RÓŻNYCH GATUNKACH KASZ OGÓLNIIE DOSTĘPNYCH W SPRZEDAŻY

Katedra i Zakład Bromatologii Akademii Medycznej w Gdańsku
Kierownik: prof. dr hab. P. Szefer

Oznaczono zawartość magnezu, cynku, żelaza i fosforu w kaszy gryczanej, jęczmiennej, jaglanej, mannie i kuskus. Uzyskane wyniki zostały zinterpretowane w świetle analizy wariancji. Oceniono także realizację zalecanego dziennego zapotrzebowania na niezbędne składniki mineralne.

Hasła kluczowe: mikroelementy, makroelementy, kasze, ANOVA.
Key words: microelements, macroelements, groats, ANOVA.

Wadliwie skomponowane posiłki mogą być odpowiedzialne za występowanie wielu poważnych chorób takich, jak: nadciśnienie tętnicze, otyłość, cukrzyca, choroba niedokrwienna serca, a także osteoporoza. Z najnowszych danych literaturowych wynika również, że zaburzona gospodarka mineralna może prowadzić do powstania nowotworów m.in. piersi, jelita grubego i żołądka (1–8).

Według prawidłowych zasad żywienia to produkty zbożowe stanowią podstawę piramidy żywieniowej i powinny znajdować się w codziennej diecie w największej ilości. Produkty te są źródłem błonnika, węglowodanów, witamin, białka, a także składników mineralnych.

Dieta pełnoziarnista, w porównaniu z dietą bogatą w oczyszczone ziarno, stanowi wyjątkowy zasób energii, składników odżywczych i związków fitochemicznych, które współdziałając razem, promują zdrowie i zapobiegają chorobom (9). Spożywanie codziennie ciemnego pieczywa reguluje pracę przewodu pokarmowego, zapobiega zaparciom, daje poczucie sytości i ułatwia utrzymanie należytej masy ciała.

Kasza, jest to całe lub łamane ziarno zbożowe z którego usunięto, w mniejszym lub większym stopniu, części zawierające składniki nieprzyswajalne przez organizm ludzki. Wszystkie zboża mogą być przerabiane na kasze, z tym że jako surowiec wykorzystuje się głównie jęczmień, grykę, owies, proso i ryż. Kasze produkuje się również z ziarna pszenicy i kukurydzy (10, 11).

Kasze są produktami o wysokiej wartości energetycznej jednakże ich skład chemiczny, jak również wartość odżywcza uzależnione są od stopnia obłuszczenia i rozdrobnienia ziarna oraz od gatunku zboża. Dostarczają one organizmowi wielu

cennych składników odżywczych, są źródłem skrobi, białka, błonnika pokarmowego oraz witamin i składników mineralnych (11). Spośród zawartych w kaszach pierwiastków fizjologicznie niezbędnych na szczególną uwagę zasługują magnez, fosfor i potas. W kaszach znajdują się w mniejszych ilościach także wapń, sód, żelazo, cynk, miedź i mangan (11).

Ze względu na zawartość wielu cennych dla zdrowia składników, są one polecane przez lekarzy i dietetyków w leczeniu wielu schorzeń i stanów osłabienia funkcji organizmu takich, jak: choroby przewodu pokarmowego, wątroby, trzustki, dróg żółciowych, nerek, niewydolność krążenia oraz nadciśnienie.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem badanym były różne gatunki kaszy gryczanej, jęczmiennej, jaglanej, manny, kukurydzianej i kuskus dostępne w sprzedaży na naszym rynku. Charakterystykę produktów poddanych analizie przedstawiono w tab. I.

Tabela I
Charakterystyka materiału badawczego

Table I
Characteristic of the study material

Lp.	Nazwa	Pochodzenie
1.	Kasza gryczana Leader Price	Polska
2.	Kasza gryczana	Polska
3.	Kasza gryczana prażona	Polska
4.	Kasza gryczana TIP	Polska
5.	Kasza krakowska	Polska
6.	Kasza jęczmienna „Złote Łany” wiejska	Polska
7.	Kasza jęczmienna wiejska Sonko	Polska
8.	Kasza jęczmienna TIP	Polska
9.	Kasza jaglana	Polska
10.	Kasza jaglana	Polska
11.	Kasza manna	Polska
12.	Kasza manna	Polska
13.	Kasza manna błyskawiczna Kasia	Polska
14.	Kaszka kukurydziana	Polska
15.	Kaszka kukurydziana	Polska
16.	Kuskus Oromas średnioziarnisty	Hiszpania
17.	Kuskus Wodzisław	Polska

W celu oznaczenia poszczególnych składników mineralnych (Mg, Zn, Fe, P) próbki produktów poddano mineralizacji mikrofalowej na mokro. Odważano po trzy 1,0 g próbki każdego z produktów z dokładnością do $\pm 0,0001$ g. Przeniesiono je do bomb teflonowych i pod wyciągiem traktowano 9,0 cm³ stężonego roztworu kwasu azotowego (V), (65% HNO₃, Selectipur firmy „Merck”). Mineralizaty uzupełniano wodą dejonizowaną z aparatu Milipore® (Baltimore, USA). Dla każdej serii mineralizacji wykonywano „próbę ślepą”.

Badane pierwiastki (Mg, Fe, Zn) oznaczano metodą spektrometrii atomowo-absorpcyjnej za pomocą aparatu AAS PU 9100X firmy Philips. Zastosowano atomizację płomieniową i deuterową korekcję tła. Przy oznaczaniu magnezu, próbki rozcieńczano 0,1% roztworem chlorku lantanu jako buforu korygują-

cego w stosunku objętościowym 1:100, natomiast oznaczenie zawartości cynku i żelaza przebiegało z roztworów wodnych (rozcieńczenie 1:10). Oznaczenia zawartości fosforu (rozcieńczenie 1:25) dokonano za pomocą metody kolorymetrycznej. Równocześnie analizowano próbki kontrolne.

Poprawność zastosowanej metodyki sprawdzano na drodze analizy dwóch materiałów referencyjnych, tj. Cabbage IAEA – 359 i Tea NCS DC 73351. Uzyskano zgodność pomiędzy wynikami badań własnych, a wartościami deklarowanymi dla materiałów referencyjnych. Wartość odzysku oszacowana dla wyników badań kontrolnych oraz wartości deklarowanych dla materiałów referencyjnych wynosiła od 83,4 do 103%.

Uzyskane dane pomiarowe zostały opracowane statystycznie (analiza wariancji ANOVA).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wyniki oznaczeń składników mineralnych w badanych gatunkach kaszy przedstawiono w tab. II.

W próbkach kaszy zawartość magnezu wahała się od 8,45 do 140 mg/100 g produktu, średnio 57,5 mg/100 g. Zaobserwowano duże zróżnicowanie w zawartości tego pierwiastka w poszczególnych rodzajach kasz. Najwyższym poziomem magnezu odznaczała się kasza gryczana (średnio 137 mg/100 g), podczas gdy najniższym kasza manna (średnio 10,1 mg/100 g). Poziom magnezu w kaszy krakowskiej był 4-krotnie niższy niż w kaszach gryczanych całych. Wynosił on zaledwie 32,9 mg/100 g, podczas gdy średnia zawartość w kaszach gryczanych całych wynosiła 137 mg/100 g. Tak duże różnice mogą być spowodowane obróbką ziarna gryki podczas produkcji – kaszka krakowska jest mocno rozdrobniona. Według tabeli wartości odżywczej *Piekarskiej i Łoś-Kuczery* (12) zawartość magnezu w kaszach gryczanych wynosi 218 mg/100 g, jęczmiennych 45 mg/100 g, a w mannie 18 mg/100 g, które to dane są zbieżne z wynikami uzyskanymi w badaniach własnych. Natomiast *Souci* i współpr. (13) podają niższą zawartość magnezu w kaszach gryczanych (48 mg/100 g), podczas gdy wyższe dla kasz

Tabela II
Zawartość pierwiastków chemicznych (mg/100 g produktu rynkowego)
w kaszach dostępnych w sprzedaży na polskim rynku

Table II
The content of mineral elements in groats available for sale in the Polish market (mg/100 g)

Lp.	Nazwa handlowa	Liczba próbek	Mg	P	Zn	Fe
			$\bar{x} \pm SD$			
1.	Kasza gryczana Leader Price	3	135±0,40	783±4,17	3,35±0,02	1,99±0,09
2.	Kasza gryczana Polgrunt	3	140±3,18	557±3,47	2,48±0,09	1,34±0,11
3.	Kasza gryczana Sonko	3	140±9,12	492±11,0	2,11±0,10	2,12±0,10
4.	Kasza gryczana TIP	3	133±2,97	692±9,06	3,10±0,23	1,95±0,11
5.	Kasza krakowska Sante	3	32,9±0,95	192±5,34	0,55±0,01	0,94±0,36
6.	Kasza jaglana Radix-Bis	3	86,5±1,32	462±3,01	2,41±0,15	1,49±0,09
7.	Kasza jaglana Sante	3	66,6±2,18	362±6,99	1,93±0,02	1,46±0,11
8.	Kasza jęczmienna Sonko	3	17,3±0,02	368±52,1	1,76±0,08	2,23±0,14
9.	Kasza jęczmienna TIP	3	53,6±0,48	399±65,0	1,63±0,11	1,80±0,04
10.	Kasza jęczmienna Złote Łany	3	62,1±0,86	307±6,25	1,78±0,09	1,65±0,09
11.	Kasza kukurydziana Sante	3	15,4±0,78	136±6,38	0,41±0,00	0,61±0,08
12.	Kasza kukurydziana Kupiec	3	14,3±0,62	186±13,3	0,65±0,01	0,50±0,01
13.	Kasza manna Kasia Solger	3	12,5±0,56	107±19,2	0,51±0,04	0,48±0,10
14.	Kasza manna Kupiec	3	9,40±0,43	170±25,2	0,42±0,02	0,27±0,00
15.	Kasza manna Stojsław	3	8,40±0,50	85,9±4,95	0,29±0,02	0,41±0,04
16.	Kuskus Oromas	3	34,1±0,26	298±12,9	0,90±0,05	0,76±0,03
17.	Kuskus Wodzisław	3	16,6±0,06	263±9,12	1,12±0,11	0,81±0,05

jęczmiennych (66 mg/100 g) i jaglanych (123 mg/100 g). Także *Booth* i współpr. (14) oznaczyli magnez w kaszach na niższym poziomie wynoszącym średnio 16,7 mg/100 g.

Zawartość fosforu w kaszach mieściła się w przedziale od 492 do 783 mg/100 g dla gryczanych, od 362 do 462 mg/100 g dla jaglanych, od 307 do 399 mg/100 g dla jęczmiennych, od 136 do 186 mg/100 g dla kukurydzianych, od 85,9 do 170 mg/100 g dla manny oraz od 263 do 298 mg/100 g dla kaszy kuskus. Średnia zawartość fosforu w badanych próbkach wyniosła 345 mg/100 g. Najwyższe stężenie fosforu stwierdzono w kaszy gryczanej *Leader Price* – 783 mg/100 g, a najniższe w kaszy mannej *Stoisław* – 85,9 mg/100 g. Podobne zawartości fosforu podane są w tabelach wartości odżywczej (12), wynoszące od 93 mg/100 g dla kaszy manny do 459 mg/100 g dla kaszy gryczanej. Jednak stężenie fosforu w kaszach jęczmiennych wg tych tabel (12) jest nieco niższe (206 mg/100 g) niż uzyskane w badaniach własnych. Także *Souci* i współpr. (13) podają mniejszą zawartość fosforu dla kaszy jęczmiennej na poziomie 189 mg/100 g oraz dla gryczanej – 150 mg/100 g.

Pod względem zawartości cynku, najwyższe poziomy uzyskano dla kasz gryczanych całych 2,76 mg/100 g, podczas gdy najniższe dla kaszy manny (0,41 mg/100 g). Średnie stężenie cynku we wszystkich badanych próbkach kaszy wynosiło 1,49 mg/100 g. Najwyższe stężenie cynku odnotowano dla kaszy gryczanej *Leader Price* (3,35 mg/100 g), a najniższe dla kaszy manny *Stoisław* (0,29 mg/100 g). Zbliżone do badań własnych zawartości ww. pierwiastka dla kaszy jęczmiennej (1,3 mg/100 g) podają tabele wartości odżywczej opracowane przez niemieckich ekspertów (13) i nieco wyższe dla kaszy jaglanej (2,9 mg/100 g). Według tabel zawartości pierwiastków śladowych (15) stężenie cynku w kaszach wynosi odpowiednio: 3,50 mg/100 g dla gryczanej, 0,92 mg/100 g dla jęczmiennej i 0,85 mg/100 g dla manny. Wartości te są porównywalne z wynikami badań własnych. Natomiast *Booth* i współpr. (14) podają stężenia cynku w przedziale od 0,24 do 0,53 mg/100 g.

Zawartość żelaza w badanych próbkach kaszy mieściła się w przedziale wartości od 0,27 do 2,23 mg/100 g; średnio 1,22 mg/100 g. Największe stężenie tego pierwiastka stwierdzono w kaszy jęczmiennej *Sonko* (2,23 mg/100 g), a najmniejsze w kaszy mannej *Kupiec* (0,27 mg/100 g). Stwierdzono wyraźne zróżnicowanie w zawartości żelaza pomiędzy kaszami gruboziarnistymi (gryczana, jęczmienna), a drobnoziarnistymi (kukurydziana, manna, kuskus). Poziom żelaza w kaszy mannej, gryczanej i jęczmiennej wg tabel wartości odżywczej (12) wynosi odpowiednio: 0,9, 2,8 i 1,6 mg/100 g produktu rynkowego. Według *Booth* i współpr. (14) zawartość żelaza w kaszach mieści się w przedziale wartości od 0,22 do 0,6 mg/100 g. Wyniki porównywalne z badaniami własnymi podają *Souci* i współpr. (13), dla kaszy gryczanej i jęczmiennej tj. 2,0 mg Fe/100 g.

Na podstawie oznaczenia składu mineralnego kasz gryczanych, jaglanych, jęczmiennych, kukurydzianych, manny oraz kuskus obliczono procent pokrycia zalecanego dziennego zapotrzebowania dla osoby dorosłej na składniki mineralne zawarte w 100 g produktu w porównaniu z zalecanymi normami (16). Wyniki przedstawiono w tab. III.

Analiza otrzymanych wyników pozwala stwierdzić, że w najwyższym stopniu zapotrzebowanie na pierwiastki jest realizowane przez 100 g kaszy gryczanej. Wynosi ono od 70,1 do 97,1% dla fosforu,

Tabela III
Ocena dziennego pokrycia zapotrzebowania na składniki mineralne zalecane dla osoby dorosłej

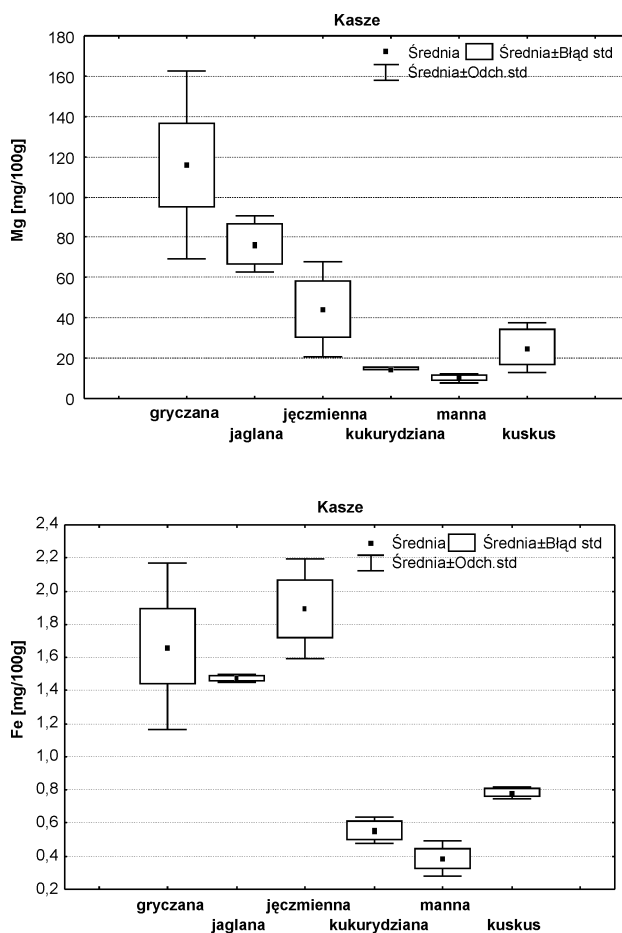
Table III
Estimate of mineral elements intake vs the RDA proposed for adults

Produkt	Średnia zawartość w 100 g kaszy				Pokrycie zalecanego dziennego pobrania %			
	Mg (mg)	P (mg)	Zn (mg)	Fe (mg)	Mg 300–370	P 650–900	Zn 13–16	Fe 15–18
Kasza gryczana	137±3,56	631±131	2,76±0,57	1,85±0,35	37,0–45,7	70,1–97,1	17,3–21,2	10,3–12,3
Kasza jaglana	76,6±14,1	412±70,7	2,17±0,34	1,48±0,02	20,7–25,5	45,8–63,4	13,6–16,7	8,22–9,87
Kasza jęczmienna	44,3±23,8	358±46,8	1,72±0,08	1,89±0,30	12,0–14,8	39,8–55,1	10,8–13,2	10,5–12,6
Kasza kukurydziana	14,9±0,78	161±35,4	0,53±0,17	0,56±0,08	4,03–4,97	17,9–24,8	3,31–4,08	3,11–3,73
Kasza manna	10,1±2,14	121±43,8	0,41±0,11	0,39±0,11	2,73–3,37	13,4–18,6	2,56–3,15	2,17–2,60
Kuskus	25,4±12,4	281±24,7	1,01±0,16	0,79±0,04	6,86–8,47	31,2–43,2	6,31–7,77	4,39–5,27

37,0–45,7% dla magnezu, 10,3–12,3% dla żelaza i 17,3–21,2% dla cynku. W dużym stopniu zapotrzebowanie na składniki mineralne pokrywa 100 g kaszy jaglanej (średnio 20,7–25,5% Mg, 45,8–63,4% P, 8,22–9,87% Fe, 13,6–16,7% Zn) i jęczmiennej (średnio 12,0–14,8% Mg, 39,8–55,1% P, 10,5–12,6% Fe, 10,8–13,2% Zn), a w najmniejszej mierze 100 g kaszy miannej (średnio 2,73–3,37% Mg, 13,4–18,6% P, 2,17–2,60% Fe, 2,56–3,15% Zn).

W celu przeprowadzenia analizy statystycznej posłużono się komputerowym pakietem statystycznym STATISTICA 6.0. W analizie korelacyjnej wykorzystano współczynnik R-Spearmana, gdyż za pomocą testów *Kolmogorowa-Smirnowa* oraz *Shapiro-Wilka* stwierdzono brak rozkładu normalnego w zawartości poszczególnych pierwiastków w badanych produktach. Stwierdzono istnienie znaczących korelacji pomiędzy poszczególnymi pierwiastkami w kaszach przy $p < 0,05$, $p < 0,01$ i $p < 0,001$.

Poszczególne wyniki otrzymane w wyniku przeprowadzonych badań mogą zależeć od jednego lub kilku czynników działających równocześnie. Analiza wariancji jest zespołem metod statystycznych wykorzystywanych do oceny ich wpływu (17, 18). W pracy zastosowano metody nieparametryczne w celu zbadania ewentualnego oddziaływania poszczególnych czynników, na ustalonym poziomie istotności ($p < 0,05$), na zawartość badanych pierwiastków. Za pomocą testu ANOVA *Kruskala-Wallis*a zweryfikowano uzyskane wyniki.



Ryc. 1. Wyniki analizy wariancji dla zawartości Mg i Fe w badanych gatunkach kasz.

Fig. 1. Results of ANOVA analysis for the Mg and Fe contents in the groats.

W badanych próbkach kasz stwierdzono wpływ rodzaju rośliny, z której zostały one wyprodukowane, na kształtowanie się zawartości wszystkich analizowanych pierwiastków. Istotny statystycznie ($p < 0,05$) wpływ stwierdzono w stosunku do zawartości Mg ($H = 13,4$; $p = 0,02$), P ($H = 12,3$; $p = 0,03$), Zn ($H = 11,7$; $p = 0,04$) oraz Fe ($H = 13,2$; $p = 0,02$); gdzie H oznacza wartość testu. Interpretacja graficzna wyników analizy wariancji została przedstawiona na ryc. 1.

WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że kasze, zwłaszcza gryczane, stanowią cenne źródło badanych makro- i mikroelementów. Ze względu na fakt, że produkt ten stanowi podstawę tzw. piramidy żywieniowej, powinien być spożywany codziennie, co korzystnie wpłynie na utrzymanie prawidłowego bilansu energetycznego i mineralnego organizmu.

M. Grembecka, I. Zdrojewska, A. Kusiuk,
E. Hendożko, E. Malinowska, P. Szefer

CONTENT OF MAGNESIUM, ZINC, IRON AND PHOSPHORUS IN DIFFERENT GROATS OBTAINED FROM THE LOCAL MARKET

Summary

The determination of mineral nutrients was made in 17 brands of commercially available groats obtained from the local market. The contents of chemical elements (except for phosphorus) were analysed, after prior wet mineralisation, by flame atomic absorption spectrometry (FAAS) with deuterium background correction. The phosphorus was determined in the form of phosphormolybdate blue by spectrophotometry. The reliability of the procedure was checked by analysing certified reference materials.

The findings concerning trace metal content in the analysed groats differ significantly. The average contents of mineral elements were as follows: 57.5 mg Mg, 345 mg P, 1.49 mg Zn and 1.22 mg Fe in 100 g of the examined groats.

The data show that the RDA proposed for adults is best realised by 100 g of buckwheat groats.

A significant influence of the plant species used for production on the content of the studied elements was detected in the analysed products by Kruskal-Wallis Anova test.

PIŚMIENNICTWO

1. Ames B.N.: DNA damage from micronutrient deficiencies is likely to be a major cause of cancer. *Mutation Res.*, 2001; 475: 7-20. – 2. Fenech M., Ferguson L.R.: Vitamins/minerals and genomic stability in humans. *Mutation Res.*, 2001; 475: 1-6. – 3. Ferguson L.R.: Natural and human-made mutagens and carcinogens in the human diet. *Toxicology* 2002; 181-182: 79-82. – 4. Knasmuller S., Verhagen H.: Impact of dietary factors on cancer causes and DNA integrity: new trends and aspects. *Food Chem. Toxicol.*, 2002; 40: 1047-1050. – 5. Rojas E., Herrera L.A., Poirier L.A., Ostrosky-Wegman P.: Are metals dietary carcinogens? *Mutation Res.* 1999; 443: 157-181. – 6. Sanz Alaejos M., Diaz Romero F.J., Diaz Romero C.: Selenium and cancer: some nutritional aspects. *Nutrition* 2000; 16: 376-383. – 7. Temple N.J., Kaiser Gladwin K.: Fruit, vegetables, and the prevention of cancer: research challenges. *Nutrition* 2003; 19: 467-470. – 8. Zhai H., Chen X., Hu Z.: Study on the relationship between intake of trace elements and breast cancer mortality with chemometric methods. *Comput. Biol. Chem.*, 2003; 27: 581-586. – 9. McKeown N.M., Meigs J.B., Liu S., Wilson P.W., Jacques P.F.: Whole-grain intake is favorably associated with metabolic risk factors for type 2 diabetes and cardiovascular disease in the Framingham Offspring Study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002; 76(2): 390-398. – 10. Gawłoska-Kamocka A.: Kasze i gotowe do spożycia preparowane przetwory zbożowe. *Cukiernictwo i Piekarstwo* 2004; 1-2: 24-25.

11. Świdorski F.: Towaroznawstwo żywności przetworzonej. Wyd. SGGW, Warszawa 1999. – 12. Piekarska J., Łoś-Kuczera M.: Skład i wartość odżywcza produktów spożywczych. PZWŁ, Warszawa 1983. – 13. Souci S.W., Fachmann H., Kraut H.: Food Composition and Nutrition Tables. Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart 2002. – 14. Booth C.K., Reilly C., Farmakalidis E.: Mineral composition of Australian ready-to-eat breakfast cereals. *Journal of Food Composition and Analysis* 1996; 9: 135-147. – 15. Marzec Z., Kunachowicz H., Iwanow K., Rutkowska U.: Tablice zawartości pierwiastków śladowych. *Prace IŻŻ* 60, Warszawa 1992. – 16. Panczenko-Kresowska B., Ziemiański Ś.: Składniki mineralne – ich znaczenie w żywieniu człowieka. W: Normy żywienia człowieka – fizjologiczne podstawy. Red. Ziemiański Ś. Wydawnictwo Lekarskie PZWŁ, Warszawa 2001. – 17. Szefer P.: Zastosowanie technik chemometrycznych w analitycznej ocenie próbek biologicznych i środowiskowych. W: Nowe horyzonty i wyzwania w analityce i monitoringu środowiskowym. Red. Namieśnik J., Chrzanowski W., Szpinek P.: Centrum Doskonałości Analityki i Monitoringu Środowiskowego, Gdańsk 2003. – 18. Dobosz M.: Wspomagana komputerowo statystyczna analiza wyników badań. Akademicka Oficyna Wydawnicza EXIT, Warszawa 2004.

Adres: 80-416 Gdańsk, Al. Gen. J. Hallera 107.

Zbigniew Rzedzicki, Lidia Kondzielska

CHARAKTERYSTYKA SKŁADU CHEMICZNEGO WYBRANYCH
NISKO PRZETWORZONYCH ZBÓŻ ŚNIADANIOWYCH
ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM FRAKCJI
BŁONNIKA POKARMOWEGO

Zakład Projektowania Procesów Produkcyjnych Akademii Rolniczej w Lublinie
Kierownik: dr hab. inż. Z. Rzedzicki, prof. nadzw.

Badaniom poddano płatki owsiane zwykłe, płatki owsiane błyskawiczne, płatki owsiane górskie, płatki pszenne, płatki jęczmienne, płatki ryżowe, otręby owsiane, otręby pszenne oraz otręby pszenne błyskawiczne. Oznaczano zawartość wody, popiołu surowego, białka, tłuszczu, włókna surowego, włókna detergentowego i enzymatycznego. W większości badanych asortymentów producenci w ogóle nie podali składu chemicznego produktu. Płatki owsiane charakteryzowała niska rozpuszczalność suchej masy, wysoka zawartość białka oraz wysoka zawartość błonnika pokarmowego całkowitego w ilości ok. 15% s.m., w tym szczególnie cennego błonnika pokarmowego rozpuszczalnego w ilości 5,11–6,39% s.m.

Hasła kluczowe: zboża śniadaniowe, płatki zbożowe, skład chemiczny, błonnik pokarmowy.

Key words: breakfast cereals, cereals flakes, chemical composition, dietary fiber.

Przełom tysiącleci przyniósł nie tylko ogromny postęp, informatyzację i robotyzację procesów produkcyjnych, ale także niesamowite nasilenie chorób cywilizacyjnych. Choroby układu krążenia i choroby nowotworowe w krajach rozwiniętej Północy są przyczyną ponad 80% zgonów (1). Brak wysiłku fizycznego, brak ruchu, wadliwe odżywianie się, zbyt obfite i zbyt kaloryczne posiłki są codziennością w krajach rozwiniętych (2, 3, 4) i prowadzą w pierwszej kolejności do otyłości. *Ostrowska* i współpr. (5) stwierdzają wręcz: „Niezależnie od przyczyny nadwagi czy otyłości podstawowy mechanizm powiększania tkanki tłuszczowej polega na braku równowagi w ustroju pomiędzy dowozem kalorii i wydatkiem energii”. Co najmniej od 20 lat poszukuje się takich produktów spożywczych, które z jednej strony zapewnią uczucie sytości a z drugiej nie będą dostarczać nadwyżek energii, które nasz organizm musi odkładać w postaci tłuszczu (6). Taką właśnie szczególną rolę w diecie współczesnego człowieka bogatej Północy powinny odgrywać produkty zbożowe i zawarty w nich błonnik pokarmowy.

Produkty zbożowe dostarczają nie tylko podstawowych składników odżywczych, ale są także głównym źródłem błonnika pokarmowego. Zawartość błonnika pokarmowego i jego skład frakcyjny zależy od gatunku zboża, odmiany, warunków agrotechnicznych, budowy anatomicznej ziarna zbóż, grubości okrywy nasiennej

i warstwy aleuronowej, grubości ścian komórek bielma, stopnia lignifikacji okrywy nasiennej itp. Błonnik pokarmowy nie jest równomiernie rozmieszczony w ziarniaku i jego rozkład w ziarniakach jest uzależniony od gatunku zboża (7). Uwarunkowania te sprawiają, że produkty zbożowe, zależnie od technologii ich pozyskiwania, posiadają bardzo zróżnicowany skład chemiczny. Błonnik pokarmowy składa się z frakcji nierozpuszczalnej zawierającej głównie celulozę, nierozpuszczalne hemicelulozy i ligniny oraz frakcji zdolnej do pełnego lub częściowego zdyspergowania w środowisku uwodnionym. Głównymi składnikami błonnika rozpuszczalnego są substancje pektynowe, β -glukany, niektóre hemicelulozy, pentozany itp. Szczególnie korzystne dla organizmu są substancje rozpuszczalne, głównie (1 \rightarrow 3) (1 \rightarrow 4) β -D glukany, które posiadają zdolność obniżania poziomu cholesterolu LDL i VLDL przy równoczesnym zwiększeniu pożądanej frakcji HDL (8). Takich właśnie składników powinny dostarczać dobrej jakości zboża śniadaniowe. Produkty te, spożywane codziennie, powinny stanowić główne źródło błonnika pokarmowego o właściwym składzie frakcyjnym i powinny dostarczać także niezwykle cennego błonnika rozpuszczalnego o właściwym działaniu probiotycznym (9, 10). Badania *Rzedzickiego* (11) wykazały, że niektóre błyskawiczne zboża śniadaniowe w procesie produkcyjnym ulegają tak silnej degradacji, że posiadają rozpuszczalność suchej masy sięgającą nawet 50% i są do tego bardzo ubogie w białko i błonnik pokarmowy. Ponieważ brakuje badań dotyczących jakości zbóż śniadaniowych, oferowanych na polskim rynku, za cel niniejszej pracy postawiono przebadanie podstawowych asortymentów nisko przetworzonych zbóż śniadaniowych powszechnie dostępnych w sieci detalicznej.

MATERIAŁY I METODY

Przedmiotem badań były zakupione w handlu detalicznym płatki owsiane zwykłe, płatki owsiane błyskawiczne, płatki owsiane górskie, płatki pszenne, płatki jęczmienne, płatki ryżowe, otręby owsiane, otręby pszenne, oraz otręby pszenne błyskawiczne. W celu zapewnienia właściwej reprezentatywności prób, zakupu każdego asortymentu dokonywano w trzech różnych sklepach po trzy opakowania, z których po dokładnym wymieszaniu przygotowywano próbę średnią. W badanych próbach oznaczano zawartość wody metodą suszarkową (AACC, Method 44-15A), azotu ogólnego metodą *Kjedahl* (AACC, Method 46-08) stosując przelicznik 5,70 na białko, tłuszczu surowego metodą *Soxhleta* (AACC, Method 30-26), włókna surowego metodą weendejską (AACC, Method 32-10) oraz popiołu (AACC, Method 08-01). Ponieważ metoda weendejska nie obrazuje rzeczywistej zawartości błonnika w pożywieniu, w celu dokładniejszego określenia jego składu frakcyjnego wykonano oznaczenia błonnika pokarmowego metodą detergentową opracowaną przez *van Soesta* (12, 13) tj.: włókna neutralno-detergentowego (NDF), włókna kwaśno-detergentowego (ADF), celulozy (CEL), hemicelulozy (HCEL) i ligniny kwaśno-detergentowej (ADL). Oznaczono także zawartość błonnika metodą enzymatyczną (AOAC, Method 991.43; AACC, Method 32-07; AACC, Method 32-21; AOAC, Method 985.29; AACC, Method 32-05) oznaczając błonnik całkowity (TDF), nierozpuszczalny (IDF) i rozpuszczalny (SDF) (14). Próby poddano również badaniom właściwości fizycznych: wodochłonności metodą wirówkową (WAI) oraz określono rozpuszczalność suchej masy (WSI) wg metody wirówkowej (AACC, Method 56-20) w modyfikacji *Rzedzickiego* i współpr. (15). Wszystkie metody AACC i AOAC zaczerpnięto z *Approved Methods of AACC* (14). Oznaczenia błonnika pokarmowego metodą enzymatyczną wykonywano stosując zestaw enzymów i procedury firmy Megazyme. Poprawność oznaczeń weryfikowano wykorzystując „Zestaw kontrolny TDF” firmy Megazyme. Dodatkowo do każdej serii oznaczeń wprowadzano próby kontrolne z mieszanki kazeiny i skrobi. Analizy wykonywano w trzech powtórzeniach, obliczano wartość średnią, odchylenie standardowe i współczynnik zmienności. Jeżeli współczynnik zmienności przekraczał 10%, analizy wykonywano ponownie aż do uzyskania właściwego rozrzutu wyników.

WYNIKI I DYSKUSJA

Badane produkty śniadaniowe odznaczały się bardzo zróżnicowaną zawartością wody (tab. I). Większość produktów posiadała wilgotność w przedziale 9–13%. Jest to wilgotność równowagowa osiągnięta w warunkach składowania. Produkty poddane badaniom były obrabiane termicznie i ze względu na swoją higroskopijność powinny być szybko pakowane, aby nie uległy nawilżaniu (9). Tylko płatki pszenne i otręby pszenne miały wilgotność odpowiednio 3,28 oraz 4,30%, co wskazuje na poprawne przeprowadzenie procesu pakowania i hermetyczność opakowań. Niska wilgotność płatków pszennych jest uzasadniona procesem toastowania, natomiast niska wilgotność otręb pszennych wskazuje, że i ten produkt musiał być poddany bardzo intensywnej obróbce termicznej i intensywnemu suszeniu.

Tabela I

Wyniki badań wilgotności, wodochłonności (WAI), rozpuszczalności suchej masy (WSI) oraz zawartości popiołu (% s.m.)

Table I

Moisture content, WAI, WSI and ash content of analysed cereals (% dry matter)

Nr próby	Nazwa produktu	Wilgotność (%)	WAI (%)	WSI (%)	Popiół (%)	Popiół nierozp. (%)
		$\bar{x} \pm SD$				
1	Płatki owsiane zwykłe	10,85 ± 0,52	136,25 ± 10,48	4,03 ± 0,15	1,96 ± 0,04	0,18 ± 0,009
2	Płatki owsiane błysk.	9,23 ± 0,38	151,67 ± 11,22	3,63 ± 0,09	1,91 ± 0,03	0,17 ± 0,07
3	Płatki owsiane górskie	8,92 ± 0,25	140,34 ± 11,85	3,80 ± 0,08	1,92 ± 0,04	0,14 ± 0,07
4	Płatki pszenne	3,28 ± 0,09	738,88 ± 20,85	25,12 ± 0,92	2,08 ± 0,04	0,04 ± 0,003
5	Płatki jęczmienne błysk.	13,02 ± 0,37	180,42 ± 8,64	4,00 ± 0,14	0,93 ± 0,02	0,02 ± 0,001
6	Płatki ryżowe	13,56 ± 0,42	335,09 ± 12,08	2,67 ± 0,08	0,28 ± 0,01	0,02 ± 0,001
7	Otręby owsiane	9,26 ± 0,18	163,60 ± 7,22	4,18 ± 0,12	2,18 ± 0,04	0,21 ± 0,01
8	Otręby pszenne	4,30 ± 0,16	188,51 ± 9,23	6,64 ± 0,15	2,15 ± 0,03	0,01 ± 0,001
9	Otręby pszenne błysk.	7,14 ± 0,11	569,55 ± 13,21	12,36 ± 0,22	6,25 ± 0,05	0,01 ± 0,001

WAI – wodochłonność; WSI – rozpuszczalność suchej masy.

Badane produkty odznaczały się bardzo zróżnicowaną zdolnością wiązania wody (tab. I). Ta właściwość fizyczna zależy głównie od intensywności przeprowadzonej w procesie technologicznym obróbki termicznej. Największą wodochłonność wykazywały płatki pszenne (738,88%) i otręby pszenne błyskawiczne (569,55%). Umiarkowaną wodochłonność w ilości 335% posiadały płatki ryżowe. Pozostałe asortymenty miały wodochłonność zdecydowanie poniżej 200%. Miarą intensywności obróbki termicznej i termoplastycznej są zawsze wyniki rozpuszczalności suchej masy (WSI). Są one ujemnie skorelowane z wartościami wodochłonności (WAI). Wyższej wodochłonności danego produktu odpowiadają zawsze niższe wartości rozpuszczalności suchej masy (WSI) i odwrotnie. Wartości WSI płatków owsianych kształtowały się w przedziale 3,63%–4,03%. Podobnie bardzo niskie wartości WSI wykazywały płatki ryżowe (2,67%). Stosunkowo wysokie wartości WSI w ilości 25,12% odnotowano dla płatków pszennych, niższą wartość 12,36% uzyskano dla otręb pszennych błyskawicznych. Należy jednak podkreślić, że nawet najwyższe, odnotowane tu wartości rozpuszczalności suchej masy są niewielkie w porównaniu do zbóż błyskawicznych, gdzie dla niektórych płatków kukurydzianych notowano rozpuszczalność suchej masy sięgającą nawet 50% (11).

Pod względem zawartości popiołu badane produkty odznaczały się dużym zróżnicowaniem. Badane asortymenty płatków owsianych wykazywały zbliżony udział popiołu. Świadczy to o uzyskaniu w trakcie produkcji zbliżonego stopnia obłuskiwania ziarna i czyszczenia białego. Odnotowano także znacznie wyższą popiołowość otręb owsianych niż płatków owsianych, chociaż otręby owsiane, w odróżnieniu od otręb pszennych, nie są tylko zewnętrzną warstwą ziarniaków. Najmniejszą zawartość popiołu wykazały płatki ryżowe, z pewnością wyprodukowane z obłuszczonego i polerowanego pęczaku ryżowego. Bardzo niska popiołowość płatków jęczmiennych także wskazuje na podobną technologię produkcji i staranne obłuszczenie ziarna. Odnotowano także wysokie różnice w zawartości popiołu

między dwoma badanymi rodzajami otręb pszennych. W otrębach pszennych błyskawicznych odnotowano aż 6,25% popiołu natomiast w otrębach pszennych zwykłych tylko 2,15%. Należy także pamiętać, że tak wysokie wartości popiołowości uzyskano pomimo tego, że część zanieczyszczeń mineralnych jest usuwana już w czasie czyszczenia czarnego, znaczna część w czasie czyszczenia białego (szorowania ziarna) i część popiołu trafia także do mąki. Przeprowadzone badania rozpuszczalności popiołu (tab. I) wykazały także bardzo niski udział popiołu nierozpuszczalnego, pochodzącego z zanieczyszczeń mineralnych.

Zawartość białka w badanych płatkach (tab. II) kształtowała się na poziomie od 7,81% do 15,83% s.m. i zależała głównie od gatunku użytego do produkcji zboża i technologii produkcji. Jak można było oczekiwać, największą zawartością białka charakteryzowały się otręby pszenne błyskawiczne. Podobne wartości odnotowano także dla otręb pszennych zwykłych. Zgodnie z oczekiwaniami, najmniej tego składnika (7,81%) stwierdzono w płatkach ryżowych. Niską zawartość białka odnotowano także w płatkach pszennych (8,99%). Zawartość białka w otrębach owsianych była nieznacznie wyższa niż w płatkach owsianych. W przypadku otręb owsianych oraz płatków jęczmiennych błyskawicznych odnotowano znaczne różnice w ilościach białka oznaczonych i deklarowanych przez producentów (tab. II). Producenci płatków owsianych zwykłych, błyskawicznych, górskich oraz płatków ryżowych w ogóle nie podali składu chemicznego produktu.

Tabela II
Deklarowana i oznaczona zawartość białka i tłuszczu w badanych zbożach śniadaniowych (% s.m.)

Table II
Declared and measured content of protein and fat in examined breakfast cereals (% d.b.)

Nr próby	Nazwa produktu	Białko oznaczone (%) $\bar{x} \pm SD$	Białko deklarowane (%)	Tłuszcz oznaczony (%) $\bar{x} \pm SD$	Tłuszcz deklarowany (%)
1	Płatki owsiane zwykłe	14,32 \pm 0,32	nie podano	7,74 \pm 0,12	nie podano
2	Płatki owsiane błysk.	12,17 \pm 0,28	nie podano	7,25 \pm 0,13	nie podano
3	Płatki owsiane górskie	13,21 \pm 0,31	nie podano	7,70 \pm 0,11	nie podano
4	Płatki pszenne	8,99 \pm 0,22	8,6	0,49 \pm 0,02	2,1
5	Płatki jęczmienne błysk.	13,18 \pm 0,25	9,8	1,03 \pm 0,02	3,6
6	Płatki ryżowe	7,81 \pm 0,16	nie podano	0,16 \pm 0,01	nie podano
7	Otręby owsiane	14,68 \pm 0,31	18,0	7,77 \pm 0,10	9,0
8	Otręby pszenne	15,78 \pm 0,29	16,0	2,02 \pm 0,05	4,6
9	Otręby pszenne błysk.	15,83 \pm 0,24	nie podano	3,85 \pm 0,06	nie podano

Badane płatki zbożowe odznaczały się zróżnicowaną zawartością tłuszczu od 0,16% dla płatków ryżowych do 7,77% dla otręb owsianych. Tak duże rozbieżności uzasadnione są zawartością tłuszczu w zastosowanych surowcach. Brak jednak uzasadnienia dla oznaczonej wysokiej zawartości tłuszczu w otrębach pszennych błyskawicznych w ilości 3,85%. Można domniemywać, że ten wyrób był dodatkowo natłuszczany. W otrębach pszennych zadeklarowano 4,6% tłuszczu – oznaczono 2,02%, w płatkach jęczmiennych zadeklarowano 3,6% – oznaczono 1,03%, w płatkach pszennych zadeklarowano 2,1% – oznaczono 0,49%. Tak wysokie deklarowane wartości wskazują, że wyroby te powinny być z założenia natłuszczane, bowiem zastosowany wsad surowcowy wyklucza uzyskanie takich zawartości tłuszczu w wyrobach gotowych. Ziarno pszenicy przeznaczone na zboża śniadaniowe powinno być poddane intensywnemu czyszczeniu białemu lub nawet częściowemu łuszczeniu, ziarno jęczmienia poddaje się intensywnemu łuszczeniu na łuszcarkach szmerglowych. W każdej z tych operacji usuwany jest częściowo zarodek, co z pewnością wpłynęło na obniżenie zawartości tłuszczu. Dla pięciu badanych wyrobów producenci, podobnie jak przy białku, w ogóle nie podali zawartości tłuszczu.

Ze względu na specyfikę badanych wyrobów, błonnik pokarmowy jest składnikiem decydującym w głównej mierze o jakości tego typu produktów. Mając to na uwadze, przeprowadzono badania porównawcze zawartości składników strukturalnych przy zastosowaniu trzech różnych metod analitycz-

nych: metody *Weende* (włókno surowe), metody detergentowej oraz metody enzymatycznej (tab. III). Badane wyroby odznaczały się bardzo zróżnicowaną zawartością włókna surowego: od 0,15% w płatkach ryżowych do 11,80% s.m. w otrębach pszennych błyskawicznych. Otręby pszenne błyskawiczne zawierały ponad trzykrotnie więcej włókna surowego (11,80%) niż pochodzące z tego samego gatunku zboża otręby pszenne (3,80%). Rozbieżności w zawartościach włókna surowego korespondują z wartościami popiołowości tych wyrobów.

Przy zastosowaniu metody detergentowej uzyskano inny układ wyników. W badanych płatkach owsianych zwykłych, błyskawicznych, górskich, płatkach pszennych, płatkach jęczmiennych oraz otrębach owsianych uzyskano zbliżony poziom NDF w przedziale 8,62% dla płatków pszennych do 10,20% dla płatków owsianych zwykłych. Od tych wartości, zgodnie z oczekiwaniami, odbiegały płatki ryżowe (2,30% NDF), otręby pszenne (20,70% NDF) oraz otręby pszenne błyskawiczne (55,91% NDF). Na uwagę zasługują wyniki oznaczeń błonnika dla płatków jęczmiennych. Przy najniższej zawartości ligniny i celulozy, wystąpiła największa koncentracja hemiceluloz rozpuszczalnych (8,87% s. m.) w kwaśnym detergencie. Rezultaty te korespondują z tezami *Piesiewicz* i *Bartnikowskiej* (16), że cechą charakterystyczną dla błonnika jęczmienia i owsa jest właśnie duża zawartość hemiceluloz, gdzie w ziarnie jęczmienia poziom tego składnika może osiągać 12% s. m. a w owsie nawet 15,8 %. Odnotowano także znaczącą zawartość ligniny w płatkach owsianych, prawie dwukrotnie wyższą w stosunku do płatków pszennych i jęczmiennych. Jest to efekt dość intensywnej obróbki termicznej produktów w czasie prażenia i powstawania produktów reakcji Maillarda. Ponieważ związki te są odporne na działanie 72% kwasu siarkowego, stosowanego od utleniania celulozy podczas oznaczania ligniny kwaśno-detergentowej, powiększają one frakcję ligniny. Wśród badanych płatków najniższymi wartościami dla wszystkich frakcji błonnika detergentowego charakteryzowały się płatki ryżowe, podobnie jak w przypadku włókna surowego. Wyniki oznaczeń poszczególnych frakcji błonnika w badanych asortymentach otrąb pszennych świadczą wyraźnie o zróżnicowanej ich jakości. Poziom NDF był prawie trzykrotnie a ADF aż czterokrotnie wyższy w otrębach błyskawicznych niż zwykłych.

Chemiczne metody oznaczenia błonnika nie oddają w pełni fizjologicznych warunków trawienia. Przeprowadzono dodatkowo badania z wykorzystaniem metod enzymatycznych. W badanych asortymentach płatków owsianych zawartość błonnika całkowitego była zbliżona i mieściła się w granicach 14,43–15,91% s. m. Jak podaje *Bartnik* i współpr. (17) cechą charakterystyczną dla owsa jest wysoka prawie 50% zawartość związków rozpuszczalnych w wodzie; w naszych badaniach odnotowano nieco niższe zawartości błonnika rozpuszczalnego. W badanych płatkach owsianych stwierdzono od 32% do 43% udziału błonnika rozpuszczalnego w błonniku całkowitym, przy czym w płatkach zwykłych przy największej zawartości błonnika całkowitego wystąpił najmniejszy udział związków rozpuszczalnych. Także w płatkach jęczmiennych stwierdzono prawie 50% udział związków rozpuszczalnych w wodzie w stosunku do całości występującego błonnika. Enzymatyczna metoda oznaczania błonnika potwierdziła wcześniejsze tendencje zaobserwowane w metodzie detergentowej. W badanych otrębach owsianych poziom błonnika pokarmowego, jego frakcji rozpuszczalnej i nierozpuszczalnej, odbiegał tylko nieznacznie od zawartości tego składników w analizowanych płatkach owsianych. Dowodzi to wadliwości technologii produkcji otrąb owsianych, w której nie udało się zwiększyć koncentracji (1 → 3) (1 → 4) β -D glukanów. Mija się z celem produkcja otrąb owsianych, w których udział błonnika rozpuszczalnego wynosi 6,74%, podczas gdy w płatkach owsianych błyskawicznych odnotowano 6,39% SDF; w dobrej jakości otrębach owsianych powinno być około 8% samych tylko (1 → 3) (1 → 4) β -D glukanów (7).

Zawartość błonnika całkowitego w otrębach pszennych wynosiła 22,08%, w otrębach pszennych błyskawicznych odnotowano aż 64,30%. Wartości te korespondują z podnoszoną wyżej popiołowością oraz wynikami oznaczeń z metody detergentowej (NDF). Otręby pszenne błyskawiczne okazały się wątpliwym źródłem błonnika pokarmowego. Tylko 7,11% s.m. tych otrąb stanowił błonnik rozpuszczalny, który może podlegać procesom fermentacyjnym w jelicie grubym, reszta (57,19% s.m.) to tylko balastotwórczy błonnik nierozpuszczalny. Dobre źródła błonnika pokarmowego powinny, zdaniem wielu badaczy, dostarczać w pierwszej kolejności cennych frakcji prebiotycznych (3). Należy podkreślić, że otręby pszenne błyskawiczne odznaczały się bardzo wysoką popiołowością i bardzo wysoką zawartością błonnika pokarmowego całkowitego. Jest to więc dokładnie wymielona, starannie odsiana, pozbawiona frakcji mączystych, natłuszczona okrywa owocowo-nasienna. Zbliżone zawartości błonnika pokarmowego notowano bowiem w ekstrudowanych mieszankach kaszki kukurydzianej z 80% udziałem okrywy nasiennej grochu (18).

W przypadku błonnika pokarmowego producenci także nie podali rzeczywistej zawartości tego składnika (tab. III). Na badanych dziewięć asortymentów, w pięciu przypadkach nie podano w ogóle żadnej informacji na ten temat. Tylko dla otrąb owsianych i płatków pszennych wartości deklarowane

Tabela III
Oznaczona zawartość włókna surowego, detergentowego i enzymatycznego oraz deklarowana zawartość błonnika (% s.m.)

Tabela III
Measured content of crude fibre, detergent fibre and enzymatic fibre, and declared content of dietary fibre (% dry matter)

Nr próbny	Nazwa produktu	Włókno sur. (%)	NDF (%)	ADF (%)	HCEL (%)	CEL (%)	ADL (%)	TDF (%)	IDF (%)	SDF (%)	Błonnik dekl. (%)
1	Płatki owsiane zwykłe	2,15 ± 0,04	10,20 ± 0,32	2,47 ± 0,008	7,73 ± 0,12	1,03 ± 0,02	1,44 ± 0,02	15,91 ± 0,73	10,80 ± 0,32	5,11 ± 0,11	nie podano
2	Płatki owsiane błysk.	1,55 ± 0,03	9,52 ± 0,34	2,10 ± 0,009	7,42 ± 0,11	0,93 ± 0,01	1,17 ± 0,02	14,83 ± 0,64	8,44 ± 0,28	6,39 ± 0,08	nie podano
3	Płatki owsiane górskie	1,54 ± 0,03	9,71 ± 0,28	2,10 ± 0,006	7,61 ± 0,12	1,00 ± 0,02	1,10 ± 0,01	14,43 ± 0,81	8,64 ± 0,25	5,79 ± 0,09	nie podano
4	Płatki pszenne	1,18 ± 0,02	8,62 ± 0,31	1,83 ± 0,005	6,79 ± 0,10	1,17 ± 0,03	0,66 ± 0,007	7,97 ± 0,27	5,50 ± 0,16	2,47 ± 0,05	7,5
5	Płatki jęczmienne błysk.	0,51 ± 0,01	9,76 ± 0,26	0,89 ± 0,004	8,87 ± 0,09	0,55 ± 0,01	0,34 ± 0,04	10,82 ± 0,33	5,14 ± 0,12	5,68 ± 0,07	nie podano
6	Płatki ryżowe	0,15 ± 0,002	2,30 ± 0,08	0,59 ± 0,002	1,71 ± 0,02	0,22 ± 0,01	0,37 ± 0,03	1,65 ± 0,02	0,66 ± 0,17	0,99 ± 0,01	nie podano
7	Otręby owsiane	1,51 ± 0,03	8,87 ± 0,15	2,25 ± 0,006	6,62 ± 0,08	1,04 ± 0,03	1,21 ± 0,06	17,54 ± 0,29	10,80 ± 0,29	6,74 ± 0,03	15,0
8	Otręby pszenne	3,80 ± 0,05	20,70 ± 0,76	4,44 ± 0,01	16,26 ± 0,33	3,52 ± 0,04	0,92 ± 0,01	22,08 ± 0,79	18,98 ± 0,35	3,10 ± 0,02	42,4
9	Otręby pszenne błysk.	11,80 ± 0,82	55,91 ± 1,16	17,18 ± 0,35	38,73 ± 0,46	12,90 ± 0,22	4,28 ± 0,15	64,30 ± 1,37	57,19 ± 1,98	7,11 ± 0,07	30 – 40

NDF – Włókno neutralnodetergentowe; ADF – Włókno kwasnodetergentowe; CEL – Celuloza; HCEL – Hemiceluloza; ADL – Lignina kwasnodetergentowa; TDF – Błonnik całkowity; IDF – Błonnik nierozpuszczalny; SDF – Błonnik rozpuszczalny.

były zbliżone do wartości oznaczonych. W przypadku otrąb pszennych deklarowano 42,4% błonnika, oznaczono tylko 22,08 % TDF, dla otrąb pszennych błyskawicznych deklarowano 30–40%, oznaczono natomiast zdecydowanie więcej bo aż 64,34% TDF.

Zestawione wyniki metody detergentowej i enzymatycznej pozwalają nieco inaczej spojrzeć na frakcję hemiceluloz i błonnika rozpuszczalnego. Twierdzi się dość powszechnie, że hemicelulozy są dobrym źródłem błonnika rozpuszczalnego. Zestawione wyniki wskazują, że wcale tak być nie musi. Otręby pszenne błyskawiczne zawierały 38,73% s.m. hemiceluloz, ale tylko 7,11% s.m. błonnika rozpuszczalnego, otręby pszenne zwykle zawierały 17,76% hemiceluloz w s.m. ale tylko 3,10% s.m. stanowi błonnik rozpuszczalny. Odmienne zależności występują w przypadku produktów owsianych i jęczmiennych; uzyskane wyniki dla hemiceluloz są bardzo zbliżone do wartości błonnika rozpuszczalnego.

Jakość badanych produktów, oprócz uwarunkowań technologicznych, jest z pewnością wypadkową sytuacji na rynku zbożowym w Polsce. Ogromne zróżnicowanie odmianowe, brak rejonizacji odmian, ogromne rozdrobnienie gospodarstw rolnych sprawiają, że zakłady przetwórcze przerabiają mieszanki odmianowe o bardzo zróżnicowanym składzie chemicznym. To zróżnicowanie musi się przenieść na cechy jakościowe produktu gotowego. Pomimo takiej sytuacji, na szczególną uwagę zasługują przetwory owsiane. Charakteryzuje je bardzo niska rozpuszczalność suchej masy, wysoka zawartość białka, i co szczególnie istotne, wysoka zawartość błonnika rozpuszczalnego. Te produkty powinny wejść zdecydowanie na stałe do naszej codziennej diety.

Zestawione w pracy wyniki oznaczeń związków strukturalnych z trzech różnych metod: enzymatycznej, detergentowej i weendejskiej (tab. III) posiadają także watek metodyczny. Analizując wyniki tabeli III należy podkreślić, że nie ma żadnego współczynnika proporcjonalności pomiędzy tymi metodami. Podobne zależności prezentuje także praca *Anioły* i in. (19). Do oznaczania błonnika pokarmowego zdecydowanie najbardziej nadaje się metoda enzymatyczna, gdyż tylko ona odzwierciedla fizjologiczną definicję błonnika pokarmowego. Metoda enzymatyczna stosowana jest jednak zaledwie od kilku lat, stąd starsze prace, starsze podręczniki bazują na metodzie weendejskiej lub detergentowej. Jest to szczególnie istotne w przypadku bilansowania składników odżywczych diety, na co między innymi zwraca uwagę *Paczkowska* i *Kunachowicz* (20) podkreślając znaczne rozbieżności pomiędzy wartościami oznaczonymi błonnika pokarmowego i wyliczonymi teoretycznie. Odnotowany przez *Szewczyńskiego* i *Ostrowską* (21) wzrost spożycia błonnika pokarmowego w ciągu ostatnich 20 lat prawie o 30% jest więc rzeczywistym wzrostem spożycia, czy też jest wynikiem zmiany metod oznaczania składników strukturalnych; w latach siedemdziesiątych XX wieku powszechnie stosowano bowiem tylko metodę weendejską.

Konieczne są zatem dalsze, szerokie badania zawartości błonnika pokarmowego w produktach spożywczych z zastosowaniem najnowszych metod enzymatycznych AACC i AOAC, gdyż tylko wyniki takich badań mogą stanowić podstawę poprawnego bilansowania składników odżywczych pożywienia.

WNIOSKI

1. Zdecydowanie najlepszym składem chemicznym cechowały się produkty owsiane, w szczególności składem frakcyjnym błonnika pokarmowego.

2. Badane nisko przetworzone zboża śniadaniowe charakteryzowała niska rozpuszczalność suchej masy. Na szczególną uwagę zasługuje bardzo niska rozpuszczalność przetworów owsianych.

3. W badanych 9 asortymentach przetworów zbożowych, w 5 przypadkach producenci nie podali w ogóle składu chemicznego produktu, w pozostałych przypadkach wartości deklarowane przez producentów często odbiegały od oznaczonych w badaniach.

4. Przedstawione oznaczenia składników strukturalnych prezentują ogromne zróżnicowanie wyników uzyskanych przy zastosowaniu trzech różnych metod.

5. W badaniach produktów zbożowych, szczególnie termicznie obrabianych, poleca się enzymatyczną metodę oznaczania błonnika; metoda włókna surowego

jest zupełnie nieprzydatna, metoda detergentowa pozwala tylko na orientacyjne śledzenie kierunkowości zmian.

6. Konieczne są dalsze, szerokie badania zawartości błonnika pokarmowego w produktach spożywczych przy zastosowaniu najnowszych metod AACC i AO-AC, gdyż tylko wyniki takich analiz mogą stanowić podstawę poprawnego bilansowania składników odżywczych żywności.

Z. Rzedzicki, L. Kondzielska

CHARACTERISTICS OF CHEMICAL COMPOSITION
OF SELECTED HOT BREAKFAST CEREALS, AND FRACTIONAL COMPOSITION
OF DIETARY FIBRE IN PARTICULAR

Summary

Chemical composition of selected brands of hot breakfast cereals was determined, including oat flakes, oat instant flakes, oat mountains flakes, wheat flakes, barley flakes, rice flakes, oat bran, wheat bran and instant wheat bran. Moisture content, crude ash, insoluble ash, crude protein, crude fat and crude fibre were analysed. Fractional composition of dietary fibre was also analysed using the detergent and enzymatic methods. Basic physical properties: water solubility and water holding capacity were also measured. In most cases, the manufacturers did not specify the chemical composition of the product at all. Among other instant breakfast cereals, oat flakes deserve particular recommendation. They have very low solubility of dry matter and contain high amount of total dietary fibre (15% dry matter) and of soluble dietary fibre (5.11-6.39% dry matter). Cereal products like that constitute the basis of the "nutrient pyramid".

PIŚMIENNICTWO

1. Jones J.M.: Dietary advice in North America: the good, the bad and the unheeded. In: *Advanced Dietary Fibre Technology*. Blackwell Science, U.K., 2001; 13-22. – 2. Aldoori W., Gio Vannucci E., Rockett H., Sampson L., Rimm E., Willett W.: A prospective study of dietary fiber types and symptomatic diverticular disease in men. *J. Nutr.*, 1997; 127/5: 714-719. – 3. Jenkins D.J.A., Jenkins A.J., Kendall C.W.C., Vuksan A.V.: Dietary fibre, carbohydrate metabolism and chronic disease. In: *Dietary Fiber in Health and Disease*, Eagan Press, St. Paul, Minesota, USA, 1995; 162-167. – 4. Rowland I.: Non-digestible carbohydrates and gut function: implications for carcinogenesis. In: *Advanced Dietary Fibre Technology*. Blackwell Science, U.K., 2001; 226-231. – 5. Ostrowska L., Stefańska E., Czapska D., Karczewski J.: Ocena dziennych racji pokarmowych grupy osób z nadwagą lub otyłością. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2003; 36: 123-130. – 6. Kahlon T., Edwards R., Chow F.: Effect of extrusion on hypocholesterolemic properties of rice, oat, corn and wheat bran diets in hamsters. *Cereal Chem.*, 1998; 75: 897-903. – 7. Wood P.J.: Oat Bran. AACC, St. Paul, Minesota, USA., 1993. – 8. Lia A., Anderson H., Mekki N., Juhel C., Lairon D.: Postprandial lipidemia in relation to sterol and fat excretion in ileostomy subjects given oat bran and wheat test meals. *Am. J. Cl. Nutr.*, 1997; 66: 357-365. – 9. Fast R.B., Caldwell F.: *Breakfast Cereals And How They Are Made*. AACC, Inc., St. Paul, Minesota, USA, 2000. – 10. Gąsiorowski H.: Współczesny pogląd na walory fizjologiczno-żywnościowe owsa. *Żywność*, 1999; 1(18) supl., 193-195.

11. Rzedzicki Z.: Badania składu chemicznego wybranych błyskawicznych zbóż śniadaniowych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005; 38: 141-146. – 12. Van Soest P.J.: Use of detergents in the analysis of fibrous Leeds. II: A rapid method for the determination of fiber and lignin. *Journal of A.O.A.C.*, 1963; 46: 829-835. – 13. Van Soest P.J., Wine R.H.: Use of detergents in the analysis of fibrous Leeds. IV: Determination of plant cell-wall constituents. *Journal of A.O.A.C.*, 1967; 50: 50-51. – 14. *Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists (AACC)*, 2000. – 15. Rzedzicki Z., Myszka A., Kasprzak M.: Badania nad metodą oznaczania współczynnika rozpuszczalności suchej masy. *Annales*

UMCS, 2004; 59, Sectio E, no 1: 323-328. – 16. *Piesiewicz H., Bartnikowska E.*: Zboże i jego przetwory – kopalnia składników włókna pokarmowego. Przegląd Piek. i Cukier., 1997; 5: 3-6. – 17. *Bartnik M., Rothkaehl J.*: Owies zboże warte zainteresowania. Przem. Spoż., 1997; 6: 17-19. – 18. *Rzedzicki Z., Kozłowska H., Troszyńska A.*: Application of pea hulls for extrudate production. Pol. J. Food Nutr. Sci., 2004; 13/54: 363-368. – 19. *Aniola J., Górecka D.*: Charakterystyka zawartości i składu włókna pokarmowego nowych preparatów wysokobłonnikowych. Bromat. Chem. Toksykol., 2004; 37: 145-148. – 20. *Paczkowska M., Kunachowicz H.*: Porównanie zawartości błonnika pokarmowego i jego frakcji oznaczonych analitycznie i obliczonych teoretycznie w wybranych gatunkach pieczywa. Bromat. Chem. Toksykol., 2003; 36: 25-31.

21. *Szewczyński J., Ostrowska A.*: Przeobrażenia sposobu żywienia studentów Akademii Medycznej w Warszawie w latach 1970–2000. Bromat. Chem. Toksykol., 2004; 37: 381-386.

Adres: 20-704 Lublin, ul. Skromna 8.

Anna Wojtasik, Hanna Kunachowicz, Wojciech Kłys

WYSTĘPOWANIE ALERGENÓW W PRODUKTACH ŻYWNOŚCIOWYCH ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM BIAŁEK ROŚLINNYCH^{*)}

Zakład Wartości Odżywczych Żywności Instytutu Żywności i Żywienia w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. *H. Kunachowicz*

We współczesnej Europie, jak również na świecie występuje tendencja wzrostowa zachorowań na alergię pokarmową. Wzrost ten wynika z niekorzystnego współdziałania czynników genetycznych i środowiskowych. Alergie występują u ludzi w różnym wieku, częściej u niemowląt i ludzi starszych. Odnotowuje się też alergie u zwierząt domowych, co potwierdza wpływ warunków środowiskowych na wywoływanie tych reakcji.

Dane na temat częstotliwości występowania alergii są czasami dyskusyjne, jednak ogólnie szacuje się, że ok. 6–8% dzieci i do 2% dorosłych wykazuje reakcje alergiczne spowodowane spożyciem niektórych produktów lub składników żywności (1, 2).

Pod pojęciem alergii pokarmowej (food allergy) rozumiemy nieprawidłową immunologiczną odpowiedź organizmu na zwyczajowo spożywane produkty lub związki dodawane do żywności (3, 4, 5, 6). Alergie pokarmowe mogą potencjalnie wystąpić u każdego człowieka, jednakże zasadniczą rolę odgrywają tu uwarunkowania genetyczne. Są odczuwalne nawet po spożyciu małej ilości pokarmu.

Według Europejskiej Akademii Alergologii i Immunologii Klinicznej (EAACI) z 1995 r. alergie można podzielić na toksyczne i nietoksyczne (7).

Toksyczne (odpowiadające zatruciu pokarmowemu) są proporcjonalne do ilości spożytego pokarmu. Nietoksyczne dzielą się na:

- alergię pokarmową – spowodowaną patogenetycznymi mechanizmami immunologicznymi (obecne przeciwciała IgE i uczulone limfocyty, zaburzone limfocyty Tn/Ts)
- nietolerancję pokarmową – spowodowaną mechanizmami nieimmunologicznymi np. brakiem lub niską aktywnością niektórych enzymów (np. laktazy).

Objawami alergii pokarmowej są zmiany skórne (np. egzema), zaburzenia ze strony układu oddechowego, układu pokarmowego (np. biegunki) lub zaburzenia układu sercowo-naczyniowego. Najcięższym przypadkiem jest szok anafilaktyczny.

Stwierdzono, że ok. 90% wszystkich IgE-zależnych alergii pokarmowych wywoływanych jest pod wpływem spożywania żywności bądź surowców pochodzących ze ściśle określonych źródeł (8).

Na polu alergii/nietolerancji celiakia ma specyficzną pozycję. Szacuje się, że występuje ona z częstotliwością 1 : 300. Z pewnością celiakia jest chorobą o nienormalnej odpowiedzi immunologicznej u wrażliwych indywidualnych osób na wchłanianie niektórych peptydów ze zbóż. Wykazano, że częstotliwość występowania celiakii jest różna w poszczególnych krajach świata oraz że niektóre populacje mają duże ryzyko rozwoju tej choroby, np. ludność irlandzka (9, 10). Wiadomo też, że przewaga celiakii jest u pacjentów z rodzin z celiakią (11, 12).

Genetyczne predyspozycje z jednej strony oraz zwiększenie zawartości glutenu w zbożach z drugiej mają swoje historyczne podłoże. Człowiek pierwotny, prowadzący koczowniczy tryb życia i trudniący się łowiectwem, nie spożywał glutenu. Stopniowe przechodzenie na osiadły tryb życia spowodowało rozwój rolnictwa, opartego głównie na uprawie roślin nie zawierających glutenu takich, jak ryż w Azji, sorgo i proso w Afryce, kukurydza w Ameryce. Jedynie w małym trójkącie w południowo-wschodniej Azji, używanym przez cyklicznie wylewające wody Tygrysu i Eufratu, specyficzne warunki środowis-

^{*)} Praca wykonana w ramach Projektu PBZ-KBN-097/P06/2003.

ka pozwoliły na stopniowe wprowadzanie do uprawy dzikich odmian pszenicy i jęczmienia. Przez tysiąclecia wzrost populacji na tych terenach stworzył konieczność poszukiwania nowych miejsc do uprawy i spowodował migrację ludności na obszary dzisiejszej Europy. Nastąpiło mieszanie się przybyłej ludności rolniczej z miejscowymi koczowniczymi plemionami, jak również zmiany w sposobie żywienia rdzennych mieszkańców, których dieta wcześniej nie zawierała zbóż. Z tego względu nie byli oni zaadaptowani do tych zmian, a ich układ genetyczny nie rozpoznawał glutenu jako tolerowanego białka, dostępnego dla trawienia i wchłaniania w organizmie. Przez stulecia wprowadzanie pszenicy i jęczmienia do diety mogło nie dawać u tych ludzi żadnych niekorzystnych objawów, ponieważ zarówno dziko rosnące, jak i pierwotnie uprawiane zboża odznaczały się dużą różnorodnością odmian i mogły zawierać mało glutenu. Wraz z rozwojem rolnictwa i dążeniem do poprawienia jakości wypiekowej mąki następowało stopniowe zawężanie liczby odmian uprawnych oraz wzrost zawartości glutenu w ziarnie. Obecnie w niektórych odmianach pszenicy zawartość glutenu może sięgać 50% zawartości białka (13). Zmiany te spowodowały nasilenie się niekorzystnych reakcji organizmu na spożywany gluten u osób z genetyczną predyspozycją (9, 10).

W ostatnich latach stwierdzono, że szczególnie związane z celiakią są geny występujące na chromosomie 6 – tzw. HLA klasy II (Human Leukocyte Antigens class II). Analiza antygeny HLA wskazuje, że grupa zawierająca HLA 38, DR 3, DrR 7 i DQ ω 2 powoduje ryzyko celiakii (11, 12, 14, 15).

Żywność jako źródło alergenów

Wracając do problematyki związanej z żywnością należy podkreślić, że wprowadza ona do organizmu cały szereg substancji; niektóre z nich w określonych przypadkach mogą działać jak antygeny. Antygeny są to złożone cząsteczki rozpoznawalne przez immunokompetentne komórki jako obce (białka złożone). Mają one zdolność do wzbudzania wytwarzania przeciwciał w organizmie (immunogenność) oraz do reagowania z przeciwciałami (antygenowość).

Alergeny są to antygeny, które zapoczątkowują i odpowiadają za ujawnienie się reakcji alergicznej IgE – zależnej (typu I). Zazwyczaj alergeny są białkami lub glikoproteinami o ciężarze cząsteczkowym 5–50 kilodaltonów (kDa) (1, 16). Najniższa wartość masy cząsteczkowej ma znaczenie dla immunogenności, najwyższa warunkuje zdolność penetracji przez błonę śluzową. Wchłanianie przez śluzówkę jelita inicjuje reakcje alergiczne.

Molekularną podstawą tych zmian są epitopy. Są to determinanty antygenowe, które są fragmentem łańcuchów polipeptydowych o charakterystycznej sekwencji aminokwasów. Jedna cząsteczka antygeny może zawierać wiele epitopów, przy czym w zależności od struktury wyróżnia się epitopy liniowe i epitopy konformacyjne o trójwymiarowej strukturze warunkującej swoistość epitopu. Różnice w odpowiedzi immunologicznej u poszczególnych chorych warunkują nie tylko różne alergeny, ale również różne epitopy tej samej cząsteczki alergenu.

Epitopy mogą mieć charakter:

- sekwencyjny (liniowy) – w tym przypadku mówimy o układzie kolejnych aminokwasów w łańcuchu peptydowym; te fragmenty struktury pierwszorzędowej są rozpoznawane przez przeciwciało;
- konformacyjny (przestrzenny) – aminokwasy nie muszą wchodzić w skład jednej, ciągłej sekwencji łańcucha peptydowego, ale muszą tworzyć odpowiednią strukturę przestrzenną, rozpoznawaną przez przeciwciało;
- nakładający się – aminokwasy wchodzące w skład danej determinanty (np. sekwencyjnej) wchodzą także w skład innego epitopu (np. konformacyjnego).

Należy zaznaczyć również, że białka różnych antygenów wykazują pewne podobieństwo sekwencji aminokwasów, która warunkuje immunologiczne podobieństwo i reaktywność krzyżową (16, 17).

Alergeny są obecne w różnych produktach spożywczych. Jako alergen najczęściej wymienia się takie produkty, jak: jaja, mleko, pszenicę, orzeszki ziemne, soję, kurczaki, ryby, czekoladę, owoce cytrusowe i inne (12, 16, 17). Większość produktów przetworzonych zawiera substancji dodatkowe; niektóre z nich mogą mieć działanie uczulające.

W 1995 r. grupa ekspertów Food and Agriculture Organization, pracująca w USA po raz pierwszy określiła 8 grup produktów stanowiących główne źródła antygenów t.j. mleko krowie, jaja, ryby, skorupiak, orzechy, orzeszki arachidowe, soję i pszenicę. Zostało to potwierdzone przez Komisję Kodeksu Żywnościowego (Codex Alimentarius Commission) w roku 1999 (8).

Powszechnie przyjęte stwierdzenie, że alergia może być wywoływana prawie przez każdy produkt spożywczy powoduje, że osoby uczulone często mają wykluczoną bardzo dużą liczbę produktów z diety.

Powstają jednak ważne pytania: Czy odczyny alergiczne przyjęły już tak uogólnioną postać, że wskutek reakcji krzyżowych dochodzi do nasilenia reakcji alergicznych na kilka alergenów? Czy może

dany alergen występuje w niezmienionej postaci w złożonym produkcie spożywczym, np. kazeinian w produkcie mięsny (w szynce), fałszywie wskazując na mięso jako źródło uczuleń? Czy też wreszcie nie są to niedostatecznie czułe testy diagnostyczne? Wszystkie te przyczyny mogą mieć miejsce, jednakże w konsekwencji zbyt dużej liczby wykluczonych z diety pokarmów powodują znaczące pogorszenie jakości życia i niechęć do stosowania diety. Ma to duże znaczenie w przypadku stosowania diety bezglutenowej, która w celiakii musi być przestrzegana przez całe życie. A zatem lepsze zdefiniowanie zagrożenia pozwala lepiej rozpoznać skład pokarmów i wykluczyć te, które faktycznie stanowią zagrożenie. Np. wykluczenie produktów zawierających skrobię modyfikowaną, jeśli nie zna się źródła pochodzenia tej skrobi, nie jest w pełni uzasadnione (18).

W porównaniu do obszernej listy poznanych alergenów wziewnych, tylko niektóre spośród alergenów z żywności zostały zidentyfikowane, głównie z powodu trudności w doborze odpowiednich pacjentów z dodatnimi wynikami testów IgA i DBPCFC^{*)} oraz z uwagi trudności metodyczne. Przykłady zidentyfikowanych alergenów z żywności przedstawiono w tab. I.

Tabela I
Przykładowe alergeny występujące w produktach spożywczych

Table I
Examples of allergens found in food products

Produkt	Alergen
Mleko krowie	α -laktoalbuminy, β -laktoglobuliny, kazeina
Jaja kurze	białko żółtko owomukoid, owoalbumina, owotransferyna α -liwetyna
Ryby	Gad c 1
Skorupiaki	Pen a 1, Pen a 2
Orzeszki ziemne	Ara h 1, Ara h 2
Soja	Gly m 1
Zboża	seria białek o m.cz. 26–79 kDa, jeszcze nie nazwana
Jabłka	Mal d 1, Mal d 2
Seler	Api g 1
Owoce z podrodziny <i>Prunoideae</i> (śliwowe)	alergen o m. cz. 13 kDa, proponowana nazwa Pru p 1

Według Study of nutritional factors... 1997 (12)

According to: Study of nutritional factors... 1997 (12).

Alergeny te są polipeptydami o masie cząsteczkowej (MW) pomiędzy 5 a 100 kDa. Dają one specyficzną odpowiedź IgE.

Rozpoznanie T epitopów w alergenach żywności stwarza nowe perspektywy wpływu na odpowiedź IgE w organizmie, jak również może otwierać drogę produkcji transgenicznej roślin zawierających mniej lub nie zawierających alergenów. Ostatnio genetyczne modyfikacje roślin uprawnych są przedstawiane jako technologie mające potencjalne możliwości w obniżaniu alergenicności niektórych produktów. Jedną z metod jest „wylączenie” (obniżanie ekspresji) genów odpowiedzialnych za produkcję białek alergennych w roślinie. Na tej drodze otrzymuje się tzw. hipoalergiczny ryż, a ostatnio soję. Innym sposobem jest modyfikacja sekwencji aminokwasów immunodominujących epitopów w głównym alergenie, poprzez mutacje odpowiedniej sekwencji DNA, w celu obniżenia ich aktywności wiązania IgE. Jest to obecnie stosowane w przypadku soi i orzeszków ziemnych (24). Zaznaczyć jednak należy, że sama produkcja roślin transgenicznych jest niekiedy obarczana winą za zwiększanie alergenicności.

Przetwarzanie żywności a alergeny

Z praktycznego punktu widzenia ważne jest, gdy znamy alergen żywności i możemy dokonywać próby redukcji potencjalnie alergizujących produktów. Wymaga to jednak dokładnej znajomości stężenia alergenów i ich zachowania w trakcie procesów technologicznych. Rodzaj matrycy żywności

^{*)} Podwójnie ślepa, kontrolowana przez placebo prowokacja pokarmowa (1).

oraz zastosowanego procesu technologicznego ma wpływ na zawartość, budowę i bioprzyswajalność alergenów i ich absorpcję z jelita do krwiobiegu w natywnej i immunogenicznie aktywnej formie. Jest to ta część wchłoniętych alergenów żywności, którą uważa się za wywołującą reakcje alergiczne. Istnieją badania potwierdzające, że matryca odgrywa istotną rolę w wywoływaniu reakcji alergicznych. Stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy nasileniem reakcji alergicznych u żywionych pierśnią niemowląt z atopowym zapaleniem skóry, a spożyciem tłuszczu z dietą przez ich matki. W badaniach na zwierzętach uzyskano istotnie wyższą specyficzną odpowiedź immunologiczną organizmu na *beta*-laktoglobulinę u myszy żywionych tym alergenem rozpuszczonym w emulsji tłuszczowej (olej) w porównaniu do myszy otrzymujących te same ilości alergenu z wodą. W badaniach na szczurach, dotyczących wchłaniania w jelicie alergenów z mleka i jaj wykazano, że białka natywne były prawie wyłącznie wchłaniane do limfy i kiedy szczury były żywione emulsją tłuszczową pod postacią zmiksowanych całych jaj lub pełnotłustego mleka, liczba wchłoniętych alergenów istotnie wzrastała (1).

Przetwarzanie żywności ma wpływ na alergenność niektórych produktów i może być sposobem na zmniejszania ich działania alergizującego. Jednakże, w zależności od zastosowanych procesów technologicznych zawartość alergenów może wzrastać, obniżać się lub pozostawać bez zmian.

Składnikami alergizującymi w żywności są białka. Ogrzewania i inne procesy zmieniają strukturę białek i w konsekwencji zmieniają ich zdolności alergizujące, stąd i alergenność całego produktu. Istnieje zależność pomiędzy budową i właściwościami fizykochemicznymi białka, a jego działaniem alergizującym i obniżenie działania alergizującego jednego składnika białkowego żywności obniży alergenność całego produktu, tzn. wszystkie białka będą reagowały podobnie na proces technologiczny.

Znaczne zmiany w budowie białek występują podczas ogrzewania; rodzaj i zakres tych zmian zależy od temperatury i czasu obróbki termicznej, jak również od właściwości białka i warunków fizykochemicznych środowiska (np. pH). Następuje typowa utrata trzeciorzędowej struktury, następnie zachodzi utrata drugorzędowej struktury (55–70°C), rozszczepianie wiązań disulfidowych (disiarczkowych) (70–80°C), tworzenie nowych interakcji wewnątrz lub między molekularnych, przestawianie wiązań disulfidowych (80–90°C) i tworzenie agregatów (90–100°C) (19).

Zmiany te odzwierciedlają postępujące przechodzenie do nieuporządkowanej struktury z denaturacją białek, które przybierają rozpostartą, przypadkowo-zwiniętą formę. Poza tymi przemianami fizycznymi, w wysokich temperaturach (100–125°C i wyższych) mogą również zachodzić zmiany chemiczne. Obejmują one tworzenie wiązań kowalencyjnych pomiędzy pozostałościami lizyny białka i innymi składnikami matrycy żywności prowadząc do powstawania różnych produktów addukcji.

Wydaje się, że nie istnieją ogólne reguły co do wpływu obróbki termicznej na alergenność produktów. Wiadomo, że dla białek mleka i innych białek zwierzęcych (jaja i ryby) alergeny są odporne na ogrzewanie i trawienie, a więc możliwość redukcji alergenności żywności to rozkładanie cząsteczek, poprzez np. trawienie enzymatyczne, ale pogarsza to istotnie cechy organoleptyczne produktu. Natomiast na ogół alergeny roślinne są labilne w stosunku do ogrzewania i trawienia (np. owoce z rodziny różowatych *Rosaceae* i marchew) lub częściowo stabilne. (np. soja, zboża, seler). Wiadomo jednak, że gluten jest odporny na działanie temperaturą i trawienie (12, 20, 21).

Procesy termiczne nie tylko mogą niszczyć istniejące epitopy, ale także mogą prowadzić do powstawania nowych o działaniu alergennym. Przykładem tego są reakcje Maillarda, prowadzące do tworzenia nowych immunologicznie aktywnych struktur (neo alergenów) (19, 22). Czy i w jaki sposób działanie temperaturą może znacząco zmieniać alergenność żywności jest złożonym pytaniem.

W badaniach u osób z alergią na pyłki brzozy i surowe orzechy laskowe wykazano, że prażenie orzechów np. w temp. 140°C przez 40 min. znacznie obniżało (ok. 100-krotnie) alergenność głównego alergenu tych orzechów (Cor a 1.04) (23). Jest to działanie odwrotne od obserwowanego w przypadku głównego alergenu orzeszków ziemnych (Ara h 1), gdzie wiązanie immunoglobuliny było większe ok. 90 razy w przypadku podawania prażonych orzeszków ziemnych w porównaniu z surowymi (24). Natomiast obróbka cieplna orzeszków ziemnych w niższych temperaturach, jak gotowanie (100°C) czy smażenie (120°C), podczas której zachodzą wywołane ciepłem zmiany konformacyjne, ale reakcje Maillarda są mało prawdopodobne, nie wpływała na właściwości alergenne Ara h 1.

Może to tłumaczyć wpływ zwyczajów żywieniowych i sposobów gotowania tradycyjnie stosowanych w populacjach różnych krajów na nasilenie występowania alergii na orzeszki ziemne. Alergia na ten produkt występuje rzadko w Chinach, gdzie są one spożywane po ugotowaniu lub smażeniu, podczas gdy jest częstsza i bardziej nasilona w krajach zachodnich, w których spożywa się zazwyczaj orzeszki ziemne prażone (25).

Fakt, że alergenność białka nie jest bezpośrednio związana z integralnością jego budowy w formie natywnej, może stwarzać trudności w wykrywaniu alergenów żywności i prowadzić do mylnych i często

niebezpiecznych interpretacji. Przykładowo, główne białko mleka *beta*-laktoglobulina, jest białkiem wrażliwym na temperaturę, ale opornym na degradację przez enzymy trawienne (proteazy). Podczas ogrzewania jest ona denaturowana i traci swoją 3- i 2-rzędową strukturę. W konsekwencji w tej postaci nie jest wykrywana poprzez klasyczne metody analityczne, stosowane w badaniach żywności do jej identyfikacji. W metodach tych na ogół mierzy się wzrost przeciwciał wobec natywnej formy białka, które rozpoznają epitopy konformacyjne, ale nie rozpoznają epitetów liniowych, obecnych w zdenaturowanym białku. Jednakże u pacjentów z alergią te liniowe epitopy są dobrze rozpoznawane przez immunoglobuliny E (IgE) i zdenaturowana *beta*-laktoglobulina nadal utrzymuje właściwości alergizujące. Tak więc w wyniku działania temperatury białko zostaje zdenaturowane, ale alergenność pozostaje, chociaż nie będzie wykrywana, dopóki nie zostaną opracowane odpowiednie metody badania białek modyfikowanych (26).

Podobne rozważania dotyczą także innych procesów, np. hydrolizy. Ogólnie wiadomo, że hydroliza obniża antygenność białka. W przeszłości udało się to dla mleka krowiego. W mieszankach dla niemowląt zastosowano zhydrolizowane białka opracowując hipoalergiczne produkty o niskim i wysokim stopniu hydrolizy, zalecane zależnie od nasilenia procesu alergicznego u dziecka (18).

Wykazano jednak, że produkty rozpadu, takie jak peptydy o długości łańcucha zawierającego 14–15 reszt aminokwasów wciąż wykazują właściwości alergenne. Ponadto, o ile proteoliza niszczy niektóre epitopy, zwłaszcza konformacyjne, może również ujawniać epitopy liniowe, które są ukryte w trójwymiarowej strukturze białka natywnego. Stają się więc one dostępne dla wiązania z IgE i ujawniają swoją alergenność (27, 28).

W przypadku innych procesów wskazuje się, że coraz powszechniejsze stosowanie nowoczesnych urządzeń w gospodarstwach domowych (np. zamrażarek, mikrofalówek, frytkownic itp.) może być czynnikiem sprzyjającym zwiększeniu ryzyka wystąpienia alergii (12).

Obecnie trudno jest przewidzieć wpływ modyfikacji białek poprzez obróbkę termiczną i inne procesy stosowane w przetwórstwie żywności na alergenność produktów spożywczych. Wybór odpowiedniego procesu technologicznego może mieć znaczenie z klinicznego punktu widzenia, bowiem w zależności od tego, który składnik żywności jest odpowiedzialny za wystąpienie alergii, określony proces technologiczny może być korzystny dla jednych osób z alergią, ale nie dla innych.

Dlatego nadal niezbędne jest upewnianie się, że wyniki tych działań nie prowadzą do wzmocnienia alternatywnych białek lub ekspresji nowych, które mogą mieć działanie alergizujące (29, 30).

Osoby z alergią powinny unikać alergenów w takim stopniu, jak to jest możliwe. Podstawą tego jest przejrzyste podawanie informacji na etykietach produktów, dotyczących zawartych w nich składników, w tym alergizujących.

Identyfikacja alergenów w żywności

Ważna jest identyfikacja najważniejszych potencjalnych alergenów w diecie. Podstawową trudnością jest brak zwalidowanych testów diagnostycznych. Np. w stosowanych testach na alergię na orzeszki ziemne stwierdzono różną czułość przeciwciał używanych w tych testach, co powoduje trudności w diagnostyce. Jak już wspomniano, rodzaj zastosowanej obróbki cieplnej (gotowanie, stopień uprażenia) ma wpływ na zawartość alergenów w orzeszkach ziemnych, co jest dodatkową trudnością w opracowaniu odpowiednich testów (1).

Unia Europejska wskazuje na potrzebę badania alergenów żywności za pomocą podwójnie ślepej próby (DBPCFC). Metoda ta została wprowadzona do diagnostyki alergii na pokarmy w 1988 r. (31) jako tzw. podwójnie ślepa, kontrolowana przez placebo prowokacja pokarmowa. Polega ona na podawaniu pacjentom do spożycia kapsułek ze ściśle określoną, stopniowo zwiększaną ilością badanego pokarmu na przemian z identycznymi kapsułkami zawierającymi placebo, metodą podwójnie ślepej próby: ani pacjent, ani lekarz nie znają zawartości kapsułek podawanych przez osobę trzecią. Metoda ta uznawana jest obecnie za „złoty standard diagnostyczny” (2).

Ważnym punktem jest badanie wrażliwości na gluten, powodującej celiakię.

Aktualny stan wiedzy dotyczącej alergii pokarmowych został podsumowany przez Komisję UE (12), wg której:

- zdefiniowane zostały tylko niektóre alergen-y z żywności;
- możliwe jest prowadzenie polityki chroniącej ludzi przed alergenami i nietolerancjami pokarmowymi;
- brak jest bezpośrednich dowodów na związek z chorobami psychicznymi, ale badań nie zawsze dobrze powiązanych jest dużo;
- problemem jest celiakia – im później stwierdzona, tym bardziej pacjenci narażeni są na inne choroby autoimmunologiczne.

Podobne ustalenia zostały określone w USA (32), przy czym wyraźnie podkreślono konieczność prowadzenia dalszych badań w tym zakresie.

Na razie najlepszą polityką dla krajów UE jest podawanie dla użytkowników najbardziej poprawnej informacji o typie żywności, jej finalnym składzie oraz mobilizacja producentów do respektowania tych wymagań.

Współczesne wymagania dotyczące znakowania żywności

Zgodnie z Aneks IIIa Dyrektywy UE 2003/89/EC z 10 listopada 2003 r. (33) istnieje konieczność wymieniania następujących składników alergennych obecnych w żywności:

- zboża zawierające gluten i produkty z nich wytworzone;
- jaja i produkty z ich udziałem;
- ryby;
- orzeszki ziemne;
- mleko i produkty z niego wytworzone, włączając laktozę;
- orzechy (wymienione nazwy);
- seler naciowy i produkty z jego udziałem;
- musztarda i produkty z jej udziałem;
- ziarno sezamowe i produkty z jego udziałem;
- SO₂ i SO₃ w koncentracji wyższej niż 10 mg/kg lub 10 mg/dm³.

Również w Polsce w Rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 16 grudnia 2002 r. w sprawie znakowania środków spożywczych i dozwolonych substancji dodatkowych (Załącznik 5) wymieniane są następujące składniki alergenne (34):

- zboża zawierające gluten (tj. pszenica, żyto, jęczmień, owies zwyczajny, pszenica oplewiona/orkisz, kamut lub ich szczepy hybrydowe);
- skorupiaki;
- jaja;
- ryby;
- orzeszki ziemne/orzeszki arachidowe;
- nasiona soi;
- mleko (łącznie z laktozą);
- orzechy, tj. migdał (*Amygdalus communis* L.), orzech laskowy (*Corylus avellana*), orzech włoski (*Juglans regia*), nerkowiec (*Anacardium occidentale*), orzech pekan (*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch), orzech brazylijski (*Bertholletia excelsa*), pistacja, orzech pistacjowy (*Pistacia vera*), orzech makadamia (*Macadamia ternifolia*);
- seler;
- gorczyca;
- nasiona sezamu;
- dwutlenek siarki i siarczyny w stężeniach powyżej 10 mg/kg lub 10 mg/dm³ w przeliczeniu na SO₂.

Reasumując, wiele jest niejasnych i dyskusyjnych punktów związanych z żywnością, które wymagają dalszych badań.

W świetle przedstawionych zagadnień między innymi istotnym problemem jest uzyskanie odpowiedzi na pytania, które zostały określone w realizowanym aktualnie projekcie badawczym zamawianym pt. Identyfikacja i sposoby przeciwdziałania toksyczności i alergenicności białek ważnych roślin uprawnych (35):

- Czy poprzez odpowiednią selekcję zbóż można uzyskać zboża o niższej zawartości glutenu?
- Czy warunki uprawy (np. nasłonecznienie, wilgotność itp.) i choroby roślin (jak mikotoksyny) wpływają, czy też nie, na zawartość toksycznych peptydów w pszenicy?
- Czy poprzez użycie wybranych frakcji przemiału można promować wyroby zbożowe o niższej zawartości gliadyny?
- Czy rośliny strączkowe, bądź gryka mogą w diecie eliminacyjnej zastąpić produkty zbożowe zawierające toksyczne peptydy?

- Czy dla osób z grupy ryzyka należy wprowadzać elementy diety eliminacyjnej?

Istnieje zatem potrzeba prowadzenia badań interdyscyplinarnych z dziedziny alergologii klinicznej, biochemii, żywienia, biologii molekularnej, chemii żywności i chemii analitycznej, które mogłyby dać odpowiedź na niektóre z tych pytań.

A. Wojtasik, H. Kunachowicz, W. Kłys

ALLERGENS FOUND IN FOOD PRODUCTS, WITH PARTICULAR REFERENCE
TO PLANT PROTEINS

PIŚMIENNICTWO

1. *Anklam E., Battaglia R.*: Chemical and Technological Aspects of Food Allergies. In: *Modern Aspects of Nutrition. Present Knowledge and Future Perspectives.* (Elmadfa I., Anklam E., König J.S eds.) Forum Nutr. Basel, Karger 2003; 56: 158. – 2. *Wutrich B.*: Food allergy: definition, prevalence, social impact. In: *Proceedings of ECACI* (Basomba A., Sastre J. eds.). Madrid 95, Bologna 1995; 859-867. – 3. *Halstensen T.S., Lovik M., Alexander J., Smith E.*: Environmental chemicals and food allergy/intolerance, a synopsis. *Environ. Toxicol. and Pharmacol.* 1997; 4: 179. – 4. *Metcalfe D.D., Sampson H.A., Simon R.A.*: Food allergy: adverse reactions to foods and food additives. Blackwell Science Inc., 2nd ed., 1997. – 5. *Ortolani C.*: Atlas and Mechanism in Adverse Reaction to Food. *Allergy* 1995; suppl. 20-50. – 6. *Papageorgiou P.S.*: Clinical aspects of food allergy. *Biochem. Soc. Trans.* 2001; 30: 901-906. – 7. *Jarosz M.*: Alergie pokarmowe. *Żyw. Człow. Metab.* 2002; (29)4: 289-294. – 8. *Wróblewska B.*: Wielka ósemka alergenów pokarmowych. *Alergia* 2002; 15: 4. – 9. *Greco L., Mäki M., Di Donato F., Visakorpi J.K.*: Epidemiology of celiac disease in Europe and the Mediterranean area. A summary report on the multicentre study by the European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. In: *Common food intolerances 1: Epidemiology of celiac disease.* Auricchio S., Visakorpi J.K. (eds.). *Dyn. Nutr. Res.* Karger, Basel, 1992; 25-44. – 10. *Greco L.*: Epidemiology of coeliac disease. In: *Coeliac disease.* (Mäki M., Collin P., Visakorpi J.K. eds.) Coeliac Disease Study Group, Tampere, Finland 1997; 9-14.

11. *Kruszewski J.*: Celiakia. Od patogenyzy do leczenia. *Alergia* 2001; 1: 8. – 12. Study of nutritional factors in food allergies and food intolerances. Published by European Commission, Directorate-General XII, Science, Research and Development. B-1049 Brussels 1997. – 13. *Feldman M., Sears E.R.*: The wild gene resources of wheat. *Scientific American* 1981; 98-109. – 14. *Drago S., Di Pierro M., Catassi C., Fasano A.*: Recent developments in the pathogenesis, diagnosis and treatment of celiac disease. In: *Expert Opin. Ther. Patents* 2002; (12)1: 45-51. – 15. *Kim C-Y., Quarsten H., Bergseng E., Khosia C., Sollid L.M.*: Structural basis for HLA-DQ2-mediated presentation of gluten epitopes in celiac disease. *PNAS* 2004; (101)12: 4175-4179. – 16. Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission relating to the evaluation of allergenic foods for labeling purposes. (Request No EFSA-Q-2003-016) adopted on 19 February 2004. *The EFSA Journal* 2004; 32: 1-197. – 17. *Jackson W.F.*: Food Allergy. ILSI Europe, Belgium 2003. – 18. *Szajewska H.*: Profilaktyka alergii pokarmowej – badanie GINI. W: *Wybrane zagadnienia żywienia dzieci zdrowych i chorych.* Standardy Medyczne 2003; (5)9: 86-89. – 19. *Davis P.J., Williams S.C.*: Protein modification by thermal processing. *Allergy* 1998; 53: 102-105. – 20. *Besler M., Steinhart H., Paschke A.*: Stability of food allergens and allergenicity of processed foods. *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.* 2001; 756: 207-228.

21. *Ellis H.J., Ciclitira O.J.*: Measurement of Gluten and Gliadin in Food. In: *Coeliac Disease* (Mäki M., Collin P., Visakorpi J.K. eds.) Coeliac Disease Study Group, Tampere, Finland 1997; 213-219. – 22. *Berrrens L.*: Neoallergens in heated pecan nut: products of Maillard-type degradation? *Allergy* 1996; 51: 277-278. – 23. *Hansen K.S., Ballmer-Weber B.K., Luttkopf D., Skov P.S., Wüthrich B., Bindselev-Jensen C., Vieths S., Poulsen L.K.*: Roasted hazelnuts-allergenic activity evaluated by double-blind, placebo controlled food challenge. *Allergy* 2003; 58: 132-138. – 24. *Maleki S.J., Chung S-Y., Champagne E.T., Raufman J-P.*: The effect of roasting on the allergenic properties of peanut proteins. *J. Allergy Clin.*

Immunol. 2000; 106: 763-768. – 25. *Beyer K., Morrow E., Li X-M., Bardina L., Bannon G.A., Burks A.W., Sampson H.A.*: Effect of cooking methods on peanut allergenicity. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001; 107: 1077-1081. – 26. *Negroni L., Bernard H., Clement G., Chatel J.M., Brune P., Frobert Y., Wal J.M., Grassi J.*: Two-site enzyme immunometric assay for native and denaturated beta-lactoglobulin. *Immunol. Methods* 1998; 220: 25-37. – 27. *Haddad Z.H., Kalra V., Verma S.*: IgE antibodies to peptic and peptic-tryptic digests of beta-lactoglobulin: significance in food hypersensitivity. *Ann. Allergy* 1979; 42: 368-371. – 28. *Wal J.M.*: Cow's milk proteins/Allergens. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2002; 89: 3-10. – 29. *Tada I., Nakase M., Adachi T., Nakamura R., Shimada H., Takabashi M., Fujimura T., Matsuda T.*: Reduction of 14-16 kDa allergenic proteins in transgenic rice plants by antisense gene. *FEBS Lett.* 1996; 391: 341-345. – 30. *Yang G., Matsuoka M., Iwasaki I., Komatsu S.*: A novel brassinolide-enhanced gene identified by cDNA microarray is involved in the growth of rice. *Plant Mol. Biol.* 2003; 52: 843-854.

31. *Ampson H.A.*: Immunologically mediated food allergy: The importance of food challenge procedures. *Ann. Allergy*, 1988; 60: 262. – 32. National Institute of Health. Consensus Development Conference Statement on Celiac Disease. NIH Consensus Conference, June 28-30, 2004. – 33. Directive 2003/89/EC of the European Parliament and of the Council of 10 November 2003 amending Directive 2000/13/EC as regards indication of the ingredients present in foodstuffs. – 34. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 16 grudnia 2002 r. w sprawie znakowania środków spożywczych i dozwolonych substancji dodatkowych (Dz.U.02.220.1856 z 19 grudnia 2002 r. z późn. zmianami). – 35. Projekt badawczy zamawiany Nr PBZ-KBN-097/P06/2003: Identyfikacja i sposoby przeciwdziałania toksyczności i alergenności białek ważnych roślin uprawnych.

Adres: 02-903 Warszawa, ul. Powsińska 61/63.

Agnieszka Białek, Andrzej Tokarz

NUTRIGENOMIKA – NOWE SPOJRZENIE NA ROLĘ DIETY W ŻYWIENIU PODSTAWOWYM I LECZNICZYM.

CZEŚĆ I

Katedra i Zakład Bromatologii Akademii Medycznej w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. *A. Tokarz*

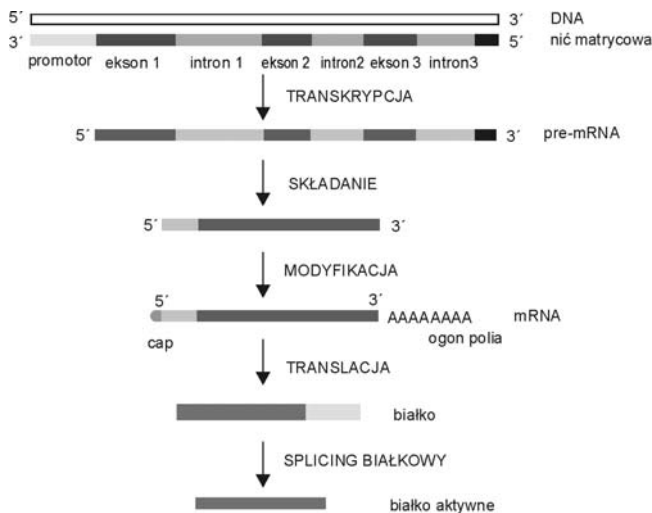
Hasła kluczowe: nutrigenomika, nutrigenetyka, interakcje dieta – genom, biomarkery, profile ekspresji genów.

Key words: nutrigenomics, nutrigenetics, diet – genome interactions, biomarkers, gene expression profiling.

Wielu teorii i odkryciom, dokonanym w ciągu ostatnich stuleci można przypisać miano kamieni milowych. Porównanie to wydaje się być bardzo trafne, gdyż ich następstwa pociągnęły za sobą daleko idące zmiany i postęp w wielu, czasami niezwiązanych ze sobą, dziedzinach, na tej samej zasadzie, na jakiej kamień wrzucony w wodę powoduje poruszenie dużej powierzchni zbiornika wodnego. Z całą pewnością na takie miano zasługuje teoria komórkowa (Schleiden, Schwann – 1839), teoria ewolucji (Darwin – 1859), prawa dziedziczenia (Mendel – 1865), chromosomowa teoria dziedziczenia (Morgan, Startevant, Muller, Bridges – 1915), określenie struktury DNA (Watson, Crick, Franklin, Wilkins – 1953) (1), a z ostatnich odkryć: poznanie genomu człowieka (Human Genom Project – 2003). Można zatem powiedzieć, że druga połowa XX wieku to czas intensywnych badań genetycznych zmierzających do stworzenia mapy genetycznej człowieka. Konsekwencją tego osiągnięcia będzie dalsze rozszyfrowywanie wszelkich powiązań między czynnikami wpływającymi na ekspresję genów i reakcje organizmu. Jednym z kierunków badawczych zakładających uporządkowanie informacji odnośnie wpływu składników żywności na ekspresję genów jest tzw. nutrigenomika.

Tytułem przypomnienia podstawowych wiadomości odnośnie genetyki należy odnotować, że informacja genetyczna, czyli komplet danych na temat struktury i funkcji komórki, a co za tym idzie – całego organizmu, zapisana jest w sekwencji nukleotydów kwasu deoksyrybonukleinowego (DNA). DNA jest więc nośnikiem informacji genetycznej. Całkowita sekwencja jądrowego DNA, zawarta w haploidalnej komórce jest nazywana genomem. Genom ludzki składa się z ok. 3 miliardów par zasad (3000 Mpz = $3 \cdot 10^9$ pz), o łącznej dł. ok. 100 cm i masie 5 pg. Zorganizowany jest on w 23 jednostki – chromosomy, z których każdy stanowi kompleks jednej dwuniciowej cząsteczki DNA związanej z białkami. Tylko ok. 30% całego genomu stanowią geny i sekwencje związane z genami, które są rozmieszczone linearnie w różnych miejscach chromosomów. Każdy gen ma swoją określoną pozycję na chromosomie – tzw. *locus* genu. Charakterystyczną cechą genów w organizmach eukariotycznych jest ich budowa mozaikowa tj. naprzemienne występowanie w nich sekwencji kodujących (eksonów) i sekwencji niekodujących (intronów). Sekwencje niekodujące stanowią zdecydowaną większość wszystkich sekwencji genowych i związanych z genami, bo ponad 90%, podczas gdy sekwencje kodujące to niecałe 10%. Całkowita liczba genów człowieka nie przekracza 40 tysięcy.

Informacja genetyczna z DNA do białka przekazywana jest za pomocą kwasu rybonukleinowego (RNA). Sekwencja nukleotydów DNA jednej z nici – nici matrycowej o kierunku $3' \rightarrow 5'$, jest przepisywana w procesie transkrypcji na sekwencję nukleotydów RNA (ryc.1).



Ryc. 1. Ogólny schemat ekspresji informacji genetycznej.

Fig. 1. Genetic information expression.

Synteza RNA zachodzi w kierunku $5' \rightarrow 3'$, a powstały produkt – jednoniciowy prekursorowy mRNA (pre-mRNA) ma sekwencję nici niematrixowej DNA (= sensownej(+), = kodującej) komplementarną do sekwencji nici matrycowej DNA (= antysensownej(-), = niekodującej), na której powstał. Transkrypcja jest katalizowana przez trzy enzymy (polimerazy RNA I, II, III), z których każda transkrybuje inny zestaw genów i funkcjonuje w odmienny sposób. Geny kodujące białka transkrybuje polimeraza RNA II, która rozpoznaje sekwencje promotora, wiąże się do niego i przyłącza kolejne nukleotydy. Powstały pre-mRNA zawiera w swej sekwencji fragmenty niekodujące, które ulegają wycięciu w procesie obróbki, zaś pozostałe sekwencje kodujące są łączone. Proces ten nazywa się składaniem (splicing), i jest regulowany przez charakterystyczne sekwencje na końcach każdego eksonu i intronu. Dodatkowo do końca 5' przyłączana jest 7-metyloguanozyna (cap), a do końca 3' sekwencja poliadenylowa (ogon poliA). Taki dojrzały mRNA stanowi matrycę do syntezy białka w procesie translacji. Biosynteza białka zgodnie z odczytywaną informacją genetyczną w mRNA, zachodzi w rybosomie. Biorą w niej udział cząsteczki tRNA, które dostarczają do rybosomu aminokwasy w kolejności wyznaczonej przez sekwencję nukleotydów mRNA, czyli dokonują przetłumaczenia sekwencji nukleotydów na sekwencję aminokwasów dzięki zdolności rozpoznawania kolejnych kodonów mRNA.

Należy podkreślić, że nie wszystkie geny wchodzące w skład genomu ulegają ciągłej ekspresji. W komórce tylko ok. 15% genów jest aktywne, inne są nieaktywne. W różnych typach komórek różne geny ulegają ekspresji, choć każda komórka zawiera całość informacji genetycznej. Dzięki temu mają one różne cechy charakterystyczne i mogą pełnić różne funkcje. Regulacja ekspresji genów odbywa się na czterech oddzielnych poziomach (1):

1. pierwotna kontrola transkrypcji,
2. kontrola obróbki = alternatywne składanie,
3. kontrola transkrypcji = redagowanie mRNA,
4. kontrola aktywności białka.

Duże znaczenie, zwłaszcza w regulowaniu wydajności transkrypcji mają czynniki transkrypcyjne, tj. specyficzne białka mające zdolność wiązania się ze specyficznymi sekwencjami DNA (głównie w obrębie promotora), i biorące udział w inicjacji transkrypcji (1, 2, 3).

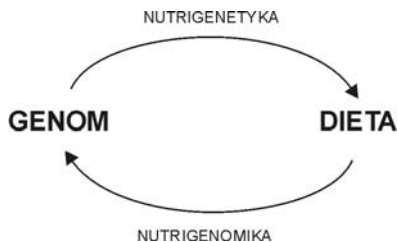
Ponieważ liczba genów, jakie posiada każdy człowiek jest stosunkowo niewielka w porównaniu do złożoności organizmu ludzkiego, coraz baczniejszą uwagę przywiązuje się do procesów regulujących przepływ informacji genetycznej zapisanej w sekwencji nukleotydów DNA. Podkreśla się znaczenie różnorodnych czynników środowiskowych, które mogą wpływać na wszystkie etapy ekspresji informacji genetycznej. Wśród nich coraz ważniejsze miejsce zajmuje żywienie.

Nutrigenomika. Zainteresowanie strukturą genomu i jego organizacją zaowocowało wprowadzeniem w 1987 r. przez *V.A. Mc Kusicka* i *F.H. Ruddle'a* pojęcia „genomika” na określenie gałęzi nauki zajmującej się badaniem genomu (1). Obejmuje ona wiele zagadnień m.in. z biologii molekularnej, biologii komórkowej, mapowania genów, identyfikacji genów czy sekwencjonowania kwasów nukleinowych, przez co jest dziedziną niezwykle rozległą, znacznie szerszą niż genetyka, która zajmuje się głównie zagadnieniem dziedziczności. Do niedawna badania żywieniowe i badania genetyczne biegle dwoma, zupełnie niezależnymi drogami. Dopiero badania nad zsekwencjonowaniem genomu, znaczny postęp w rozwoju różnorodnych technik analitycznych oraz rozwój bioinformatyki doprowadziły do swobodnego połączenia tych dziedzin. Podejmowane próby zastosowania potężnych narzędzi analitycznych stosowanych w badaniach genomicznych do badania wpływu składników żywności na genom na poziomie molekularnym doprowadziły do wyodrębnienia nowej dziedziny wiedzy określanej mianem „żywnościowa genomika” lub krócej „nutrigenomika”. Nutrigenomika zajmuje się badaniem, w jaki sposób składniki żywności (tj. substancje chemiczne będące naturalnymi składnikami pokarmu) wpływają na równowagę pomiędzy stanem zdrowia a stanem choroby poprzez wpływ na ekspresję genów („żywnościowa transkryptomika”) i/lub strukturę genomu („żywnościowa epigenomika” – bada wpływ składników żywności na metylację DNA i strukturę chromatyny) (4, 5, 6).

Podstawy tej nowej gałęzi badań genomicznych są podsumowane przez następujące założenia (7, 8):

- substancje chemiczne występujące naturalnie w żywności wpływają w sposób pośredni lub bezpośredni na ekspresję i/lub strukturę genów;
- w pewnych okolicznościach i u pewnych osobników dieta może być poważnym czynnikiem ryzyka wielu chorób;
- niektóre geny regulowane dietą (ich normalnie występujące formy) odgrywają bardzo istotną rolę w inicjacji, rozwoju i charakterze przebiegu wielu chorób przewlekłych;
- stopień, w jakim dieta wpływa na równowagę pomiędzy stanem zdrowia a stanem choroby, może zależeć od genetycznych predyspozycji człowieka;
- wiedza na temat wymagań żywieniowych genotypu doprowadzi do wykorzystywania w przyszłości diety w celach zapobieżenia, łagodzenia objawów i/lub leczenia wielu chorób przewlekłych (żywienie zindywidualizowane, dostosowane do potrzeb, wymagań i osobniczych predyspozycji danego człowieka).

Nutrigenetyka. Zbilansowane żywienie ma bez wątpienia kluczowe znaczenie dla utrzymania dobrostanu każdego człowieka, zarówno ze względów fizjologicznych, jak i psychologicznych. Jednak dieta prawidłowa dla jednej osoby nie musi być równie skuteczna dla innej. Dieta rekomendowana jako prozdrowotna, mimo iż u większej części danej populacji wywołuje pewne oczekiwane korzystne efekty, może dla niektórych osób okazać się szkodliwa. Podobnie obserwowano dramatyczne różnice w sposobie reagowania pacjentów na diety terapeutyczne – u części obserwowano bardzo wyraźny skutek, podczas gdy u innych nie występowały żadne objawy. Te i inne obserwacje sugerują, że osobnicza zmienność genetyczna ma duże znaczenie w warunkowaniu reakcji organizmu na daną dietę czy składnik żywności. Takimi badaniami zajmuje się „nutrigenetyka”, która bada zależność między formami polimorficznymi genów a reakcją osobniczą na dietę (4). Współzależność między nutrigenomiką a nutrigenetyką została przedstawiona na schemacie (ryc. 2).



Ryc. 2. Interakcje dieta – genom.

Fig. 2. Diet – genome interactions.

Polimorfizm pojedynczego nukleotydu. Najczęściej występującym rodzajem polimorfizmu jest polimorfizm pojedynczego nukleotydu (single nucleotide polymorphisms = SNP), czyli mutacja polegająca na substytucji jednego nukleotydu w łańcuchu DNA innym. Może ona wywołać duże zmiany w budowie, a co za tym idzie także w funkcji białka będącego produktem ekspresji danego genu, poprzez zmianę sekwencji aminokwasów łańcucha białkowego. Konsekwencją tego mogą być wyraźne różnice w funkcjonowaniu całego organizmu, jeśli zmiana dotyczyła jakiegoś białka pełniącego swoją funkcję na szczycie całej kaskady przemian biochemicznych, czy w punkcie wspólnym licznych szlaków metabolicznych. W prowadzeniu badań nad znaczeniem polimorfizmu pojedynczego nukleotydu ważne jest także, aby zmiana wywoływana przez niego była możliwa do wyrażenia za pomocą odpowiednich biomarkerów. Istotne jest również, aby występowała z odpowiednio dużą częstotliwością w populacji badanej.

SNP może różnicować ryzyko wystąpienia pewnych chorób, może równocześnie determinować różnice w wymaganiach żywieniowych pomiędzy osobnikami w populacji. Dobrym przykładem takiego wpływu SNP jest polimorfizm w zależności od NADPH reduktazie katalizującej przemianę N⁵,N¹⁰-metyleno-H₄folianu do N⁵-metylo-H₄folianu. Jeden wariant tego enzymu zawiera mutację w pozycji 677 – tranżycję C na T (9, 11). Powoduje ona zmniejszenie aktywności enzymu, przez co zmniejsza dostępność N⁵-metylo-H₄folianu. Stąd osoby, u których występuje ta tranżycja, wymagają większej podaży folianów w diecie niż osoby z genotypem dzikim. Dodatkowo twierdzi się, że rodzaj diety może modulować wpływ polimorfizmu na ryzyko wystąpienia choroby. U osób o genotypie TT, w genie kodującym wspomniany uprzednio enzym, ryzyko wystąpienia gruczolaka okrężnicy i odbytu było zdecydowanie niższe, gdy stęż. folianów w surowicy było > 5,5 ng/cm³, i wyższe, gdy to stęż. było < 5,5 ng/cm³. Stąd wniosek, że osoby o genotypie TT spożywając dużo folianów w diecie mogą obniżyć ryzyko wystąpienia u nich nowotworu, czego nie wykazano dla osób o genotypie CC lub CT (10, 11).

Konceptja biologii systemowej. Obok tego typu badań bardzo istotne są również próby określania oddziaływania składników diety na tworzenie, strukturę i bioaktywność białek („proteomika”) oraz na szlaki metaboliczne („metabolomika”) (5). Dopiero zintegrowanie danych z tych wielu dziedzin doprowadzi do zrozumienia relacji między żywnością, genami a procesami zachodzącymi w organizmie i w konsekwencji ze zdrowiem. Konceptja biologii systemowej (12) oparta jest właśnie na integracji wielu różnych informacji uzyskiwanych z różnych poziomów ekspresji genetycznej (mRNA, białko, metabolity), co pozwala na uzyskanie możliwie pełnego obrazu zmian zachodzących w organizmie. Prowadzi to do poszukiwania nowych biomarkerów, które zgodnie z tą koncepcją powinny odzwierciedlać nawet subtelne zmiany w homeostazie organizmu i wszelkie wysiłki podejmowane przez organizm celem podtrzymania jej, oraz powinny wykazywać możliwie szeroką gamę różnorodnych efektów biochemicznych zachodzących w organizmie. Nadrzędnym celem biologii systemowej wydaje się być opracowanie biomarkerów „wczesnego ostrzeżenia”, mówiących o konkretnych zmianach w homeostazie, które są sygnałem początków rozwoju czy nawet tylko predyspozycji do wystąpienia choroby. Takie biomarkery mogą mówić o zmianach, jakie w organizmie wywołują składniki żywności. Ponieważ składniki diety mogą mieć liczne – znane i nieznanne – biochemiczne „punkty uchwytu” i wywierać rozliczne efekty, wskazanie wszystkich miejsc i efektów działania już dla pojedynczego składnika żywności jest nie lada wyzwaniem, praktycznie niemożliwym do wykonania za pomocą klasycznych biomarkerów. Dodatkową trudnością w badaniach nutrigenomicznych jest fakt, że rozpatrywany składnik pożywienia nie jest spożywany w wyizolowanej, czystej postaci, lecz stanowi część złożonych i różnorodnych mieszanin. Istnieje duże prawdopodobieństwo, że zastosowanie nowoczesnych metod, używanych w badaniach genomicznych, pozwoli na znalezienie nowych biomarkerów służących do oszacowania korzystnych lub niekorzystnych efektów oddziaływania składników diety na organizm. Jednym z nowoczesnych biomarkerów jest określanie profilu ekspresji genów.

Badanie profili ekspresji genów. Aby stwierdzić, czy dany gen jest aktywny, tj. czy ulega ekspresji, można poddać analizie produkty ekspresji jego informacji genetycznej pośrednie – jak mRNA i końcowe – białka. Składniki diety tj. zarówno substancje odżywcze jak i regulatorowe mogą działać jako swego rodzaju „sygnalizatory” dla czynników transkrypcji, zaś czynniki transkrypcji jako rodzaj „czujników” dla składników diety. Po otrzymaniu takiego sygnału czynniki transkrypcyjne zmieniają transkrypcję DNA specyficznych genów i poprzez to zmieniają profil ekspresji genów w odpowiedzi na czynnik dietetyczny. Zmiany w profilu ekspresji genów, obok zmian w ekspresji białek czy produkcji metabolitów, indukowane przez dany składnik żywności są rozważane jako jego swoisty „podpis” (13). Budowa molekularna badanego składnika diety determinuje jego działanie tak wyraźnie,

że nawet niewielka różnica w budowie może oznaczać olbrzymią różnicę w miejscu i sposobie działania już na poziomie molekularnym.

Do określania profilu ekspresji genów coraz powszechniej jest stosowana technika mikromacierzy DNA. Oparta jest ona, podobnie jak wiele innych technik stosowanych w biologii molekularnej, na zjawisku hybrydyzacji jednoniciowych cząsteczek kwasów nukleinowych o komplementarnej sekwencji nukleotydów w łańcuchu. Przy jej użyciu możliwe jest jednoczesne zbadanie poziomów ekspresji tysięcy genów, przez co można wyselekcjonować geny odgrywające istotne znaczenie np. w różnorodnych procesach chorobowych. Mikromacierze DNA z powodzeniem znajdują zastosowanie w diagnostyce chorób nowotworowych (14), w badaniu polimorfizmu pojedynczych nukleotydów, w badaniach mechanizmów powstawania wielu chorób, zwłaszcza przewlekłych chorób o podłożu poligenicznym jak: nowotwory, choroby układu krążenia, cukrzyca czy otyłość, a także w badaniach interakcji żywność – genom.

Permana i współpracownicy (15) na podstawie badań z użyciem mikromacierzy DNA określili dotychczas różnice w profilach ekspresji genów w komórkach podwzgórza osobników otyłych i szczupłych, oraz zamierzają zidentyfikować geny ulegające różnej ekspresji w innych rejonach mózgu, gdzie występują różnice w odpowiedzi na bodźce żywieniowe u osób otyłych i szczupłych. Wykorzystali również tę technikę w badaniach nad mechanizmami insulinooporności i rozwoju cukrzycy.

Jednym z przykładów zastosowania mikromacierzy DNA w badaniach żywieniowych są badania *Narayanan* i współpracownicy (16). Starali się oni określić wpływ długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (LC-PUFA), a zwłaszcza kwasu dokozaheksaenowego (DHA), na zahamowanie wzrostu komórek raka okrężnicy. Porównali ekspresję 3800 genów dwóch linii komórkowych, z których jedna była stymulowana przez DHA w ciągu 48 h. Wykazali różnice w ekspresji dla 504 z 3800 badanych genów, m.in. dla genów kodujących enzymy i białka regulujące cykl komórkowy, onkogenów, genów kodujących czynniki transkrypcji, polimerazę RNA, lipooksygenazy, kaspazy, fosfolipazy, genów kodujących receptory dla wielu hormonów, receptory jądrowe PPAR, genów związanych z budową cytoszkieletu i z metabolizmem lipidów. Wykazali, że DHA hamuje proliferację komórek raka okrężnicy i indukuje apoptozę poprzez współdziałanie wielu genów, na których ekspresję wpływa.

Lee i współpracownicy (17) wykorzystali mikromacierze DNA do stwierdzenia w jakim stopniu ograniczenie wartości energetycznej diety wpływa na zmianę profilu ekspresji genów związanych z procesami starzenia w różnych tkankach, na modelach mysich. W komórkach mięśnia sercowego zbadano ekspresję 9977 genów. Zmiany będące wynikiem procesów starzenia obserwowano w genach kodujących białka strukturalne, genach zaangażowanych w procesy neurodegeneracji, a także w metabolizmie kwasów tłuszczowych oraz węglowodanów itd. Jednocześnie wykazano, że ograniczenie wartości energetycznej zapobiega częściowo lub całkowicie zmianom związanym z wiekiem w ekspresji wielu genów. Całkowicie zapobiega m.in. związanej z wiekiem, pobudzonej ekspresji kilku białek z rodziny kolagenu, hamowanej ekspresji kinazy dehydrogenazy pirogronianu oraz pobudzonej ekspresji fosfofruktozokinazy. Hamuje ponadto ekspresję genów kodujących białka strukturalne, a także wpływa na procesy apoptozy przez pobudzanie procesów naprawczych w DNA i redukcję endogennych uszkodzeń DNA. Ograniczenie wartości energetycznej wpływa także na grupy genów, których ekspresja nie jest zmieniana w procesie starzenia, jak np. na geny zaangażowane w procesy odpornościowe, co jednak ma zapobiec zmianom w ekspresji genów związanym z wiekiem. Na podstawie poczynionych obserwacji *Lee* i współpracownicy sugerują, że jednym z mechanizmów działania kardioprotekcyjnego ograniczenia wartości energetycznej może być hamowanie procesów wrodzonej odporności, co prowadzi do hamowania procesów prozapalnych.

Podobne badania *Lee* i współpracownicy (18) przeprowadzili dla komórek mięśni szkieletowych i tkanek pobranych z mózgów mysich. Stwierdzili również wpływ redukcji wartości energetycznej diety na wiele grup genów, związanych m.in. z metabolizmem białek, metabolizmem związków energetycznych (kwasów tłuszczowych i węglowodanów), biosyntezą kwasów tłuszczowych, oraz procesami uszkodzeń DNA.

Mikromacierze DNA zostały również wykorzystane w badaniach nad chemoprewencyjnym działaniem selenu przeciwko nowotworom piersi. *Dong* i współpracownicy (19) badali wpływ kwasu metyloseleninowego (MSA) na przedrakowe linie komórkowe ludzkich komórek z piersi. Wcześniejsze badania cytowane przez tych autorów wykazały, że komórki takie nie reagują dobrze na selenoaminokwasy (jak selenometionina czy metyloselenocysteina) z powodu małej aktywności enzymów odpowiedzialnych za przekształcanie ich w odpowiednie monometyloselenowe pochodne, które są uważane za aktywne metabolity o działaniu chemoprewencyjnym. Stąd ich zainteresowanie MSA. W skoordynowanych badaniach z zastosowaniem różnorodnych technik wykazano, że MSA powoduje

zahamowanie cyklu komórkowego w fazie G_0-G_1 i indukuje apoptozę. Do wytłumaczenia molekularnego podłoża tych zjawisk wykorzystano mikromacierze cDNA. Przy ich pomocy zidentyfikowano 30 genów, których ekspresja ulegała zmianie pod wpływem MSA. Dane dla 15 genów potwierdzono metodą Western blot lub/i ilościową RT-PCR. Wyróżniono wśród nich trzy podstawowe grup genów:

- geny zaangażowane w kontrolę cyklu komórkowego, a dokładniej powodujące jego zahamowanie,
- geny regulujące apoptozę,
- geny odpowiedzialne za powstawanie i funkcjonowanie cząsteczek sygnałowych.

Zaproponowano również schematy szlaków sygnałowych, poprzez które MSA może oddziaływać na cykl komórkowy, powodując jego zahamowanie, i na apoptozę komórki.

W podobnych badaniach nad ludzkimi komórkami raka prostaty wykazano również chemoprewencyjne działanie selenu. *Dong* i współpracownicy (20) wykazali hamujący wpływ MSA na wzrost komórek poprzez zahamowanie cyklu komórkowego w różnych jego fazach, oraz indukcję apoptozy. Zbadali również wpływ selenu na zmianę profilu ekspresji genów przy użyciu oligonukleotydowych mikromacierzy o dużej gęstości (firmy Affymetrix), zawierających sondy dla 12000 znanych genów ludzkich. Z tych 12000 genów ekspresja ponad 2500 uległa zmianie pod wpływem MSA. Podzielono je na trzy grupy: wcześniej, średnio i późno reagujące. Zmiana ekspresji genów wcześniej reagujących zdaje się mieć kluczowe znaczenie w zapoczątkowaniu całych kaskad przemian prowadzących do obserwowanych efektów działania MSA. Geny te podzielono na grupy ze względu na ich znane funkcje. MSA wpływa na następujące grupy genów: geny związane z cyklem komórkowym, apoptozą, angiogenezą, syntezą białek, czynnikami wzrostu, zahamowaniem wzrostu guza, czynnikami transkrypcji, naprawą DNA, zmianą sygnału, cytoszkieletem, adhezją/inwazją. Zmiany w ekspresji 10 genów związanych z cyklem komórkowym zostały potwierdzone metodą Western blot. Zaproponowano również schemat przemian prowadzących do zahamowania cyklu komórkowego. Badania *Dong* i współpracownicy wykazały możliwe wielokierunkowe działania selenu i podkreśliły jego znaczenie w chemoprewencji procesów nowotworowych.

Interakcje genom – żywienie stanowią nowy obszar zainteresowania badaczy zajmujących się szeroko pojętą genomiką. Przytoczone badania obrazują po części, jak potężnym narzędziem w określaniu wpływu składników żywności na organizm człowieka jest badanie profili ekspresji genów. Może się ono przyczynić do wyjaśnienia mechanizmów molekularnych wielu efektów prozdrowotnych obserwowanych w badaniach epidemiologicznych, a także do odkrycia przyczyn powstawania i podatności na wiele chorób dietozależnych. W przyszłości dzięki znajomości podstaw genomicznych działania diety na organizm być może będzie możliwe opracowywanie indywidualnych jadłospisów, które oprócz dostarczania składników budulcowych, energetycznych i regulatorowych, będą wywierały korzystny efekt prozdrowotny poprzez wpływ na ekspresję informacji genetycznej. Jest to nowe spojrzenie na zagadnienie żywności jako leku. Przyszłość pokaże, czy znajdzie ono swoich entuzjastów wśród lekarzy i pacjentów.

A. Białek, A. Tokarz

NUTRIGENOMICS – A NEW LOOK AT THE ROLE
OF THE DIET IN THE STANDARD NUTRITION AND SITOTHERAPY. Part I

PIŚMIENNICTWO

1. *Passarge E.*: Genetyka ilustrowany przewodnik. PZWL, Warszawa, 2004; 2-17: 234-261. –
2. *Winter P.C., Hickey G.I., Fletcher H.L.*: Genetyka krótkie wykłady. PWN, Warszawa, 2001; 94-100. –
3. *Barciszewski J., Łastowski K., Twardowski T.*: Nowe tendencje w biologii molekularnej i inżynierii genetycznej oraz medycynie. Sorus, Poznań 1996; 55-79: 197-206, 271-305. –
4. *Gillies P.J.*: Nutrigenomics: The Rubicon of molecular nutrition. *J. Am. Diet. Assoc. Suppl.* 2003; Vol. 103, 12: S50-S55. –
5. *Nowicka G.*: Geny, żywienie, zdrowie. Gdzie jesteśmy i dokąd zmierzamy. *Żyw. Człow. Metab.* 2001; 28(3): 247-253. –
6. *Roberts M.A., Mutch D.M., German J.B.*: Genomics: food and nutrition. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2001; 12: 516-522. –
7. *Kaput J., Rodriguez R.L.*: Nutritional genomics: the next frontier in the postgenomic era. *Physiol. Genomics* 2004; 16: 166-177. –
8. *Kaput J.*: Diet-Disease Gene Interactions. *Nutr.* 2004; 20: 26-31. –
9. *Bailey L.B., Gregory J.F.*: Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and other enzymes: metabolic significance, risks and impact on folate requirement. *J. Nutr.* 1999; 129: 919-922. –
10. *Chen J., Giovannucci E.L., Hunter D.J.*: MTHFR polymorphisms, methyl – replete diets and the risk of colorectal carcinoma and adenoma among US men and women : an example of gene-environment interactions in colorectal tumorigenesis. *J. Nutr. Suppl.* 1999; 129P: 560-564.
11. *Davis C.D., Milner J.*: Frontiers in nutrigenomics, proteomics, metabolomics and cancer prevention. *Mutat. Res.* 2004; 551: 51-64. –
12. *van Ommen B., Stierum R.*: Nutrigenomics: exploiting systems biology in the nutrition and health arena. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2002; 13: 517-521. –
13. *Muller M., Kersten S.*: Nutrigenomics: goals and strategies. *Nat. Rev. Genet.* 2003; Vol.4, 315-322, (www.nature.com/review/genetics). –
14. *Cichy J.*: Profilowanie ekspresji genów komórek nowotworowych. *Post. Biol. Kom.* 2002; tom 29, 1: 81-86. –
15. *Permana P.A., Del Parigi A., Tataranni P.A.*: Microarray Gene Expression Profiling in Obesity and Insulin Resistance. *Nutr.* 2004; 20: 134-138. –
16. *Narayanan B.A., Narayanan N.K., Reddy B.S.*: Docosahexaenoic acid regulated genes and transcription factors inducing apoptosis in human colon cancer cells. *Int. J. Oncol.* 2001; 19: 1255-1262. –
17. *Lee C.K., Allison D.B., Brand J., Weindruch R., Prolla T.A.*: Transcriptional profiles associated with aging and middle age-onset caloric restriction in mouse hearts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002; Vol. 99, 23: 14988-14993. –
18. *Lee C.K., Klopp R.G., Weindruch R., Prolla T.A.*: Gene expression profile of aging and its retardation by caloric restriction. *Science* 1999; 285: 1390-1393. –
19. *Dong Y., Ganther H.E., Stewart C., Ip C.*: Identification of Molecular Targets Associated with Selenium-induced Growth Inhibition in Human Breast Cells Using cDNA Microarrays. *Cancer Res.* 2002; 62: 708-714. –
20. *Dong Y., Zhang H., Hawthorn L., Ganther H.E., Ip C.*: Delineation of the Molecular Basis for Selenium-induced Growth Arrest in Human Prostate Cancer Cells by Oligonukleotide Array. *Cancer Res.* 2003; 63: 52-59.

Adres: 02-097 Warszawa, ul. Banacha 1.

Agnieszka Białek, Andrzej Tokarz

TECHNIKA MIKROMACIERZY DNA W BADANIACH EKSPRESJI GENÓW

CZĘŚĆ II

Katedra i Zakład Bromatologii Akademii Medycznej w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. A. Tokarz

Hasła kluczowe: nutrigenomika, profile ekspresji genów, mikromacierze DNA.
Key words: nutrigenomics, gene expression profiling, DNA microarrays.

Świadomość, że żywienie odgrywa ważną rolę w podtrzymywaniu stanu zdrowia, łagodzeniu objawów choroby czy ogólnie mówiąc w zapewnianiu dobrostanu stanowi od wieków podstawę rozwoju wielu dziedzin nauki związanych z zagadnieniami żywienia. Poznanie po części wpływu diety na zdrowie człowieka doprowadziło do wyeliminowania objawów wielu chorób dietozależnych, spowodowanych brakiem, nadmiarem, czy obecnością danego składnika w pożywieniu, jak np. fenyloketonuria. Należy to z całą pewnością zapisać na poczet zasług badań żywieniowych. Wciąż jednak bardzo wiele pozostaje do odkrycia czy wyjaśnienia. Prowadzone od lat badania epidemiologiczne i fizjologiczne, pomimo ich ogromnej wartości, zdają się nie być wystarczające. W dobie zaawansowanych odkryć z dziedziny genomiki i biologii molekularnej obserwujemy zdecydowane zwrócenie się badaczy zajmujących się problemami żywieniowymi ku nowoczesnym technologiom, wykorzystywanym z powodzeniem przez inne gałęzie nauki i próby wykorzystania ich w badaniach nad wpływem diety na funkcjonowanie organizmu.

Na obecnym etapie wiedzy wydaje się niemożliwe pełne zrozumienie wpływu żywienia na homeostazę organizmu. Niezbędnym staje się poznanie molekularnych mechanizmów oddziaływania składników diety. Jest to realne dzięki dostępności ogromnej ilości danych generowanych przez projekty zajmujące się badaniami nad genomami, w tym nad genomem ludzkim. Nie bez znaczenia są również obserwacje czynione od lat, które wskazują na znaczenie genetycznych predyspozycji w występowaniu wielu chorób dietozależnych, jak cukrzyca typu drugiego, nowotwory czy choroby układu krążenia. Ponadto postuluje się, że składniki diety tj. zarówno tłuszcze, węglowodany, białka, jak i składniki regulatorowe, jak witaminy czy mikroelementy, mają znaczenie jako cząsteczki „sygnałowe” dla przebiegu wielu procesów i funkcjonowania szlaków metabolicznych.

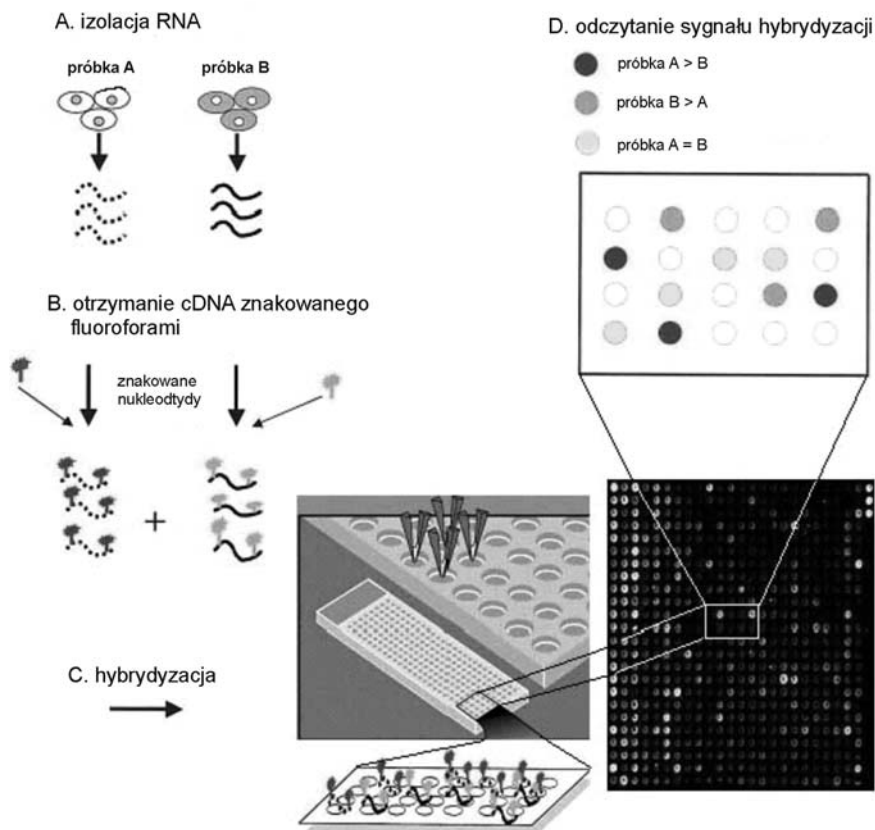
Wszystkie te przesłanki powodują, że badania żywieniowe i badania genomiczne, które do niedawna biegle zupełnie niezależnymi szlakami, zostają połączone w jedną dziedzinę, jaką jest „żywieniowa genomika” lub inaczej „nutrigenomika” (1, 2, 3, 4). Najkrócej można ją zdefiniować jako dziedzinę badającą wpływ składników żywności na genom przy zastosowaniu nowoczesnych technologii biologii molekularnej.

Mikromacierze DNA. Technika, która coraz bardziej zyskuje na znaczeniu w badaniu interakcji gen – żywność jest techniką mikromacierzy DNA. Pozwala ona na jednoczesny pomiar ekspresji tysięcy genów, przez co stanowi potężne narzędzie w analizie transkryptów i doskonały przykład połączenia metod biologii molekularnej, nanotechnologii i informatyki. Sama idea metody wywodzi się z klasycznych technik analizy ekspresji genów jak Northern blot i oparta jest na zjawisku hybrydyzacji, czyli zdolności tworzenia przez jednoniciowe kwasy nukleinowe, o w większości komplementarnych sekwencjach, dwuniciowych cząsteczek, tzw. hybryd. Mikromacierz DNA stanowi

uporządkowany zbiór genów lub fragmentów genów w postaci jednoniciowego DNA, unieruchomiony na membranie lub płytce szklanej bądź z tworzywa. W odróżnieniu od techniki Northern sondy obrazujące geny są wiązane w sposób trwały na stałym podłożu, zaś znakowana jest próbka badanego materiału genetycznego. Wyróżnia się cztery podstawowe typy macierzy DNA (5, 6).

Makromacierze DNA. Stanowią je nylonowe membrany pokryte fragmentami DNA lub cDNA. Są to macierze o niskiej gęstości (1–2 mm odległość między oczkami sieci). Dzięki nim można badać jednocześnie ekspresję do 100 genów. Próby badane znakowane są radioaktywnie lub chemiluminescencyjnie.

Mikromacierze cDNA. Są to zwykle płytki szklane lub z tworzywa, na których umieszczone są sondy DNA. Mogą być to fragmenty cDNA złożone z 200–2400 nukleotydów, otrzymane metodą PCR lub RT-PCR. Dla stworzenia takiej sondy nie jest konieczna dokładna znajomość sekwencji całego genu, wystarczy odpowiednie dopasowanie startera dla selektywnej i wydajnej amplifikacji wybranej części genu. Zaletą tego rodzaju macierzy jest możliwość ich wykorzystania do badania ekspresji genów o nieznannej lub tylko częściowo znanej sekwencji, zaś wadą, wynikającą głównie z wielkości stosowanych sond jest możliwość hybrydyzacji z nimi fragmentów o nie w pełni komplementarnej sekwencji. Kolejną zaletą mikromacierzy cDNA jest możliwość badania i porównania jednocześnie w jednym eksperymencie ekspresji dwóch prób, zwykle próby badanej i kontrolnej, dzięki oznakowaniu



Ryc. 1. Schemat przebiegu eksperymentu z zastosowaniem mikromacierzy cDNA. (www.fao.org/DOCREP/003/X6884e03.htm)

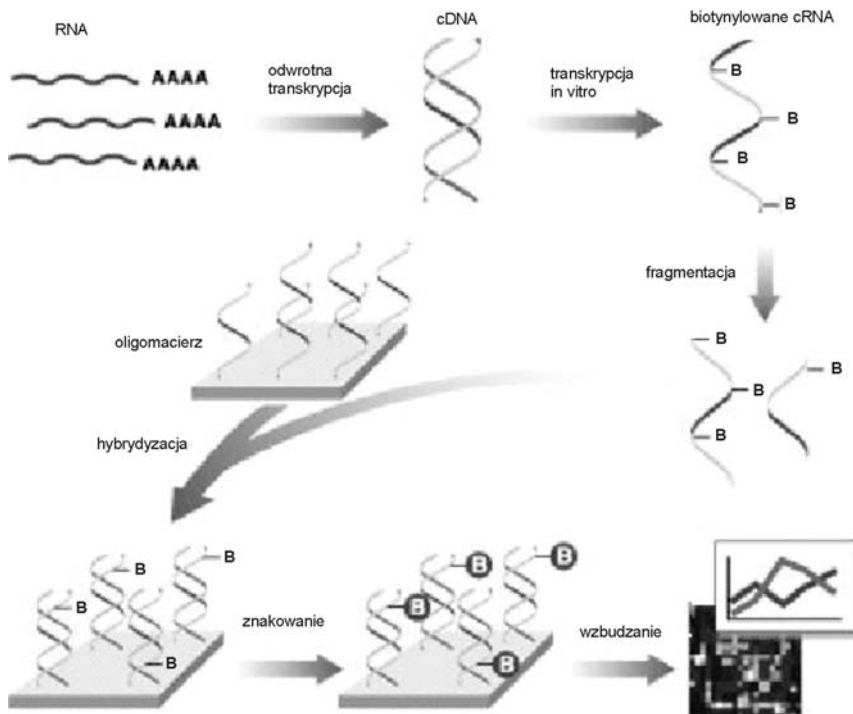
Fig. 1. cDNA microarray experiment. (www.fao.org/DOCREP/003/X6884e03.htm)

ich różnymi barwnikami fluorescencyjnymi. Do tego typu eksperymentów najczęściej stosuje się dwa fluorofory: cyanine 3 (Cy3) i cyanine 5 (Cy5), których widma emisji pokrywają się w niewielkim zakresie, co pozwala na odróżnienie próby znakowanej jednym z nich od drugiej, znakowanej przy użyciu drugiego fluoroforu. Po wzbudzeniu znaczników światłem laserowym o odpowiednich długościach fali uzyskany obraz badany i kontrolny można na siebie nałożyć celem porównania ekspresji prób. Tego typu macierze są zwykle projektowane i wykonywane samodzielnie w laboratorium na potrzeby danego eksperymentu.

Typowy eksperyment z zastosowaniem mikromacierzy cDNA składa się z następujących etapów:

- przygotowanie sond molekularnych,
- związanie sond do powierzchni płytki
- przygotowanie próbek:
 - izolacja RNA,
 - otrzymanie cDNA znakowanego fluoroforem w reakcji odwrotnej transkrypcji,
 - hybrydyzacja prób do sond na mikromacierzy,
 - odczytanie sygnału hybrydyzacji,
 - analiza danych (ryc. 1).

Oligonukleotydowe macierze o dużej gęstości (mikrochipy DNA). Produkowane są zwykle fabrycznie, charakteryzują się dużą gęstością oczek i możliwością badania jednocześnie ekspresji kilkudziesięciu tysięcy genów. Sondami są krótkie oligonukleotydowe fragmenty DNA otrzymane na drodze syntezy chemicznej lub metodą fotolitografii bezpośrednio na mikromacierzy. Do zaprojektowania i wykonania tego typu macierzy konieczna jest znajomość sekwencji



Ryc. 2. Schemat przebiegu eksperymentu z zastosowaniem oligonukleotydowych macierzy o dużej gęstości (<https://www.vbi.vt.edu/article/articleview/145>).

Fig. 2. High-density oligonucleotide microarrays experiment (<https://www.vbi.vt.edu/article/articleview/145>).

analizowanych genów. Służą one do zaprojektowania i wykonania zestawu oligonukleotydów o sekwencjach specyficznych dla danego genu. Jeden gen rozbity jest na macierzy na kilka sond oligonukleotydowych. Znakowanym materiałem jest antysensowny RNA (cRNA) o sekwencji komplementarnej do sond. W celu otrzymania cRNA, po wyizolowaniu z materiału biologicznego RNA, przepisuje się jego sekwencję na cDNA w reakcji odwrotnej transkrypcji. W procesie tym ilość cząsteczek ulega zwielokrotnieniu w wyniku liniowej amplifikacji. Otrzymany cDNA służy jako matryca do transkrypcji *in vitro*, w wyniku której powstaje cRNA i jest do niego dołączana biotylna. Taki biotylny cRNA poddaje się hybrydyzacji z sondami na macierzy, a następnie jest znakowany np. za pomocą kompleksu streptawidyny z fikoerytryną – barwnikiem fluorescencyjnym. W pojedynczym eksperymencie, w odróżnieniu od mikromacierzy cDNA, badamy tylko jedną próbkę. Poziom fluorescencji zestawu oligonukleotydów obrazujących dany gen jest rozpatrywany jako poziom ekspresji tego genu.

Hybrydyzacja prób badanych z mikromacierzami cDNA i mikrochipami DNA zachodzi w specjalnych komorach podczas kilkunastogodzinnej inkubacji. Analiza efektów hybrydyzacji wymaga wcześniejszego wymycia niezwiązanych fragmentów prób (ryc. 2).

Mikroelektroniczne macierze. Dzięki elektronicznemu połączeniu każdego oczka mikromacierzy z komputerem i zastosowaniu elektronicznej zmiany ładunków, czas hybrydyzacji biotylnego RNA z sondami ulega znacznemu skróceniu do kilku minut oraz jest możliwa bardzo szybka analiza efektów hybrydyzacji. Ten typ macierzy nie jest jeszcze bardzo popularny.

Zasady dobrej praktyki w eksperymentach z zastosowaniem mikromacierzy. Pomimo zdecydowanych zalet techniki mikromacierzy, zwłaszcza biorąc pod uwagę możliwość badania ekspresji tysięcy genów jednocześnie, istnieje bardzo wiele punktów krytycznych, które rzutują na wiarygodność otrzymanych wyników. Przykładowo porównano zmianę ekspresji 84 genów podczas różnicowania mysich embrionalnych komórek macierzystych przy pomocy techniki Northern blot i mikromacierzy cDNA (7). Wykazano stabilność wyników uzyskiwanych w niezmiennych warunkach przy użyciu mikromacierzy, oraz udowodniono, że są one porównywalne z danymi uzyskanymi techniką Northern blot (pomimo, że ekspresję kilku genów, którą wykazała technika Northern blot, nie wykazała technika mikromacierzy i odwrotnie). Jednocześnie wskazano na pewne wady techniki mikromacierzy, które wymagają korekty, np. zastosowanie odwrotnej kombinacji fluoroforów Cy3 i Cy5 do znakowania prób badanej i kontrolnej rzutuje na otrzymane wyniki. Koniecznym wydaje się dlatego zwrócenie szczególnej uwagi na miejsca krytyczne i określenie oraz stosowanie zasad dobrej praktyki podczas tego typu eksperymentów (6, 8, 9).

Pierwszym strategicznym punktem jest ilość i jakość wyizolowanego RNA, gdyż źle wyizolowane lub częściowo rozłożone próbki nie będą dawały wiarygodnych wyników. Zaleca się zamrażanie próbki w ciekłym azocie lub stosowanie specjalnych roztworów inhibitorów RN-azy, celem zapewnienia odpowiedniej ilości, oraz oszacowanie jakości wyizolowanego RNA poprzez np.: określenie ewentualnych zanieczyszczeń czy stopnia degradacji. W sytuacji, gdy ilość RNA dostępnego do badań jest ograniczona można teoretycznie:

- połączyć kilka próbek RNA otrzymanych z tej samej grupy badanej,
- poprawić efektywność znakowania i hybrydyzacji cDNA,
- dokonać amplifikacji prób podczas przepisywania informacji z RNA na cDNA pamiętając jednak, że stopień powielenia powinien być ograniczony do minimum i nie powinien wprowadzać zmian w proporcjach pomiędzy poszczególnymi cząsteczkami RNA (8).

Kolejnym ważnym etapem jest znakowanie prób badanych. Najpopularniejsze sposoby to:

- znakowanie bezpośrednie za pomocą fluoroforów Cy3 i Cy5,
- znakowanie pośrednie poprzez estry barwników Cy3 i Cy5,
- znakowanie dendrymerowe (8),

z których każdy ma swoich zwolenników i przeciwników.

Bardzo istotne znaczenia ma również samo przygotowanie mikromacierzy, gdzie wiele czynników należy brać pod uwagę, jak: sposób nanoszenia sond, rodzaj powierzchni, temperaturę itp., oraz przebieg hybrydyzacji, dla którego ważna jest dobra, równomierna dystrybucja roztworu hybrydyzacyjnego (6, 8).

Dla normalizacji danych uzyskiwanych tą techniką kluczowe znaczenie ma również wyeliminowanie obrazu tła, dlatego wskazane jest np. umieszczanie na macierzy kontroli negatywnych, tj. sond DNA, które nie powinny hybrydyzować z badaną próbką, np. genów roślinnych na mikromacierzach z genami zwierzęcymi.

Dla porównania wyników konieczne jest ustalenie, jaką różnicę w ekspresji genów można uznać za znaczącą statystycznie – zwykle jest to różnica dwu – czterokrotna (6).

Uzyskiwanie danych, ich analiza i interpretacja wymagają odpowiedniego zaplecza informatycznego. Rozwój techniki mikromacierzy DNA wymusza jednocześnie rozwój bioinformatyki, aby ogromne ilości danych potencjalnie generowane za pomocą mikromacierzy, mogły zostać przetworzone i wykorzystane. Ścisła kooperacja i wspólne wysiłki badaczy, statystyków i informatyków zmierzają w celu stworzenia i upowszechnienia odpowiednich bioinformatycznych narzędzi, które usprawnią stosowanie tej techniki.

Zastosowanie mikromacierzy DNA w badaniach nutrigenomicznych. Stosowanie techniki mikromacierzy DNA, która pozwala na pomiar poziomów mRNA tysięcy różnych genów jednocześnie, znajduje coraz częstsze zastosowanie w badaniach żywieniowych. Jest to bardzo użyteczna metoda biorąc pod uwagę złożoność efektów, jakie składnik diety wywiera na organizm. Można wyróżnić kilka podstawowych kierunków badań żywieniowych, w jakich można zastosować matryce DNA (9). Macierze DNA mogą dostarczyć danych na temat mechanizmów leżących u podstaw korzystnych lub szkodliwych efektów oddziaływania na organizm danego składnika żywności lub modelu diety. Mogą także służyć do określania optymalnej ilości danego składnika, która wywoła pożądany efekt pro zdrowotny w danej subpopulacji. Określenie profilu ekspresji genów może ponadto pomóc zidentyfikować ważne geny, białka lub metabolity, które ulegają zmianie w stanie przedchorobowym i mogą służyć jako biomarkery, gdyż wczesne rozpoznanie zmian na poziomie molekularnym przed wystąpieniem zmian klinicznych może pomóc zapobiec wystąpieniu choroby, lub zmniejszyć ciężkość jej objawów. Jednak podstawowym zastosowaniem macierzy DNA jest poznanie i scharakteryzowanie podstawowych szlaków, poprzez które składniki diety wpływają na regulację ekspresji genów.

Zaletą użycia mikromacierzy, zwłaszcza zawierających sondy obrazujące cały genom, jest brak konieczności stawiania hipotezy badawczej poprzez szacowanie, jakie ważne geny czy szlaki są modulowane przez dany składnik (9). Rzeczywistą wartością danych uzyskiwanych z badania profilu ekspresji genów nie jest określenie listy wielu genów, które są regulowane przez dany składnik diety, ale możliwość określania na jej podstawie całkowitych zmian biochemicznych zachodzących w organizmie pod wpływem tego czynnika. Zastosowanie techniki mikromacierzy DNA w badaniach interakcji genom – żywność może przyczynić się do określenia molekularnych podstaw oddziaływania składników pokarmu na procesy zachodzące w organizmie, zwłaszcza te związane z rozwojem różnorodnych chorób, a w przyszłości do bardziej świadomego stosowania żywności w prewencji i leczeniu chorób.

A. Białek, A. Tokarz

DNA MICROARRAY TECHNIQUE IN GENE EXPRESSION STUDIES. Part II

PIŚMIENNICTWO

1. Gillies P.J.: Nutrigenomics: The Rubicon of molecular nutrition. J. Am. Diet. Assoc. Suppl.2 2003; (103)12: S50-S55. – 2. Nowicka G.: Geny, żywienie, zdrowie. Gdzie jesteśmy i dokąd zmierzamy. Żyw. Człow. Metab. 2001; 28(3): 247-253. – 3. Roberts M.A., Mutch D.M., German J.B.: Genomics: food and nutrition. Curr. Opin. Biotechnol. 2001; 12: 516-522. – 4. Kaput J., Rodriguez R.L.: Nutritional genomics: the next frontier in the postgenomic era. Physiol. Genomics 2004; 16: 166-177. – 5. Liu-Stratton Y., Roy S., Sen C.K.: DNA microarray technology in nutraceutical and food safety. Toxicol. Letters 2004; 150: 29-42. – 6. Kisiel A., Skapska A., Markiewicz W.T., Figlerowicz M.: Mikromacierze DNA. Kosmos 2004; Tom 53, 3-4 (264-265): 295-303. – 7. Taniguchi M., Miura K., Iwao H., Yamanaka S.: Quantitative Assessment of DNA Microarray – Comparison with Northern Blot Analyses. Genomics 2001; 71: 34-39. – 8. Garosi P., De Filippo C., van Erk M., Rocca-Serra P., Sansone S.A., Elliott R.: Defining best practice for microarray analyses in nutrigenomic studies. Br. J. Nutr. 2005; 93: 425-432. – 9. Hirschi K.D., Kreps J.A., Hirschi K.K.: Molecular Approaches to Studying Nutrient Metabolism and Function: An Array of Possibilities. J. Nutr. Suppl. 2001; 1605S-1609S.

Joanna Suliburska, Grażyna Duda

STAN ODŻYWIENIA I AKTYWNOŚĆ FIZYCZNA OSÓB DOROSŁYCH A WYSTĘPOWANIE PIERWOTNEGO NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO^{*)}

Katedra i Zakład Bromatologii Akademii Medycznej w Poznaniu
Kierownik: prof. AM J. Przystański

W pracy określono współzależność pomiędzy stanem odżywienia i aktywnością fizyczną a występowaniem pierwotnego nadciśnienia tętniczego u osób dorosłych. W badaniach udział wzięli pacjenci ze zdiagnozowanym pierwotnym nadciśnieniem tętniczym oraz osoby zdrowe. Stwierdzono, że pacjenci charakteryzowali się znamienne wyższym ciśnieniem tętniczym, wartością pulsu i wartościami wskaźników BMI i WHR oraz wykazywali niższą aktywność fizyczną aniżeli osoby zdrowe. Uzyskane wyniki potwierdzają, że otyłość centralna oraz towarzysząca jej często niska aktywność fizyczna stanowią istotne czynniki ryzyka rozwoju pierwotnego nadciśnienia tętniczego.

Hasła kluczowe: pierwotne nadciśnienie tętnicze, otyłość, aktywność fizyczna, osoby dorosłe.

Key words: essential hypertension, obesity, physical activity, adults.

Pomimo wieloletnich badań, zarówno klinicznych, jak i doświadczalnych, przyczyna pierwotnego nadciśnienia tętniczego (NT) nie została ostatecznie poznana. Za jeden z niezależnych czynników sprzyjających rozwojowi chorób metabolicznych, w tym nadciśnienia tętniczego, uznaje się otyłość (1). Dodatnia korelacja pomiędzy otyłością i ciśnieniem tętniczym występuje już we wczesnym okresie życia i zwiększa się wyraźnie u osób dorosłych (1, 2). Przypuszcza się także, że dystrybucja tkanki tłuszczowej u osób otyłych jest istotnym wyznacznikiem występowania nadciśnienia tętniczego. Ustalono, że ryzyko nadciśnienia zwiększa się wyraźnie u osób z otyłością androidalną (3).

Skuteczną metodę zapobiegania otyłości, a także w pewnym stopniu chorobie niedokrwiennej serca i nadciśnieniu tętniczemu, stanowi wysiłek fizyczny. Uważa się, że siedzący tryb życia zwiększa o 20–50% ryzyko wystąpienia nadciśnienia tętniczego, w porównaniu do osób aktywnych fizycznie (3). Badania epidemiologiczne i kliniczne wykazują, że współistniejące z NT inne czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, w tym otyłość i niska aktywność fizyczna działają synergicznie, nasilając rozwój miażdżycy i jej powikłań narządowych (4).

Mając to na uwadze, w pracy postanowiono określić współzależność pomiędzy wybranymi antropometrycznymi wskaźnikami stanu odżywienia i aktywnością fizyczną, a występowaniem pierwotnego nadciśnienia tętniczego u osób dorosłych.

^{*)} Zgoda Komisji Bioetycznej na prowadzenie badań.

MATERIAŁ I METODY

W badaniu uczestniczyły łącznie 162 osoby, w wieku od 30 do 60 lat. Grupę badaną (A) stanowiło 91 osób ze zdiagnozowanym, przez lekarzy specjalistów, pierwotnym nadciśnieniem tętniczym, w tym 46 kobiet i 45 mężczyzn. Średni wiek pacjentów wynosił $50,6 \pm 8,5$ lat; w tym kobiet: $52,3 \pm 8,4$ lat, mężczyzn: $48,9 \pm 8,3$ lat. Z badań wykluczono osoby z chorobami współistniejącymi takimi, jak: choroba niedokrwienna serca, stan po zawale, niewydolność nerek, cukrzyca, dna, hiperlipidemia. Grupę kontrolną (B) stanowiło ogółem 71 osób zdrowych, w skład której weszło 41 kobiet i 30 mężczyzn. Średni wiek osób grupy kontrolnej wynosił $45,3 \pm 7,3$ lat, w tym kobiet: $45,3 \pm 7,9$ lat i mężczyzn: $46,7 \pm 6,1$ lat. Grupę B stanowiły osoby zdrowe tj. bez nadciśnienia tętniczego i chorób współistniejących.

Ocenę stanu odżywienia uczestników badań przeprowadzono metodami antropometrycznymi w oparciu o wskaźnik masy ciała BMI, wskaźnik talia/biodro WHR oraz procentową zawartość tkanki tłuszczowej, określoną na podstawie pomiaru grubości czterech fałdów skórno-tłuszczowych (5). Wszystkim osobom uczestniczącym w badaniu mierzono także dwukrotnie ciśnienie tętnicze krwi skurczowe (RRs) i rozkurczowe (RRr). Stopień aktywności fizycznej badanych osób oceniono na podstawie specjalnie opracowanej do tego celu ankiety. Statystyczną analizę wyników przeprowadzono z wykorzystaniem programu *Statistica* 6.0 firmy StatSoft oraz programu *Open Stat*.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań stwierdzono, że grupa badana (A) pomimo leczenia farmakologicznego odznaczała się znamienne wyższą wartością ciśnienia tętniczego skurczowego ($144,8 \pm 26,0$ mm Hg) i rozkurczowego ($90,2 \pm 12,9$ mm Hg) oraz wartością pulsu ($76,1 \pm 12,9$ mm Hg), w porównaniu z grupą kontrolną (B), w której wartości te wynosiły odpowiednio: $125,0 \pm 9,9$ mm Hg; $76,4 \pm 6,3$ mm Hg; $73,1 \pm 8,7$ mm Hg).

Analizując wyniki badań antropometrycznych zaobserwowano istotnie wyższą wartość wskaźnika masy ciała (BMI) w grupie pacjentów z nadciśnieniem tętniczym aniżeli u osób zdrowych (tab. I). Różnice znamienne statystycznie dotyczyły zarówno kobiet jak i mężczyzn obu analizowanych grup.

Tabela I
Wartości wskaźników antropometrycznych badanych osób

Table I
Anthropometrical parameters of study population

Parametr	Grupa						
	x_{sr}/Me	A	B	Ak	Bk	Am	Bm
BMI (kg/m ²)	x_{sr}	$33,4 \pm 7,8$	$25,8 \pm 3,5$	$35,1 \pm 7,9$	$25,5 \pm 2,7$	$32,5 \pm 6,5$	$26,6 \pm 4,3$
	Me	31,2*	25,28*	33,3*	25,5*	30,6*	25,3*
WHR	x_{sr}	$0,92 \pm 0,09$	$0,84 \pm 0,09$	$0,88 \pm 0,09$	$0,79 \pm 0,06$	$0,97 \pm 0,07$	$0,90 \pm 0,08$
	Me	0,93*	0,81*	0,88*	0,78*	0,98*	0,92*
% tkanki tłuszczowej	x_{sr}	$29,8 \pm 7,7$	$26,2 \pm 6,7$	$34,9 \pm 5,6$	$29,1 \pm 5,3$	$24,4 \pm 5,79$	$22,1 \pm 5,4$
	Me	31,0*	25,7*	35,7*	29,6*	24,6*	21,4*

Test *Manna – Whitneya*; A – grupa badana, B – grupa kontrolna, k – kobiety, m – mężczyźni

* • • – zależność istotna statystycznie ($p < 0,005$); Me – mediana.

Biorąc pod uwagę odsetek osób w poszczególnych zakresach wskaźnika BMI, odnotowano znaczące dysproporcje pomiędzy grupą badaną i kontrolną (tab. II). W przypadku chorych z NT stwierdzono niski (7%) procent pacjentów z prawidłową masą ciała, zdecydowanie niższy u kobiet (4%) aniżeli mężczyzn (9%). Wśród osób zdrowych odsetek ten wyniósł 47%. Z przedstawionych danych wynika, że ponad 30% osób z grupy badanej (A) cierpiało na nadwagę, a ponad 60% na otyłość. W znacznie mniejszym stopniu dotyczyło to osób z grupy kontrolnej tj. odpowiednio 42% i 11% uczestników badań. Otyłość olbrzymią (BMI > 40) odnotowano u blisko 20% pacjentów z NT, w tym głównie u kobiet (35%), podczas gdy nie stwierdzono jej występowania u żadnej osoby zdrowej.

Tabela II
Odsetek osób w określonych zakresach wskaźników antropometrycznych

Table II
Ratio subsets of subjects by values of anthropometrical parameters

Parametr	Zakres normy	Grupa (% osób)					
		A	B	Ak	Bk	Am	Bm
BMI	< 25	7	47	4	46	9	47
	25 – 30	32	42	30	51	38	30
	31 – 40	41	11	31	3	49	23
	> 40	20	0	35	0	4	0
WHR	norma	41	80	15	68	67	97
	> normy	59	20	85	32	33	3
% tkanki tłuszczowej	< normy	6	14	0	12	9	17
	norma	41	63	37	66	49	60
	> normy	53	23	63	22	42	23

Wskaźnik WHR – norma: kobiety $\leq 0,8$; mężczyźni $\leq 1,0$

% tkanki tłuszczowej – norma: kobiety 20–33,5%; mężczyźni 16–25,7% (5).

Analiza wskaźnika WHR, określającego dystrybucję tkanki tłuszczowej i pośrednio typ otyłości, wskazała na istotnie wyższą jego średnią wartość w grupie badanej (A) w stosunku do grupy kontrolnej B (tab. I). Dane zamieszczone w tab. II potwierdzają częstsze występowanie otyłości brzusznej u pacjentów z NT aniżeli wśród osób zdrowych. Ten typ otyłości charakteryzował zwłaszcza chore kobiety (85%) oraz, w znacznie mniejszym stopniu, chorych mężczyzn (33%).

Oceniając zawartość tkanki tłuszczowej w organizmie stwierdzono znacząco wyższy jej procent u kobiet i mężczyzn z NT w stosunku do osób grupy kontrolnej (tab. I). Zawartość tkanki tłuszczowej przekraczała wartości prawidłowe u statystycznie znacznie wyższego odsetka pacjentów, w porównaniu z osobami zdrowymi (53% vs 23%) (tab. II).

Stwierdzona u większości badanych osób z NT androidalna dystrybucja tkanki tłuszczowej potwierdza, że otyłość centralna stanowi jeden z głównych czynników rozwoju nadciśnienia tętniczego. Podkreślano to już w licznych, wcześniejszych badaniach klinicznych i eksperymentalnych, wskazujących na związek otyłości typu androidalnego z rozwojem nadciśnienia tętniczego (3, 6). Jak podają Autorzy tych badań wzrost ciśnienia tętniczego u osób otyłych może być wywołany insulinoopornością i hiperinsulinemią, prowadzącą do nasilenia retencji sodu w nerkach, zwiększonym poziomem leptyny we krwi, a także dysfunkcją śródbłonna naczyń krwionośnych spowodowaną stresem oksydacyjnym (7, 8, 9).

Występowanie podwyższonego ciśnienia tętniczego, pomimo przyjmowania leków hipotensyjnych, u chorych z nadwagą i otyłością, nasuwa przypuszczenie, iż nadmierna masa ciała może zwiększać u nich oporność na stosowaną terapię farmakologiczną. Potwierdza to opinie innych Autorów, uznających otyłość za jedną z przyczyn nieskuteczności leczenia hipotensyjnego (10).

Na częste występowanie nadwagi i otyłości u osób z NT wskazują także badania innych Autorów (11, 12, 13, 14, 15). Jak wynika z 12-letniej obserwacji populacji osób dorosłych, objętych badaniem Pol-MONICA Warszawa, przeprowadzonym w latach 1984–1992, nadwaga i otyłość dotyczyła ok. 80% chorych na NT (76,8% mężczyzn i 81,8% kobiet) oraz ok. 50% osób zdrowych (51,8% mężczyzn i 41,6% kobiet) (11). Przeprowadzone w ostatnich latach na terenie Wielkopolski badania kliniczne i epidemiologiczne wskazują, że problem nadwagi i otyłości dotyczy także bardzo wysokiego odsetka osób starszych z chorobami sercowo-naczyniowymi oraz osób zdrowych w średnim wieku (16, 17).

Analizując uzyskane wyniki należy podkreślić, że w badaniach przeprowadzonych we Włoszech wśród osób z NT wykazano podobnie wysoki odsetek osób z nadwagą i otyłością (80%), jednak w ich przypadku otyłość (BMI > 30) występowała u znacznie mniejszego odsetka badanych osób (23%) aniżeli w niniejszej pracy (15). Związane jest to prawdopodobnie z tym, że w Basenie Morza Śródziemnego, z uwagi na specyfikę tzw. diety śródziemnomorskiej, odnotowuje się mniejsze występowanie otyłości aniżeli w pozostałych krajach europejskich (18). Podobne do prezentowanych w pracy wartości BMI w grupie osób z NT uzyskano w USA, prowadząc badania w latach 1996–2000. Wykazano w nich, że

średnia wartość wskaźnika BMI osób z nadciśnieniem tętniczym wynosiła ok. 30 i była wyższa aniżeli u chorych z dyslipidemią lub innymi chorobami sercowo-naczyniowymi oraz niższa, w porównaniu z chorymi na cukrzycę (19).

Na podstawie danych ankietowych dotyczących aktywności fizycznej uczestników badań stwierdzono, że większość osób grupy A (59%) charakteryzowała niska aktywność fizyczna, podczas gdy w grupie kontrolnej przeważały osoby wykazujące średnią aktywność (58%) (tab. III).

Tabela III
Ocena aktywności fizycznej badanych osób

Table III
Physical activity of study population

Aktywność fizyczna	Grupa					
	A	B	Ak	Bk	Am	Bm
Mała	59*	39*	68*	49*	23*	49*
Średnia	33*	58*	30*	51*	67*	37*
Duża	8*	3*	2*	0*	10*	14*

Test χ^2 ; A – grupa badana; B – grupa kontrolna; k – kobiety; m – mężczyźni;

* • • – zależność istotna statystycznie ($p < 0,005$).

Uzyskane wyniki badań wskazują jednoznacznie na mniejszą intensywność wysiłku fizycznego osób chorych w porównaniu z osobami zdrowymi. Jak można sądzić stanowi to jedną z przyczyn częstego występowania u nich nadwagi i otyłości.

Z uwagi na doniesienia podkreślające, że nawet niewielki lecz regularny wysiłek fizyczny może obniżyć skurczowe ciśnienie tętnicze krwi o ok. 4–8 mm Hg (20) wydaje się konieczne zalecenie zwiększenia częstości aktywności fizycznej, zwłaszcza w badanej grupie osób chorych. Należy przy tym wziąć także pod uwagę fakt, że wzrost aktywności fizycznej sprzyja redukcji nadwagi i otyłości, wpływa korzystnie na poprawę tolerancji glukozy, obniża poziom insuliny, leptyny i wolnych kwasów tłuszczowych we krwi, przez co w konsekwencji przyczynia się do zmniejszenia umieralności (21, 22).

WNIOSKI

Podsumowując przedstawione wyniki badań, można stwierdzić, że:

1. Nadwaga i otyłość, szczególnie typu androidalnego, występująca zwłaszcza wśród kobiet, zwiększa istotnie ryzyko wystąpienia nadciśnienia tętniczego.

2. Niska aktywność fizyczna stanowi istotny czynnik odpowiedzialny za występowanie nadciśnienia tętniczego.

3. W programach prewencji i leczenia nadciśnienia tętniczego należy uwzględnić zmianę stylu życia, obejmującą głównie normalizację masy ciała i wzrost aktywności fizycznej.

J. Suliburska, G. Duda

NUTRITIONAL STATUS AND PHYSICAL ACTIVITY OF ADULTS AND ESSENTIAL HYPERTENSION

Summary

The aim of the study was to assess the relationship between anthropometrical nutritional status, physical activity and essential hypertension in adults. The research included hypertensive subjects and healthy adults (control group). It was found that, compared to the control, the examined group was

characterized by significantly higher arterial blood pressure, quicker heart rate, higher values of BMI and WHR and lower physical activity. The results indicate an important role of central obesity and low physical activity as risk factors associated with the relatively high prevalence of arterial hypertension in the study population.

PIŚMIENNICTWO

1. *Schunkert H.*: Obesity and target organ damage: the heart. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2002; 26 (suppl. 4): S15-S20. – 2. *He Q., Ding Z.Y., Fong D.Y.* i współpr.: Blood pressure is associated with body mass index in both normal and obese children. *Hypertens.*, 2000; 36 (2): 165-170. – 3. *Kozłowska-Wojciechowska M.*: Czynniki żywieniowe w profilaktyce i leczeniu nadciśnienia tętniczego. *Czynniki Ryzyka*, 1998; 4: 50-54. – 4. *Gnacińska M., Zdrojewski T., Wierucki Ł.* i współpr.: Współwystępowanie zaburzeń lipidowych i nadciśnienia tętniczego w populacji osób w wieku 50 lat. *Nadciśnienie Tętnicze*, 2004; 8(2): 97-102. – 5. *Durnin J.V., Womersley J.*: Body fat assessed from totalbody density and its estimation from skinfold thickness. *Br. J. Nutr.*, 1974; 32: 77-82. – 6. *Foucan L., Hanley J., Deloumeaux J.* i współpr.: Body mass index (BMI) and waist circumference (WC) as screening tools for cardiovascular risk factors in Gaudeloupean women. *J. Clin. Epidemiol.*, 2002; 55(10): 990-996. – 7. *Perticone F., Ceravolo R., Candigliota M.* i współpr.: Obesity and body fat distribution induce endothelial dysfunction by oxidative stress. *Diabetes*, 2001; 50: 159-165. – 8. *Mark A.L., Correia L.G., Rahmoui K.* i współpr.: Wybiórcza oporność na leptynę: nowa koncepcja patofizjologiczna o istotnych konsekwencjach dla układu sercowo-naczyniowego. *J. Hypertens.*, 2002; 20: 1245-1250. – 9. *Mrozikiewicz-Rakowska B., Pupek-Musialik D.*: Czy leptyna i noradrenalina uczestniczą w kształtowaniu nadciśnienia tętniczego u osób otyłych? *Nadciśnienie Tętnicze*, 2000; 4(2): 89-96. – 10. *Cybulska I., Januszewicz A.*: Przyczyny niepowodzenia leczenia hipotensyjnego. *Nadciśnienie Tętnicze*, 2003; 8(3): 98-102.
11. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego (PTNT): Podstawy epidemiologiczne zapobiegania nadciśnieniu tętniczemu i jego właściwego leczenia w populacji Polski. *Nadciśnienie Tętnicze*, 2003; supl. B: B1-B4. – 12. *Lancaster K.J., Smiciklas-Wright H., Weitzel L.B.* i współpr.: Hypertension – related dietary patterns of rural older adults. *Preventive Medicine* 2004; 38: 812-818. – 13. *Massey L.K.*: Dairy food consumption, blood pressure and stroke. *J. Nutr.*, 2001; 131: 1875-1878. – 14. *Redon J., Oliva M.R., Tormos C.* i współpr.: Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension. *Hypertens.*, 2003; 41: 1096-1101. – 15. *Mancia G., Volpe R., Boros S., Ilardi M.* i współpr.: Cardiovascular risk profile and blood pressure control in Italian hypertensive patients under specialist care. *J. Hypertens.*, 2004; 22: 51-57. – 16. *Duda G., Maruszewska M., Wieczorowska-Tobis K.* i współpr.: Choroby somatyczne a sposób żywienia i wybrane wskaźniki stanu odżywienia kobiet w wieku podeszłym. *Żyw. Człow. Metab.*, 2003; 30: 810-814. – 17. *Przystawski J., Duda G., Bolesławska I.*: Poziom spożycia składników podstawowych i energii a wybrane wskaźniki antropometryczne grupy mężczyzn z regionu Wielkopolski. *Żyw. Człow. Metab.*, 2001; 28 (supl.): 102-106. – 18. *Ostrowska L., Karczewski J.*: Dieta Śródziemnomorska. *Medycyna Rodzinna*, 1998; 3: 2-5. – 19. *Neuhouser M.L., Miller D.L., Kristal A.* i współpr.: Diet and exercise habits of patients with diabetes, dyslipidemia, cardiovascular disease or hypertension. *J. Am. Coll. Nutr.*, 2002; 21(5): 394-401. – 20. Leczenie nadciśnienia tętniczego – zalecenia Europejskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego i Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego z 2003 r. *J. Hypertens. (wydanie polskie)*, 2003; 3(1): 4-43.
21. *Gołąbek I., Niedbał S., Krzeszowska T.* i współpr.: Wpływ aktywności fizycznej na insulinoooporność i parametry lipidowe u otyłych pacjentów z terenu południowej Polski. *Czynniki Ryzyka*, 2002; 1: 13-19. – 22. *Fagard R.H.*: Physical fitness and blood pressure. *J. Hypertens.*, 1993; 11 (suppl. 5): S47-S52.

Maria Drzewicka, Jadwiga Biernat, Halina Grajeta

WPLYW RODZAJU TŁUSZCZU W DIECIE
NA SKŁAD KWASÓW TŁUSZCZOWYCH
W FOSFATYDYLOCHOLINIE LIPIDÓW OSOCZA
I WYBRANYCH NARZĄDÓW SZCZURÓW DOŚWIADCZALNYCH

Katedra i Zakład Bromatologii Akademii Medycznej we Wrocławiu
Kierownik: prof. dr hab. *J. Biernat*

Badano wpływ rodzaju tłuszczu w diecie na skład kwasów tłuszczowych w fosfatydylocholinie fosfolipidów osocza krwi, wątroby, serca i nerek szczurów doświadczalnych. Źródłem tłuszczu w dietach były: olej słonecznikowy lub smalec lub mieszanina smalcu i oleju słonecznikowego w stosunku 1:1. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że dieta bogata w kwas linolowy zwiększała udział kwasu arachidonowego w fosfatydylocholinie osocza, wątroby i nerek zwierząt doświadczalnych.

Hasła kluczowe: dieta, skład kwasów tłuszczowych, osocze, wątroba, serce, nerki, fosfolipidy, fosfatydylocholina, model zwierzęcy.

Key words: diet, fatty acid composition, plasma, liver, heart, kidney, phospholipids, phosphatidylcholine, animal model.

Kwasy tłuszczowe nasycone i nienasycone zawarte w tłuszczach pożywienia są wykorzystywane przez organizm człowieka i zwierząt jako materiał energetyczny oraz materiał budulcowy błon i organelli komórkowych. Wchodząc w skład błon wpływają na ich strukturę i przepuszczalność dla substancji odżywczych, transportowanych do komórek organizmu (1, 2). Głównym składnikiem fosfolipidów błon biologicznych są wielonienasycone kwasy tłuszczowe z rodzin n-3 i n-6, które odgrywają znaczącą rolę w zapobieganiu i rozwojowi chorób układu krążenia. Biorą one udział w syntezie eikozanoidów, takich jak: prostaglandyny, prostacykliny, tromboksany, leukotrieny i lipoksyny, o istotnym wpływie na funkcjonowanie wielu narządów i tkanek (3, 4, 5).

Uważa się, że skład puli kwasów tłuszczowych w organizmie zwierząt i człowieka zależy w dużym stopniu od składu kwasów tłuszczowych pożywienia, a modyfikacja diety pod względem rodzaju tłuszczu może powodować zmiany w składzie kwasów tłuszczowych w lipidach tkankowych oraz osocza krwi (6, 7, 8). Zaobserwowano, że zastąpienie w diecie tłuszczów zwierzęcych, o dużej zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych, tłuszczami roślinnymi bogatymi w kwasy wielonienasycone, prowadzi do obniżenia udziału nasyconych kwasów tłuszczowych we frakcji estrów cholesterolu i do korzystnych zmian stosunku wielonienasyconych kwasów do nasyconych we frakcjach fosfolipidów i triacylogliceroli

w surowicy krwi i tkankach narządów zwierząt doświadczalnych (9, 10, 11). Uzyskanie odpowiedzi na ile kwasy tłuszczowe diety mogą modyfikować skład kwasów tłuszczowych we frakcji fosfolipidów w osoczu krwi i strukturach komórkowych tkanek narządów zwierząt doświadczalnych mogłoby poszerzyć wiadomości na temat metabolizmu poszczególnych kwasów tłuszczowych w organizmie.

Celem badań było określenie wpływu rodzaju tłuszczu, zawartego w diecie, na skład kwasów tłuszczowych w fosfatydylocholinie fosfolipidów osocza krwi oraz tkanek: wątroby, serca i nerek szczurów doświadczalnych. We wcześniejszej pracy własnej przedstawiono zmiany udziału kwasów tłuszczowych w lipidach całkowitych (bez ich podziału na frakcje) wyżej wymienionych narządów zwierząt doświadczalnych (12). W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań nad wpływem tłuszczów diety o zróżnicowanym udziale kwasów tłuszczowych nasyconych, jedno- i wielonienasyconych na profil kwasów tłuszczowych w fosfatydylocholinie fosfolipidów osocza i tkanek narządów szczurów doświadczalnych.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie żywieniowe przeprowadzono na 30 szczurach, samcach szczepu *Buffalo* o średniej początkowej masie ciała 154 g. Zwierzęta zostały podzielone na trzy grupy, po 10 osobników w każdej. Szczury karmiono 6 tygodni dietami półsyntetycznymi zawierającymi 20% białka, którego źródłem była kazeina, 50% węglowodanów w postaci sacharozy i skrobi pszennej, 5% błonnika oraz 8% tłuszczu i 0,5% cholesterolu. Poszczególne diety różniły się rodzajem tłuszczu. Źródłem tłuszczu w diecie I był olej słonecznikowy, w diecie II smalec wieprzowy, a w diecie III mieszanina 4% oleju i 4% smalcu. Diety doświadczalne zawierały mieszanki witamin i składników mineralnych według zaleceń AIN-76 (13). Skład diet podano w poprzedniej publikacji (12). Zwierzęta miały nieograniczony dostęp do paszy i wody. Spożycie paszy kontrolowano co drugi dzień, a przyrost masy ciała raz w tygodniu. Po zakończeniu doświadczenia zwierzęta usypiano bioketanem, pobierano krew z serca do heparynowanych probówek i po dyslokacji kręgow szyjnych wypreparowywano wątroby, nerki i serca. Średnie spożycie paszy, przyrosty masy ciała zwierząt doświadczalnych oraz średnie masy wątrób, serca i nerek podano w poprzedniej pracy (12).

Z osocza, otrzymanego po odwirowaniu krwi, oraz z homogenizowanych tkanek badanych narządów ekstrahowano lipidy metodą *Folcha* (14). Z ekstraktów lipidów z osocza i badanych narządów poszczególnych szczurów doświadczalnych przygotowywano próby zbiorcze dla danej grupy zwierząt. Fosfatydylocholinę wyodrębniano metodą ekstrakcji ciecz – ciało stałe przy wykorzystaniu systemu kolumnienek SPE stosując do elucji tej frakcji odpowiednie układy rozpuszczalników według procedury opisanej przez *Burdge* i współprac. (15). Skład kwasów tłuszczowych w fosfatydylocholinie oznaczano metodą chromatografii gazowej (16). Rozdział estrów metylowych kwasów tłuszczowych przeprowadzono na chromatografii gazowej 6890N firmy Agilent Technology z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym, wyposażonym w dozownik typu split i autosampler typ 7683 firmy Agilent na kolumnie kapilarnej o dł. 100 m pokrytej fazą stacjonarną CP Sil 88, o średnicy 0,25 mm, o grubości filmu fazy ciekłej 0,2 µm. Warunki rozdziału chromatograficznego były następujące: gaz nośny – hel o przepływie 2 cm³/min., split – 1:50, temp. dozownika i detektora – 240°C, temp. początkowa rozdziału – 165°C, czas trwania temp. początkowej – 10 min., temp. końcowa rozdziału – 200°C z przyrostem temp. od 165°C do 200°C w tempie 2°C/min., czas trwania analizy – 60 min.

Identyfikację kwasów tłuszczowych przeprowadzono na podstawie porównania czasów retencji poszczególnych pików estrów metylowych kwasów tłuszczowych badanych próbek z czasami retencji pików estrów wzorcowych. Udziały poszczególnych kwasów tłuszczowych w sumie wszystkich kwasów obliczano oznaczając procentowy udział powierzchni odpowiedniego pików w sumie powierzchni wszystkich pików. Obliczenia te przeprowadzono za pomocą programu komputerowego ChemStation v A.08 firmy Agilent Technology. Wyniki stanowią średnią arytmetyczną z dwóch równoległych oznaczeń.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Tłuszcze poszczególnych diet, którymi karmiono zwierzęta, charakteryzowały się zróżnicowanym składem kwasów tłuszczowych (tab. I). Olej słonecznikowy zawierał 63% kwasu linolowego (C18:2 n-6) i 25% kwasu oleinowego (C18:1 n-9). W puli kwasów tłuszczowych smalcu stwierdzono największy udział kwasów: oleinowego – 38% i palmitynowego (C16:0) – 27%. W oleju słonecznikowym obserwowano największy udział sumy kwasów wielonienasyconych (63%), natomiast w smalcu ilość nasyconych i jednonienasyconych kwasów tłuszczowych była zbliżona i wynosiła odpowiednio: 41% i 46%. W mieszaninie oleju słonecznikowego i smalcu udziały procentowe kwasów nasyconych, jedno- i wielonienasyconych były wypadkową ich zawartości w obu wcześniej omówionych tłuszczach.

Tabela I
Skład kwasów tłuszczowych (% sumy) w tłuszczach diet doświadczalnych

Table I
Fatty acid composition in dietary fats (% total fatty acid)

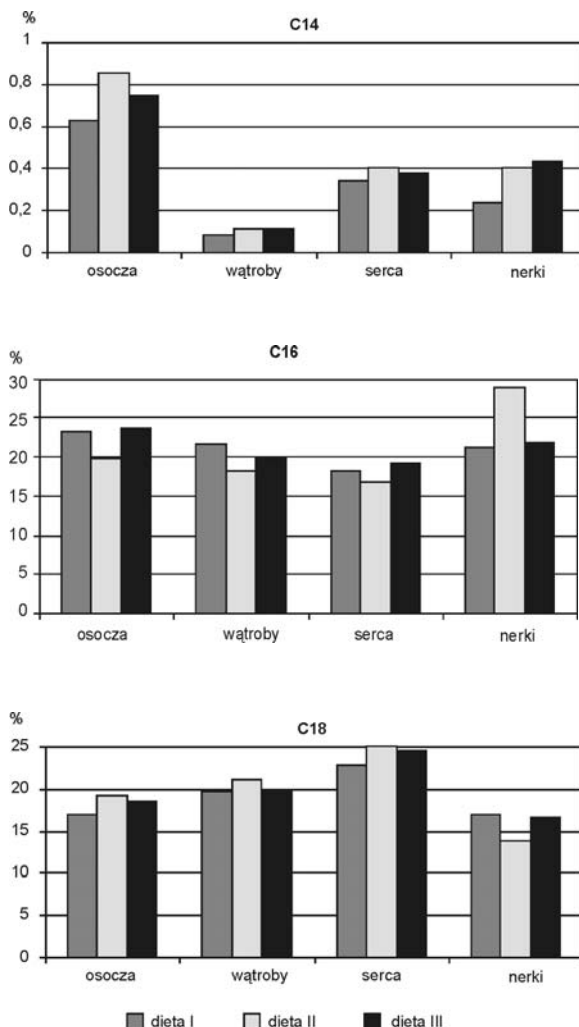
Kwasy tłuszczowe	Olej słonecznikowy	Smalec	Mieszanina oleju słonecznikowego i smalcu (1:1)
C10:0	–	0,2	–
C12:0	0,1	0,3	0,1
C14:0	0,2	3,0	1,0
C16:0	6,6	26,7	13,9
C16:1 n-7	0,1	3,8	1,4
C17:0	0,1	0,5	0,1
C17:1	–	0,5	0,1
C18:0	3,3	10,1	5,5
C18:1 n-9	25,1	38,2	28,4
C18:1 n-7	0,7	3,0	1,5
C18:2 n-6	62,8	11,0	46,3
C18:3 n-3	0,3	1,1	0,6
C20:0	0,4	0,3	0,2
C20:1	0,2	0,6	0,3
Σ S	10,7	41,1	20,8
Σ M	26,1	46,1	31,7
Σ P	63,1	12,1	46,9
S/P	0,2	3,4	0,4

Σ S – suma kwasów nasyconych, Σ M – suma kwasów jednonienasyconych,
Σ P – suma kwasów wielonienasyconych.

Skład kwasów tłuszczowych w fosfatydylocholinie osocza oraz tkanek wątroby, serca i nerek badanych zwierząt przedstawiono na ryc. 1–3. Rycina 1 przedstawia udziały kwasów tłuszczowych nasyconych: mirystynowego (C14:0), palmitynowego (C16:0) i stearynowego (C18:0), ryc. 2 – kwasów jednonienasyconych: palmitooleinowego (C16:1 n-7), oleinowego (C18:1 n-9) i wakcenenowego (C18:1 n-7), a ryc. 3 – wielonienasyconych: linolowego (C18:2 n-6) i arachidonowego (C20:4 n-6) oraz α -linolenowego (C18:3 n-3).

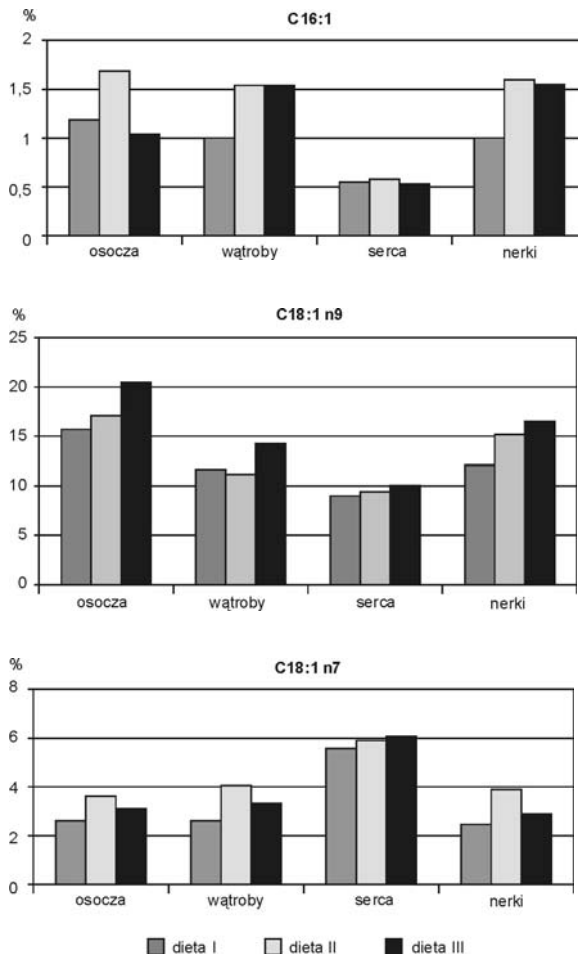
Wbudowanie do cząsteczek fosfolipidów nasyconych kwasów tłuszczowych powoduje zwiększenie sztywności błon komórkowych i zmniejsza ich przepuszczalność dla substancji odżywczych. W niniejszym doświadczeniu obserwowano wyższy o ok. 25% udział kwasu palmitynowego (C16:0) (ryc. 1) w puli kwasów tłuszczowych fosfatydylocholino nerek szczurów doświadczalnych, otrzymujących dietę II zawierającą smalec, w porównaniu do pozostałych grup zwierząt. W grupie szczurów karmionych

dieta III, w której źródłem tłuszczu była mieszanina oleju słonecznikowego i smalcu w stosunku 1:1, zawartość tego kwasu w fosfatydylocholinie osocza i tkanek badanych narządów była wypadkową jego udziału w fosfatydylocholinie pozostałych grup zwierząt. Stwierdzono również, że udział kwasu stearynowego (C18:0) (ryc. 1) w fosfatydylocholinie osocza, wątroby i serca szczurów karmionych dietą II, wynoszący odpowiednio 19,3%, 21,2% i 25% sumy wszystkich kwasów, był wyższy o ok. 12%, 7% i 10% w porównaniu do grupy szczurów, którym podawano dietę I z olejem słonecznikowym. Generalnie w fosfatydylocholinie zarówno lipidów osocza jak i tkanek badanych narządów obserwowano wysoki udział kwasów nasyconych w granicach 38–43% niezależnie od ich zawartości w tłuszczach diety.



Ryc. 1. Udział nasyconych kwasów tłuszczowych w fosfatydylocholinie osocza i narządów szczurów doświadczalnych (% sumy wszystkich kwasów).

Fig. 1. Saturated fatty acid contents in phosphatidylcholine extracted from rat plasma and organs (% total fatty acids).



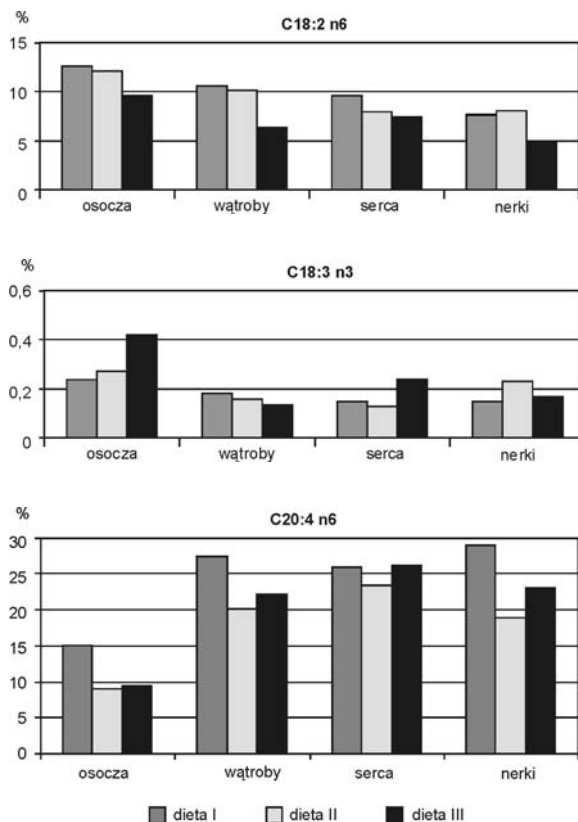
Ryc. 2. Udział jednonienasyconych kwasów tłuszczowych w fosfatydylocholinie osocza i narządów szczurów doświadczalnych (% sumy wszystkich kwasów).

Fig. 2. Unsaturated fatty acid contents in phosphatidylcholine extracted from rat plasma and organs (% total fatty acids).

W niniejszym doświadczeniu obserwowano ok. 1,5-krotnie wyższy udział kwasu wakceniowego (C18:1 n-7) (ryc. 2) w fosfatydylocholinie osocza, wątroby i nerek szczurów karmionych dietą II zawierającą smalec w porównaniu do grupy otrzymującej dietę I z olejem słonecznikowym. Jest to prawdopodobnie odzwierciedleniem ok. 4-krotnie wyższej zawartości tego kwasu w smalcu w porównaniu do oleju słonecznikowego. Najwyższą zawartością kwasu oleinowego (C18:1 n-9) (ryc. 2) charakteryzowała się fosfatydylocholina lipidów osocza i tkanek narządów zwierząt otrzymujących w diecie tłuszcz mieszany (dieta III).

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe z rodziny n-3, n-6 i n-9 stanowią substrat dla enzymów: Δ^5 - i Δ^6 -desaturazy, a ich przemiany zachodzą wyłącznie w obrębie tej samej rodziny (3). Przemiany nienasyconych kwasów tłuszczowych zależą w dużym stopniu od składu kwasów tłuszczowych pożywienia. Duża podaż w diecie kwasu linolowego (C18:2 n-6) zwiększa syntezę kwasu arachidonowego (C20:4 n-6), co prowadzi do zwiększonej syntezy pochodnych tego kwasu, takich jak: prostaglandyny PGE₂, PGG₂, i PGH₂ oraz leukotrienu LTB₄ o działaniu proagregacyjnym, prozapalnym, proarytmicznym i stymulującym rozwój komórek nowotworowych, a osłabia syntezę wielonienasyconych metaboli-

tów kwasu α -linolenowego z rodziny n-3. Wysoki udział kwasu arachidonowego w cząsteczkach fosfolipidów powodować może również zwiększenie płynności i przepuszczalności błon komórkowych dla substancji o działaniu nowotworowym (3).



Ryc. 3. Udział wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w fosfatydylocholinie osocza i narządów szczurów doświadczalnych (% sumy wszystkich kwasów).

Fig. 3. Polyunsaturated fatty acid contents in phosphatidylcholine extracted from rat plasma and organs (% total fatty acids).

Analiza składu kwasów tłuszczowych fosfatydylocholino osocza, wątroby i nerek szczurów doświadczalnych wykazała najwyższy udział kwasu arachidonowego (C20:4 n-6) (ryc. 3), wynoszący odpowiednio 14,9%, 26,9% i 28,2% w grupie zwierząt otrzymujących w diecie olej słonecznikowy w porównaniu do pozostałych grup szczurów. Podobną tendencję obserwowano w badaniach przeprowadzonych na zwierzętach (szczury, kurczaki), karmionych dietami z dodatkiem różnych tłuszczów o dużej zawartości kwasu linolenowego (C18:2 n-6), takich jak: olej słonecznikowy, kukurydziany, sojowy, krokoszowy lub lniany (7, 10, 11, 17, 18). W fosfolipidach osocza i tkanek narządów zwierząt karmionych dietami, w których źródłami tłuszczu były wymienione oleje stwierdzono istotnie wyższe udziały kwasu arachidonowego w porównaniu do grup zwierząt, którym podawano diety zawierające tłuszcze o niskiej zawartości kwasu linolenowego.

Analizując skład kwasów tłuszczowych w fosfatydylocholinie osocza i badanych narządów szczurów doświadczalnych stwierdzono pewne prawidłowości niezależnie od rodzaju tłuszczu w diecie. W fosfatydylocholinie osocza dominowały kwasy: palmitynowy (C16:0), stearynowy (C18:0) oraz oleinowy (C18:1 n-9) (ryc. 1–2). Udział kwasu arachidonowego (C20:4 n-6) w tej frakcji lipidów osocza był natomiast 2- lub 3-krotnie niższy w porównaniu do jego zawartości w fosfolipidach tkanek wątroby,

serca i nerek (ryc. 3). Fosfatydylocholina wątroby i serca charakteryzowała się wysokimi udziałami kwasów: palmitynowego (C16:0) i stearynowego (C18:0) (ryc. 1) oraz arachidonowego (C20:4 n-6) (ryc. 3). W nerkach obserwowano wysoką zawartość kwasów: palmitynowego (C16:0) i arachidonowego (C20:4 n-6) oraz stearynowego (C18:0) i oleinowego (C18:1 n-9) (ryc. 1–3).

WNIOSKI

1. Fosfatydylocholina lipidów osocza i tkanek wszystkich badanych narządów szczurów doświadczalnych charakteryzowała się wysokim udziałem kwasów nasyconych: stearynowego i palmitynowego, niezależnie od zawartości tych kwasów w tłuszczach diety.

2. Dieta zawierająca olej słonecznikowy, bogata w kwas linolowy powodowała zwiększenie udziału kwasu arachidonowego w fosfatydylocholinie lipidów osocza, nerek i wątroby zwierząt doświadczalnych.

3. Rodzaj tłuszczu w diecie wywierał istotny wpływ na profil kwasów tłuszczowych fosfatydylocholino, zarówno lipidów osocza jak i tkanek badanych narządów szczurów doświadczalnych.

M. Drzewicka, J. Biernat, H. Grajeta

THE EFFECT OF DIETARY FATS ON FATTY ACID COMPOSITION IN PHOSPHATIDYLCHOLINE OF RAT PLASMA AND ORGANS

Summary

The effect of dietary fat type on fatty acid composition in phospholipid phosphatidylcholine of blood plasma, liver, heart and kidney of experimental rats was investigated. During the experiment, 30 male Buffalo rats divided into 3 groups (10 animals in each group) were fed diets with various fat types for 6 weeks. The diets contained 8% fat and 0.5% cholesterol. The fat came from: sunflower oil, lard, or mixture (1:1) of these fats. At the end of experiment, the rats were anaesthetized, the blood from the heart was collected and livers, hearts and kidneys were removed. Blood plasma was separated by centrifuging and the tissues were homogenized. Lipids were extracted from plasma and tissues using the Folch method, and phosphatidylcholine was separated from them according to the Burdige method. The composition of fatty acids in phosphatidylcholine was determined by gas chromatography. The phosphatidylcholine of plasma lipids and all studied organs contained high levels of stearic and palmitic acids, irrespective of dietary fat type. The arachidonic acid level was highest in the liver, heart and kidney phosphatidylcholine of the rats fed diet containing sunflower oil. It was found that dietary fat type had a significant effect on phosphatidylcholine fatty acid composition, both in blood plasma and in organ tissues of the experimental animals.

PIŚMIENNICTWO

1. *Gertig H., Przystawski J.*: Rola tłuszczów w żywieniu człowieka. *Żyw. Człow. Metab.*, 1994; 21: 375-385. – 2. *Keller K.J.*: Podstawy fizjologii żywienia człowieka. Wyd. SGGW, Warszawa 2000: 339-358. – 3. *Gertig H., Przystawski J.*: Tłuszcze pokarmowe a biosynteza eikozanoidów. *Żyw. Człow. Metab.*, 1995; 32: 272-282. – 4. *Kozłowska- Wojciechowska M.*: Kwasy tłuszczowe, lipoproteiny a choroba niedokrwienna serca. *Czyn. Ryz.*, 1999; supl. 6: 117-119. – 5. *Kolanowski W., Świdorski F.*: Wielonienasycone kwasy tłuszczowe z grupy n-3 (n-3 PUFA). Korzystne działanie zdrowotne, zalecenia spożycia, wzbogacanie żywności. *Żyw. Człow. Metab.*, 1997; 24: 49-61. – 6. *Grajeta H., Biernat J.*: Wpływ białka sojowego i tłuszczów diety na działanie oleju z wiesiołka dziwnego u szczurów doświadczalnych. Cz. II. Kwasy tłuszczowe surowicy krwi i wątroby. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1995;

28: 61-65. – 7. Tokarz A., Leśniewska M., Barańska A.: Wpływ ogrzewanego oleju sojowego i rzepakowego na zawartość kwasów tłuszczowych w mikrosomach wątroby oraz surowicy krwi szczurów. Zbiór prac z III Sympozjum pt.: Olej z nasion wiesiołka i inne oleje zawierające kwasy n-6 i n-3 w profilaktyce i terapii. Sulejów 15 – 16 maja 1998; 109-115. – 8. Raatz S.K., Bibus D., Thomas W., Kris-Etherton P.: Total fat modifies plasma fatty acid composition in humans. J. Nutr., 2001; 131: 231-234. – 9. Kotkat H.M., Rady A.A., Nemcsok J.: Effect of dietary fish oil (active EPA-30) on liver phospholipids in young and aged rats. Comp. Biochem. Physiol. Part A, 1999; 122: 283-289. – 10. Yaqoob P., Sherrington E., Jeffery N.M., Sanderson P., Harvey D.J., Newsholme E.A., Calder P.C.: Comparison of the effects of a range of dietary lipids upon serum and tissue lipid composition in the rat. Int. J. Biochem. Cell Biol., 1995; 27: 297-310.

11. Bettger W.J., Blackadar C.B., McCorquodale M.L.: The effect of dietary type on the fatty acid composition of sphingomyelin in rat liver and heart. Nutr. Res., 1996; 16: 1761-1765. – 12. Drzewicka M., Biernat J., Grajeta H.: Wpływ rodzaju tłuszczu w diecie na skład kwasów tłuszczowych w tkankach wybranych narządów szczurów doświadczalnych. Bromat. Chem. Toksykol., 2003; 36 supl.: 291-296. – 13. Report of the American Institute of Nutrition ad hoc committee on standards for nutritional studies. J. Nutr., 1977; 107: 1440-1348. – 14. Folch J., Less M., Sloane G.H.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. J. Biol. Chem., 1957; 226: 497-509. – 15. Burdge G.C., Wright P., Jones A.E., Wootton S.A.: A method for separation of phosphatidylcholine, triacylglycerol, non-esterified fatty acid and cholesterol esters from plasma by solid-phase extraction. Brit. J. Nutr., 2000; 84: 781-787. – 16. Szymczak J.: Uproszczona metoda przygotowywania estrów metyloowych kwasów tłuszczowych z osocza krwi do chromatografii gazowej. Diagn. Lab., 1979; 15: 221-227. – 17. Luostarinen R.L., Laasonen K., Calder P.C.: α -Tocopherol concentrations, lipid peroxidation and superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in rat heart and liver after feeding stabilized and unstabilized fish oil. Nutr. Res., 2001; 21: 1529-1544. – 18. An B.K., Banno C., Xia Z.S., Tanaka K., Ohtani S.: Effects of dietary fat sources on lipid metabolism in growing chicks (*Gallus domesticus*). Comp. Biochem. Physiol., 1997; 116: 119-125.

Adres: 50-140 Wrocław, pl. Nankiera 1.

*Ewa Birkner, Ewa Grucka-Mamczar, Jolanta Zalejska-Fiolka,
Sławomir Kasperczyk, Beata Birkner*

WPLYW KOFEINY I FLUORKU SODU NA AKTYWNOŚĆ ENZYMÓW ANTYOKSYDACYJNYCH I STĘŻENIE MDA W ERYTROCYTACH I OSOCZU KRWI SZCZURÓW

Katedra i Zakład Biochemii Ogólnej w Zabrze
Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach
Kierownik: dr hab. n. med. *E. Birkner*

W pracy zbadano parametry stresu oksydacyjnego w erytrocytach i osoczu krwi szczurów. Z naszych badań wynika, że stres oksydacyjny był widoczny w erytrocytach szczurów (wzrost aktywności GPX i SOD). Peroksydacja lipidów w erytrocytach nasiliła się pod wpływem F^- a obniżyła się pod wpływem kofeiny. System oksydacyjny całego organizmu był sprawny. RFT było unieczynnione.

Hasła kluczowe: fluorek, kofeina, szczury, erytrocyty, osocze, CAT, SOD, GPX, peroksydacja lipidów.

Key words: fluoride, caffeine, rats, erythrocytes, plasma, CAT, SOD, GPX, lipidperoxidation (MDA).

Reaktywne formy tlenu (RFT) są wysoce aktywnymi cząstkami mającymi niesparowany elektron na zewnętrznej orbicie. RFT powstają w reakcjach wolnorodnikowych np. w wyniku redukcji tlenu cząsteczkowego, peroksydacji lipidów i wytwarzania rodników semichinonowych. W dużych ilościach rodniki są tworzone podczas wybuchu tlenowego zachodzącego w fagocytach w wyniku działania oksydazy NADPH znajdującej się w błonie komórkowej m.in. neutrofilów, makrofagów, monocytów czy eozynofilów (1, 2).

RFT mogą też być wytwarzane w wyniku działania m.in. oksydazy ksantynowej, cyklooksygenazy, lipooksygenazy i enzymów mitochondrialnych podczas fosforylacji oksydacyjnej (3, 4, 5).

Komórki wytworzyły szereg mechanizmów chroniących przed działaniem RFT. W obronie uczestniczą zarówno oksydanty nieenzymatyczne jak i enzymatyczne. Do oksydantów nieenzymatycznych zaliczamy ferrytynę, transferynę, ceruloplazminę, albuminę, glutation i witaminy E, A i C.

W skład enzymatycznego układu obronnego wchodzi: dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT) i peroksydaza glutationowa (GPX).

Celem pracy było zbadanie wpływu kofeiny oraz kofeiny łącznie z fluorkiem sodu na aktywność enzymów antyoksydacyjnych i stężenie MDA w erytrocytach i osoczu szczurów.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 18 szczurach (samcach) rasy Sprague-Dawley. Zwierzęta były 4,5-miesięczne i pochodziły z Centralnej Zwierzętarńi Doświadczalnej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach.

Do doświadczenia szczury podzielono na 3 grupy po 6 zwierząt. Pierwsza grupa szczurów otrzymywała do picia wodę zawierającą fluorek sodu w dawce 4,9 mg F⁻/kg m.c./dobę. Druga grupa zwierząt otrzymywała do picia roztwór fluorków z dodatkiem kofeiny (3 mg kofeiny/kg m.c./dobę i fluorku sodu w dawce jak wyżej). Grupa kontrolna piła wodę destylowaną. Doświadczenie prowadzono przez 50 dni. W czasie eksperymentu szczurom zachowano naturalny cykl dzień-noć. Zwierzęta miały swobodny dostęp do standardowej paszy.

Po upływie 50 dni szczury usypiano dootrzewnowo thiopentalem w dawce 30 mg/szczura. Do badań pobrano krew.

W erytrocytach oznaczono aktywność:

1. katalazy (CAT) [EC 1.11.1.6] metodą kinetyczną wg *Aebi* (6),
2. peroksydazy glutationowej (GPX) [EC 1.11.1.9] wg metody *Paglia* (7),
3. dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) [EC 1.15.1.1] wg metody *Oyanagui* (8).

W erytrocytach i osoczu oznaczono stężenie dialdehydu malonowego (MDA) wg metody *Ohkawy* i współpr. (9). Ponadto w osoczu oznaczono aktywność SOD metodą *Oyanagui* (8).

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej stosując test u *Manna-Whitney'a*.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wyniki zestawiono w tab. I, II i III.

Tabela I
Aktywność CAT, GPX i SOD w erytrocytach szczurów
Table I
Erythrocyte activity of CAT, GPX and SOD in rats

Grupa szczurów	Aktywność enzymu (U/mg Hb)									
	CAT			GPX			SOD			
	\bar{x}	SD	p	\bar{x}	SD	p	\bar{x}	SD	p	p w stosunku do grupy F ⁻
Kontrola	169,2	58,44	–	252,7	76,03	–	304,4	87,10	–	
Grupa F ⁻	150,2	47,02	0,423	272,0	72,18	1,000	327,2	113,47	0,873	
Grupa F ⁻ + kofeina	143,9	33,98	0,262	210,9	57,39	0,262	211,3	58,21	0,078	p = 0,037

Jak widać z tab. I aktywność CAT w erytrocytach pod wpływem F⁻ spadła o 11%, a pod wpływem F⁻ i kofeiny o 15% (wyniki nieznamiennie statystycznie). Natomiast aktywność GPX pod wpływem F⁻ wzrosła w stosunku do kontroli o 7% (wynik nieznamienny statystycznie), podobnie jak aktywność SOD w erytrocytach. Natomiast pod wpływem kofeiny aktywność GPX spadła o ok. 16% (wynik nieznamienny statystycznie), a aktywność SOD spadła o ok. 30% (wynik statystycznie znamieny w porównaniu z grupą F⁻).

Stężenie MDA w erytrocytach wzrosło o 28% w grupie F⁻ i spadło o ok. 8% w grupie F⁻ + kofeina (wyniki nieznamiennie statystycznie) (tab. II).

W osoczu stężenie MDA spadło w grupie F⁻ o 14%, a w grupie F⁻ + kofeina o 17% (wyniki nieznamiennie statystycznie). Natomiast aktywność SOD w osoczu nie uległa zmianie (tab. III).

Wszystkie enzymy antyoksydacyjne usuwające RFT z komórek współdziałają ze sobą. Najważniejszym enzymem jest SOD. Usuwa on O₂^{*} z komórki i hamuje oksydację kwasów tłuszczowych przez ^{*}OH. Katalaza i peroksydaza glutationowa usuwają z komórki H₂O₂. Katalaza jest enzymem żelazoporfirynowym zlokalizowanym głównie w peroksysomach i lizosomach większości komórek ssaków.

Peroksydaza glutationowa jest również metaloenzymem zawierającym niezbędny do jej aktywności selen (10). Z peroksydazą współdziała reduktaza glutationowa. Brak równowagi między wytwarzaniem

Tabela II
Stężenie MDA w erytrocytach i osoczu krwi szczurów

Table II
Erythrocytes and blood plasma concentration of MDA in rats

Grupa szczurów	Stężenie MDA					
	erytrocyty (nmol/g Hb)			osocze (μmol/dm ³)		
	\bar{x}	SD	p	\bar{x}	SD	p
Kontrola	474,1	132,9	–	4,48	0,85	–
Grupa F ⁻	607,7	214,0	0,262	3,86	0,55	0,109
Grupa F ⁻ + kofeina	438,1	117,2	0,423	3,73	0,63	0,109

Tabela III
Aktywność SOD w osoczu krwi szczurów

Table III
Blood plasma activity of SOD in rats

Grupa szczurów	Aktywność SOD (NU/100 cm ³)		
	\bar{x}	SD	p
Kontrola	24,96	0,95	–
Grupa F ⁻	25,01	1,08	0,936
Grupa F ⁻ + kofeina	25,92	1,56	0,337

RFT, a zdolnościami antyoksydacyjnymi organizmu określany jest jako stres oksydacyjny. Wydaje się, że pod wpływem F⁻ w organizmie szczura doszło do stresu oksydacyjnego obserwowanego głównie w erytrocytach. Świadczy o tym wzrost aktywności o ok. 7% obu enzymów antyoksydacyjnych (GPX i SOD) w grupie szczurów, która otrzymywała do picia F⁻ w dawce 4,9 mg F⁻/kg m.c./dobę. Kofeina okazała się w tym wypadku dobrym antyoksydantem, ponieważ spowodowała spadek aktywności obu enzymów (GPX o 16%) i (SOD – spadek aktywności o 30% wynik znamieny statystycznie w stosunku do grupy F⁻). Stwierdzono, że kofeina jako przeciwutleniacz skutecznie hamuje peroksydację lipidów indukowaną działaniem rodnika hydroksylowego •OH, rodników nadlętkowych ROO• i tlenu singletowego ¹O₂ (11). Enzymy antyoksydacyjne zachowują się różnie pod wpływem fluorków, jednak dominują doniesienia o hamującym wpływie fluorków na ich aktywność (12).

Spadek aktywności CAT pod wpływem F⁻ w erytrocytach badanych szczurów jest zgodny z wynikami uzyskanymi przez *Chinoy* i *Patel* (13), którzy podawali myszom przez 30 dni fluorek sodu w dawce 10 mg/kg m.c. i stwierdzili spadek aktywności CAT w tkance mózgowej tych zwierząt.

Zjawisko interakcji pomiędzy wolnymi rodnikami tlenowymi i składnikami lipidowymi błon biologicznych może być oceniane przez pomiary stężenia MDA. Nasilenie procesów peroksydacji lipidów w inkubatach frakcji mitochondrialnej komórek łożyska ludzkiego poddanych działaniu różnych roztworów fluorku sodu obserwowali *Chlubek* i współpr. (14). Najsilniejszy efekt properoksydacyjny autorzy zaobserwowali w inkubatach zawierających takie stężenia fluorków, jakie występują w osoczu ludzi nie narażonych na środowiskowe skażenie związkami fluoru.

Wyniki naszych badań wskazują, że peroksydacja lipidów w erytrocytach wzrasta pod wpływem F⁻. Świadczą o tym wyniki stężenia MDA w erytrocytach (wzrost o 28%), a kofeina znosi efekt peroksydacji i powoduje obniżenie stężenia MDA do wartości porównywalnych z grupą kontrolną. Podobne wyniki odnośnie zmniejszenia peroksydacji lipidów pod wpływem kofeiny otrzymali *Kamat* i współpr. (15), którzy stwierdzili wzrost peroksydacji lipidów w błonie mitochondriów wątroby szczura po oddziaływaniu na nie promieniowania gamma. Autorzy wykazali, że obecność kofeiny podczas napromieniowania hamuje znamienne peroksydację lipidów, a efekt ten jest najwyraźniejszy przy stężeniu kofeiny równym 4 mM.

Oznaczenia stężenia MDA w osoczu oraz badanie aktywności SOD w osoczu świadczą o równowadze między powstawaniem a unieczynnieniem RFT w całym organizmie. Ponadto wyniki uzyskane

z przeprowadzonego eksperymentu świadczą o tym, że system antyoksydacyjny całego organizmu szczura jest sprawny i chroni organizm przed skutkami toksycznego działania RFT.

WNIOSKI

1. Stres oksydacyjny jest widoczny w erytrocytach (wzrost aktywności GPX i SOD) a stan peroksydacji lipidów nasila się pod wpływem fluorków i stabilizuje pod wpływem kofeiny.

2. System antyoksydacyjny całego organizmu jest sprawny i unieczynnia RFT.

E. Birkner, E. Grucka-Mamczar, J. Zalejska-Fiolka,
S. Kasperczyk, B. Birkner

THE EFFECT OF CAFFEINE AND SODIUM FLUORIDE ON ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITY AND MDA CONCENTRATION IN ERYTHROCYTES AND BLOOD PLASMA OF RATS

Summary

Oxidative stress and lipid peroxidation in erythrocytes and blood plasma of rats were investigated in this study. Our findings indicate an increased activity of GPX and SOD in rat erythrocytes. Lipid peroxidation in erythrocytes increased in F-treated group of rats and decreased in caffeine-treated animals. The oxidative system of the whole organism was efficient. RFT was inactivated.

PIŚMIENNICTWO

1. *Kehrer J.P.*: Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit. Rev. Toxicol.*, 1993; 23: 21-48. – 2. *Thamnickal V.J., Fanburg B.L.*: Reactive oxygen species in cell signaling. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 2000; 279(50): 1005-1028. – 3. *Zhang H., Schmeiber A., Garlichs CH.D., Plötze K., Damme K., Mügge A., Daniel W.G.*: Angiotensin II induced superoxide anion generation in human vascular endothelial cells. *Cardiovasc. Res.*, 1999; 44: 215-222. – 4. *Taddei S., Virdis A., Ghiadoni L., Maganga A., Salvetti A.*: Cyclooxygenase inhibition restores nitric oxide activity in essential hypertension. *Hypertension*, 1997; 29: 2274-2279. – 5. *Iulianol L., Colavita A.R., Leo R., Practico D., Violi F.*: Oxygen free radicals and platelet activation. *Free Rad. Biol. Med.*, 1997; 22: 999-1006. – 6. *Aebi H.*: Catalase in vitro. *Methods Enzymol.*, 1984; 105: 121-126. – 7. *Paglia D., Valentine W.*: Studies on the quantities and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin.*, 1967; 70: 158-169. – 8. *Oyanagui Y.*: Revaluation of assay methods and establishment of kidfor superoxide dismutase activity. *Anal. Biochem.*, 1984; 142: 290-296. – 9. *Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K.*: Assay for peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, 1979; 95: 351-358. – 10. *Meister A.*: Glutathione metabolism and its selective modification. *J. Biol. Chem.*, 1988; 263: 17205-17208.

11. *Bartosz G.*: Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2003. – 12. *Chlubek D., Stachowska E., Bober J.*: Udział fluorków w reakcjach wolnorodnikowych i ich wpływ na aktywność enzymów antyoksydacyjnych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2001; 3: 263-266. – 13. *Chinoy N.J., Patel T.N.*: The influence of fluoride and/or aluminum on free radical toxicity in the brain of female mice and beneficial effect of some antidotes. *Fluoride*, 2000; 33: S8. – 14. *Chlubek D., Zawierta J., Kaźmierczyk A., Kramek J., Olszewska M., Stachowska E.*: Wpływ różnych stężeń jonów fluorkowych na powstawanie dialdehydu malonowego (MDA) we frakcji mitochondrialnej komórek łożyska ludzkiego. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1999; 32: 119-122. – 15. *Kamat J.P., Boloor K.K., Devasaḡayam T.P., Jayashree B., Kesavan P.C.*: Differential modification by caffeine of oxygen – dependent and independent effects of gamma – irradiation on rat liver mitochondria. *Int. J. Radiat. Biol.*, 2000; 76 (9): 1281-1288.

Agnieszka Kosińska, Magdalena Karamać

OGRANICZENIE ZASTOSOWANIA METODY KOLORYMETRYCZNEJ Z AlCl_3 DO OZNACZANIA FLAWONOIDÓW OGÓŁEM

Zakład Analizy Żywności, Oddział Nauki o Żywności
Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie
Kierownik: doc. dr hab. R. Amarowicz

Stosując metodę kolorymetryczną z AlCl_3 do oznaczania flawonoidów ogółem w pH zasadowym można oznaczyć jedynie niektóre związki z tej grupy. Maksimum absorpcji przy 510 nm stwierdzono dla kompleksów flawonoid- Al(III) w przypadku epikatechiny, galusanu epikatechiny, rutyny i hiperozydu. Reakcji barwnej nie uległa m.in. kwercetyna. Roztwór epikatechiny o stęż. $0,12 \text{ mg/cm}^3$ daje z AlCl_3 ponad trzykrotnie wyższą absorbancję niż roztwór galusanu epikatechiny, czterokrotnie wyższą niż roztwór hiperozydu i ponad pięciokrotnie wyższą w przypadku roztworu rutyny (o tych samych stężeniach).

Hasła kluczowe: flawonoidy, metoda spektrofotometryczna z AlCl_3 , catechiny, flawony, flawonole, flawanony.

Key words: flavonoids, spectrophotometric method with AlCl_3 , catechins, flavones, flavonols, flavanones.

Flawonoidy stanowią jedną z głównych grup związków fenolowych występujących w surowcach roślinnych oraz w żywności pochodzenia roślinnego. W diecie człowieka znaczenie flawonoidów wynika z ich wysokiej aktywności biologicznej (1, 2). W badaniach *in vitro* i *in vivo* oraz w badaniach epidemiologicznych wielokrotnie wykazywano właściwości przeciwutleniające, antymutagenne, antynowotworowe i antybakteryjne flawonoidów (3–9).

Analiza ekstraktów związków fenolowych uzyskanych z materiału roślinnego obok oznaczenia tzw. fenoli ogółem bardzo często obejmuje również parametr określany jako flawonoidy ogółem. Poprawne oznaczenie flawonoidów ogółem jest bardzo istotne – wielkość ta stanowi bowiem pierwszą informację o poziomie zawartości flawonoidów w ekstrakcie/surowcu, jest punktem wyjścia do pogłębionych analiz ilościowych i jakościowych z zastosowaniem metod chromatograficznych i spektroskopowych.

MATERIAŁ I METODY

Analizą objęto 15 flawonoidów należących do grupy: catechin (epikatechinę, epigalokatechinę, galusan epikatechiny, galusan epigalokatechiny), flawonów (chryzynę, apigeninę, luteolinę, bajkalinę, bajkaleinę), flawonoli (kwercetynę, kempferol, mirycetynę, rutynę, hiperozyd) i flawanonów (naryn-

geninę). Standardy flawonoidów zakupiono w firmach Sigma i Extrasynthese. Reakcję barwną wywoływano wg przepisu analitycznego podanego przez Lui i współpr. (10). Mieszano 0,25 cm³ metanolowego roztworu flawonoidu o stęż. 1 mg/cm³ z 1,25 cm³ wody destylowanej, a następnie z 0,075 cm³ 5% roztworu NaNO₂. Po 6 min. do mieszaniny dodawano 0,15 cm³ 10% roztworu AlCl₃ i pozostawiono na kolejne 5 min. Po tym czasie wywoływano barwę dodając 0,5 cm³ NaOH o stęż. 1 mol/dm³. Absorbancję mierzono bezpośrednio przy dł. fali 510 nm wobec próby odczynnikowej. Jednocześnie rejestrowano widma absorpcyjne produktów reakcji w zakresie 300–600 nm. W badaniach posługiwano się spektrofotometrem fotodiodowym Beckman DU 7500.

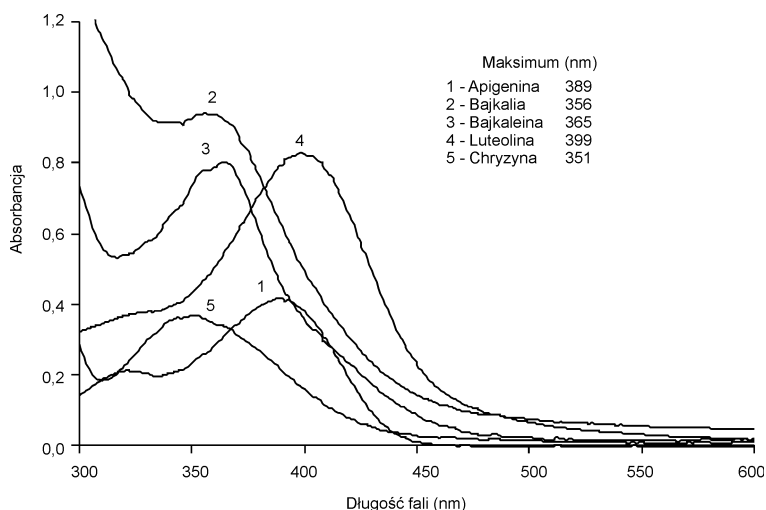
Dla epikatechiny, galusanu epikatechiny, rutyny, i hiperozydu wyznaczono krzywe zależności absorbancji od stężenia badanego flawonoidu. Zakresy stężeń roztworów, z których pobierano próbkę do analizy wynosiły 0–0,12 mg/cm³ w przypadku epikatechiny, oraz 0–0,42 mg/cm³ dla galusanu epikatechiny, rutyny i hiperozydu.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Analizowane związki poszczególnych klas różniły się liczbą i rozmieszczeniem grup –OH w pierścieniach A i B cząsteczki oraz obecnością połączonych wiązaniem glikozydowym reszt cukrowych (rutyna, hiperozyd, bajkalina) lub obecnością reszt kwasu galusowego (galusan epikatechiny i galusan epigalokatechiny).

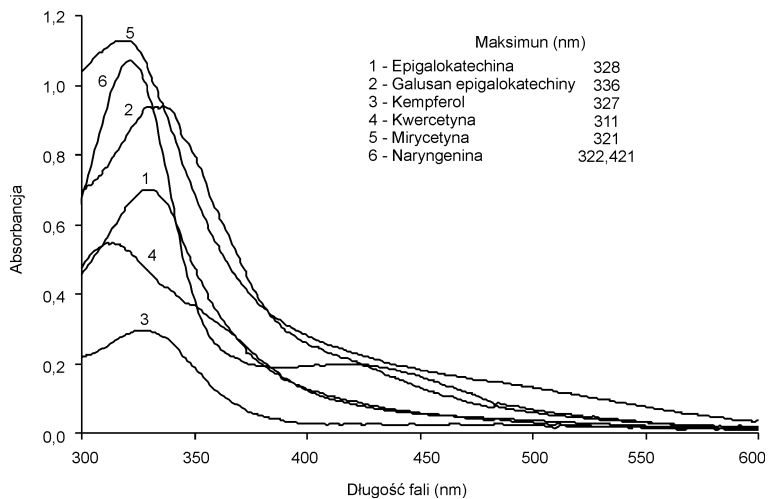
Widma absorpcyjne produktów reakcji AlCl₃ z flawonami przedstawiono na ryc. 1, z flawonolami, katechinami i flawanonem na ryc. 2 i 3. Dla wszystkich badanych związków stwierdzono istnienie pasma absorpcji w zakresie λ od 311 do 389 nm. Przy najkrótszej długości fali absorbowały kwercetyna – 311 nm, mirycetyna – 321 nm i naryngenina – 322 nm. Natomiast maksima absorpcji flawonów były przesunięte w stronę dłuższych fal i wynosiły od 351 nm (chryzyna) do 389 nm (apigenina). Także w widmach glikozydów kwercetyny: rutyny i hiperozydu zarejestrowano maksima przy wyższych wartościach λ , odpowiednio 354 i 351 nm. Maksima występujące w omawianym zakresie będąc charakterystycznymi danymi spektralnymi flawonoidów (11) nie są oczywiście wynikiem przeprowadzonej reakcji barwnej. Zgodnie z danymi piśmiennictwa produkty takiej reakcji powinny absorbować przy dł. fali 510 nm (10, 12, 13).

Wśród badanych związków jedynie epikatechina, galusan epikatechiny, rutyna i hiperozyd po wywołaniu reakcji z AlCl₃ w pH zasadowym zmieniły barwę na czerwoną. Dla tych związków maksima widm w obszarze widzialnym zarejestrowano odpowiednio przy 500, 500, 510 i 513 nm (ryc. 3).



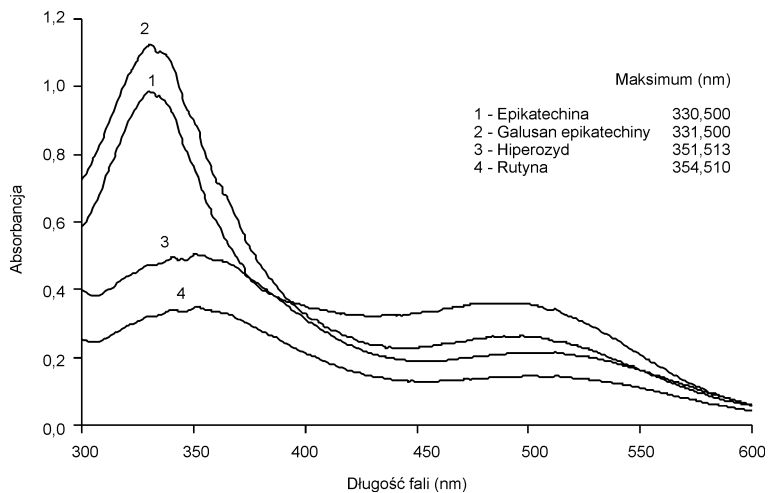
Ryc. 1. Widma absorpcyjne flawonów po reakcji z AlCl₃.

Fig. 1. UV-VIS spectra of flavones after reaction with AlCl₃.



Ryc. 2. Widma absorpcyjne apigeniny, bajkaliny, bajkaleiny, luteoliny i chryzyny po reakcji z $AlCl_3$.

Fig. 2. UV-VIS spectra of apigenin, baicalin, baicalein, luteolin and chryzin after reaction with $AlCl_3$.



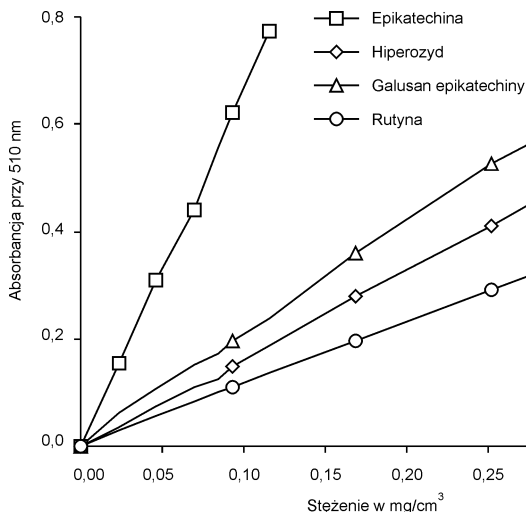
Ryc. 3. Widma absorpcyjne epikatechiny, galusanu epikatechiny, hiperozydu i rutyny po reakcji z $AlCl_3$.

Fig. 3. UV-VIS spectra of epicatechin, epicatechin gallate, hyperoside and rutin after reaction with $AlCl_3$.

Pozostałe analizowane flawonoidy: epigalokatechina, galusan epigalokatechiny, chryzyna, apigenina, luteolina, bajkalina, bajkaleina, kwercetyna, kempferol, mirycetyna, i naryngenina po reakcji z $AlCl_3$ nie absorbowały światła przy 510 nm (ryc. 1 i 2) i nie zostałyby wliczone do puli flawonoidów, gdyby do ich oznaczania posłużono się omawianą metodą, uznawaną w literaturze, jako metoda wyznaczania całkowitej zawartości flawonoidów (10, 12, 13). Należy zwrócić uwagę, że przy dł. fali 510 nm nie

stwierdzono obecności kompleksu flawonoid-Al(III) dla kwercetyny, flawonoidu najczęściej występującego w żywności, chociaż jej glikozydy: rutyna i hiperozyd reagowały z $AlCl_3$. Także kolejne pod względem ilości spożycia, kempferol, mirycetyna, luteolina i apigenina (14) nie barwiły się na czerwono po przeprowadzeniu reakcji.

Chcąc oznaczyć ilość flawonoidów przeprowadzając reakcję z $AlCl_3$ należałoby wiedzieć, jakie główne związki tej grupy wchodzi w skład materiału badawczego i czy dają one pozytywną reakcję. Dobór warunków reakcji także wydaje się być bardzo istotny. Zaporozhets i współpr. (15) stwierdzili, że kompleks flawonoidów z zielonej herbaty z Al(III) wykazuje maksimum absorpcji przy 407 nm, gdy reakcję przeprowadza się w kwaśnym pH.



Ryc. 4. Zależność absorbancji od stężenia dla produktów reakcji flawonoidów z $AlCl_3$.

Fig. 4. Correlation between concentration in sample and absorbance after colour reaction developing for epicatechin, epicatechin gallate, rutin and hyperoside.

Dla związków tworzących kompleksy flawonoid-Al(III) o maksimum absorpcji 510 nm (epikatechiny, galusanu epikatechiny, rutyny i hiperozydu) sporządzono krzywe zależności absorbancji od stężenia badanej substancji (ryc. 4). Epikatechina okazała się najbardziej reaktywna. Stężeniu 0,12 mg/cm³ odpowiadała absorbancja 0,795. Przy takim stężeniu galusanu epikatechiny, hiperozydu i rutyny zanotowano absorbancje odpowiednio: 0,247, 0,194, 0,141. Tak zróżnicowana reaktywność flawonoidów z $AlCl_3$ powoduje trudności w doborze standardu. Wyniki przeliczone na epikatechinę będą znacznie niższe niż po ich przeliczeniu na galusan epikatechiny, hiperozyd lub rutynę.

WNIOSKI

Stosowana przez wielu autorów kolorymetryczna metoda oznaczania całkowitej ilości flawonoidów z odczynnikiem $AlCl_3$ w pH zasadowym jest bardzo wybiórcza i pozwala oznaczyć jedynie niektóre związki tej grupy, m. in. epikatechinę, galusan epikatechiny, rutynę i hiperozyd. Do związków, które nie tworzą produktów o maksimum absorpcji przy 510 nm należą: epigalokatechina, galusan epigalokatechiny, chryzyna, apigenina, luteolina, bajkalina, bajkaleina, kwercetyna, kempferol, mirycetyna i naryngenina.

Przyjmując epikatechinę jako wzorzec przy oznaczaniu flawonoidów ogółem z $AlCl_3$ otrzymujemy trzykrotnie niższe wyniki niż przy zastosowaniu galusanu

katechiny, czterokrotnie niższe, gdy jako wzorzec używany jest hiperozyd i ponad pięciokrotnie niższe w przeliczeniu na rutynę.

A. Kosińska, M. Karamać

LIMITATION OF USING THE COLORIMETRIC METHOD WITH $AlCl_3$
FOR DETERMINATION OF TOTAL FLAVONOID CONTENT

Summary

The colorimetric method for determination of the total flavonoid content with $AlCl_3$ at basic pH enables to estimate only some of compounds belonging to this class. Epicatechin, epicatechin gallate, rutin and hyperoside were the only flavonoids able to produce complexes with $AlCl_3$ giving maximum absorption at 510 nm. The absorbance of the solution of epicatechin at 0.12 mg/cm^3 is three times higher than that of epicatechin gallate, four times higher than that of hyperoside and five times higher than that of rutin at the same concentration.

PIŚMIENNICTWO

1. *Middleton E.J., Kandaswami C., Theoharides T.C.*: The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmaceutical Rev.*, 2000; 52: 673-751.
- 2. *Havsteen B.H.*: The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharm. Therapeutics*, 2002; 96: 67-202.
- 3. *Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G.*: Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad. Biol. Med.*, 1996; 20: 933-956.
- 4. *Arts I.C., Hollman P.C.*: Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2005; 81: 317S-325S.
- 5. *Yang C.S.*: Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2005; 85: 284S-291S.
- 6. *Ohigashi H., Murakami A.*: Cancer prevention with food factors: alone and in combination. *Biofactors*, 2004; 22: 49-55.
- 7. *Cowan M.M.*: Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microb. Rev.*, 1999; 12: 564-582.
- 8. *Amarowicz R., Shahidi F.*: Antioxidant activity of green tea catechins in a β -carotene-linoleate model system. *J. Food Lipids*, 1995; 2: 47-56.
- 9. *Amarowicz R., Pegg R.B., Bautista D.A.*: Antibacterial activity of green tea polyphenols against *Escherichia coli* K12. *Nahrung*, 2000; 44: 60-62.
- 10. *Liu M., Li X.Q., Weber C., Lee C.Y., Bron J., Liu R.H.*: Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. *J. Agric. Food Chem.*, 2002; 50: 2926-2930.
11. *Mabry T.J., Markham K.R., Thomas M.B.*: The systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag, New York-Heidelberg-Berlin, 1970; 1: 57-164.
- 12. *Dewanto V., Wu X., Adom K.K., Liu R.H.*: Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*, 2002; 50: 3010-3014.
- 13. *Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W.*: The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.*, 1999; 64: 555-559.
- 14. *Cook N.C., Samman S.*: Flavonoids – Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Nutritional Biochemistry*, 1996; 7: 66-76.
- 15. *Zaporozhets O.A., Krushynska O.A., Lipkowska N.A., Barvinchenko V.N.*: A new test method for the evaluation of total antioxidant activity of herbal products. *J. Agric. Food Chem.*, 2004; 52: 21-25.

Adres: 10-747 Olsztyn, ul. Tuwima 10.

Marianna Stefańczyk, Łukasz Stefańczyk¹⁾, Anna Wędzisz

CUKRZYCA, JAKO CHOROBA CYWILIZACYJNA

Zakład Bromatologii Katedry Toksykologii i Bromatologii
Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Kierownik: prof. dr hab. A. Wędzisz

¹⁾ III Szpital Miejski im. dr K. Jonschera w Łodzi
Dyrektor: dr n. med. I. Czernielewska-Rutkowska

Hasła kluczowe: cukrzyca, dieta w leczeniu cukrzycy.
Key words: diabetes, diet in diabetes treatment.

Cukrzyca jest chorobą, na którą zapada obecnie ok. 120 mln ludzi. Przewiduje się, że zachorowalność w ciągu najbliższych lat wzrośnie o 20%, dlatego stanowi to poważny problem zdrowotny. Jako główne przyczyny tej choroby wymienia się: wiek, nadwagę, brak aktywności fizycznej oraz złe nawyki żywieniowe. Współczesne społeczeństwo w wyniku tzw. cywilizacji przemysłowej wytworzyło styl życia polegający na spożywaniu gotowych, wysokoenergetycznych produktów oraz ograniczenia codziennego zużywania energii (1). Prowadzi to, do dodatniego bilansu energetycznego ze wszystkimi jego następstwami, jak: otyłość, zaburzenia gospodarki lipidowej i cukrzyca oraz nadciśnienie tętnicze. Dlatego też, konieczna jest ciągła edukacja zdrowotna oraz konkretne programy profilaktyczne pozwalające na wczesne monitorowanie gospodarki lipidowej czy glikemii. Cukrzyca jest chorobą układową, odznaczającą się występowaniem hiperglikemii, hiperlipidemii i hiperaminoacydemii. Jest chorobą długotrwałą, która wskutek wieloletniego przebiegu może doprowadzić do licznych zaburzeń narządowych, szczególnie wątroby (2). Jest ponadto chorobą o charakterze kompleksowym i odznacza się nieprawidłowym zużyciem substratu energetycznego, zwiększonym wytwarzaniem glukozy przez wątrobę i równocześnie ograniczonym jej pobieraniem przez inne narządy. Występuje wtedy nadmierne gromadzenie glikogenu w wątrobie, a towarzyszy temu zwykle zwiększona kumulacja lipidów w hepatocytach oraz ich nieprawidłowy metabolizm. Może to prowadzić do stłuszczenia i marskości wątroby oraz do zmian czynnościowych pęcherzyka żółciowego i dróg żółciowych (3).

Cukrzyca typu 1 – insulinozależna (Insulin Dependent Diabetes Mellitus – IDDM) jest spowodowana autoimmunizacyjnym niszczeniem komórek β trzustki wydzielających insulinę. Długotrwały, wysoki niedobór insuliny, prowadzi do intensywnego uwalniania tłuszczów z tkanki tłuszczowej, dochodzi do wzrostu ich stężenia we krwi oraz do wzmożonego wnikania do komórek wątrobowych – hepatocytów (4). Stanowią one ponadto źródło do biosyntezy ciał ketonowych, które gromadzą się we krwi dając objawy zatrucia organizmu (kwasica ketonowa).

W cukrzycy typu 2 – nieinsulinozależnej (Noninsulin Dependent Diabetes Mellitus – NIDDM) pierwotną przyczyną stłuszczenia wątroby jest: nadmierna liczba substratów energetycznych – kwasów tłuszczowych pochodzących bądź z pokarmu, bądź z procesów syntezy w organizmie. Tłuszcze ulegają estryfikacji, przechodzą do krwi w formie lipoprotein o małej gęstości (VLDL). Stan taki, wynika głównie z otyłości i nadmiaru węglowodanów oraz tłuszczów w diecie. Do najpoważniejszych następstw spowodowanych przez cukrzycę należą: zaburzony metabolizm węglowodanów prowadzący do otyłości, zmiany w metabolizmie lipidów, które często są przyczyną wystąpienia cukrzycowej kamicy żółciowej. Dostarczane do organizmu tłuszcze, używane są do syntezy cholesterolu, który jest jednym z elementów budowy błon komórkowych oraz substratem w biosyntezie hormonów.

Nadmiar cukru we krwi (hiperglikemia) nasila produkcję tłuszczów, a proces stłuszczenia wątroby jest znacznie przyspieszony. Obejmuje on cały narząd, rozpoczyna się od pojedynczych komórek

hepatocytów, które wypełniają się kroplami tłuszczu. Niekiedy, zmiany te mają charakter ograniczony i dotyczą tylko fragmentu wątroby. Komórki w procesie stłuszczenia ulegają martwicy, może dojść do ich pęknięcia, a tłuszcz „wlewa się” pomiędzy ocalałe hepatocyty i tworzy drobne torbiele tworzące następnie zwłóknienie komórek.

W cukrzycy dochodzi do wtórnych zaburzeń gospodarki lipidowej (4, 5). Najczęstszymi dyslipidemiami w przebiegu cukrzycy są hypertriglicerynemii, obniżone stężenie cholesterolu HDL oraz zmiany w obrębie lipoprotein osocza. Dlatego też, u chorych na cukrzycę dochodzi również do zaburzenia układu krążenia, zmian miażdżycowych i kardiologicznych (tab. I).

Tabela I
Wskazania do konsultacji kardiologicznej chorych na cukrzycę
Table I
Indications for cardiologic consultation in diabetes patients

Objawy kliniczne choroby wieńcowej (w tym nietypowe);
Cechy niedokrwienia lub zawału w EKG spoczynkowym
Zwężenie tętnicy szyjnej lub tętnic obwodowych;
Wiek > 35 r.ż., zmiana aktywności fizycznej;
Dwa spośród czynników ryzyka:
Cholesterol całkowity \geq 240 mg% i cholesterol frakcji LDL \geq 160 mg% lub cholesterol frakcji HDL < 35 mg%
Ciśnienie tętnicze > 140/90 mm Hg
Palenie tytoniu
Dodatni wywiad rodzinny
Mikroalbuminuria

Leczenie insuliną prowadzi do wyrównania przemiany materii w organizmie u chorych na cukrzycę (6). Wymaga to, adaptacji dawek insuliny w zależności od tych samych czynników, które w organizmie zdrowym mają wpływ na pracę komórek β trzustki. Takim głównym czynnikiem, który reguluje wydzielanie insuliny jest m.in. glukoza, której poziom ściśle wiąże się z dietą oraz wysiłkiem fizycznym. Warunkiem właściwej terapii insulinowej i uzyskanie normoglikemii jest: korelacja, między składem ilościowym i jakościowym diety, a dawkami stosowanych preparatów insulinowych. Brak insuliny w organizmie prowadzi do uszkodzenia naczyń krwionośnych, komórek nerwowych, kostnych i mięśniowych (7). Dlatego też w leczeniu cukrzycy stosuje się insuliny ludzkie, bądź ich analogi lub preparaty insulinowe otrzymane za pomocą inżynierii genetycznej (8).

Przed rozpoczęciem leczenia należy: zastosować dietę, która warunkuje prawidłowe funkcjonowanie trzustki, dążyć do redukcji masy ciała oraz zalecić intensywną aktywność fizyczną. W farmakoterapii dobór bowiem leków uwarunkowany jest typem dyslipidemii, wpływem leków na gospodarkę węglowodanową oraz możliwością interakcji z lekami hipoglikemizującymi (9).

Z najnowszych badań wynika, że tkanka tłuszczowa obok magazynowania zapasów energetycznych może pełnić również swoistą funkcję regulatorową (10). W przebiegu otyłości występującej często w cukrzycy, dochodzi do zaburzeń endokrynnych tkanki tłuszczowej. Poprzez liczne substancje, które są wydzielane w jej obrębie, określane mianem adipokin lub adipocytokin, tkanka tłuszczowa może oddziaływać na wiele metabolicznych procesów w organizmie. Uwalniane do krwi z tkanki tłuszczowej przy udziale specyficznych receptorów działają, jak hormony miejscowe i regulują wrażliwość organizmu na insulinę. Większość tych związków może być celem w leczeniu cukrzycy i towarzyszącej jej otyłości.

Do grupy adipokin należą między innymi: adiponektyna (11, 12, 13, 14, 15), leptyna (16, 17), adypsyna (18), rezystyna (19). Dotychczas, do grupy adipokin zaliczono ponad 50 substancji, które są specyficznie wydzielane przez komórki tkanki tłuszczowej, śródbłonek naczyń czy płytki krwi (10). Należą do nich również: interleukiny (IL-6, IL-8), czynnik martwicy nowotworów (TNF- α), transformujący czynnik wzrostu (TGF- β), czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF), białka uczestniczące w procesach hemostazy (inhibitor aktywatora plazminogenu 1, PAI-1) i regulacji ciśnienia tętniczego krwi (angiotensynogen). Czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF) jest uznawany, jako marker do rozpoznawania wczesnych zmian w cukrzycy typu 1 (23). W otyłości i cukrzycy dochodzi często do zaburzeń funkcji endokrynnego tkanki tłuszczowej, co powoduje zmianę stężenia tych białek w organizmie. Angiotensyna i insulina są czynnikami, które indukują ekspresję genu kodującego PAI (20).

W cukrzycy wzrasta ponadto stężenie fibrynogenu, aktywność czynników krzepnięcia VII, VIII, czynnika von Willebranda oraz następuje obniżenie stężenia białek C i S spełniających rolę inhibitora w procesie hemostazy (21, 22) oraz aktywność antytrombiny III. Istnieje bowiem ścisły związek pomiędzy stężeniem białek krzepnięcia, a schorzeniami wątroby i cukrzycą.

Paradoksalnie zwiększona zawartość tkanki tłuszczowej w organizmie nie oznacza zwiększenia wydzielania wszystkich adipokina. Stężenie ich zmienia się w różnych schorzeniach, w tym również i w cukrzycy. Poziom adiponektyny koreluje z insulinemią, a stężenie jej jest znacznie obniżone w cukrzycy typu 2; obok otyłości występuje zwykle choroba niedokrwienna serca. Zwiększonym stężeniem rezystyny towarzyszy natomiast insulinooporność, co sprawia, że podwyższone jej stężenia są związane z charakterystycznym dla tego stanu zaburzeniami lipidowymi. Do takich zmian zaliczyć należy: niskie stężenie lipoprotein o wysokiej gęstości – HDL i wysokie stężenie triglicerydów. Potwierdzono również, że stężenia rezystyny korelują ze stężeniami substancji stanowiących markery utajonego procesu zapalnego mającego znaczenie w patogenezie miażdżycy, często towarzyszącej zmianom cukrzycowym (11).

Leptyna, jest białkiem wydzielanym przez adipocyty, w niewielkich ilościach przez komórki żołądka, mózgu i wątroby, a jej ilość w organizmie skorelowana jest z występowaniem chorób krążenia oraz nadwagą spowodowaną również cukrzycą (24). Jest bardzo często określana mianem hormonu sytości. W warunkach fizjologicznych, hamuje apetyt i przyswajanie produktów energetycznych, a także zwiększa wydatkowanie energii. Podwyższone stężenie leptyny, stwierdzono u chorych z ostrymi incydentami sercowymi przy zaburzeniach w gospodarce lipidowej oraz przy zwiększonej masie ciała.

Duże znaczenie w leczeniu cukrzycy, szczególnie insulinozależnej odgrywa również nowo poznana grupa białek HSP (białka szoku termicznego – heat shock proteins) (25). Burdon (25) wykazał, że zidentyfikowanie u ludzi białek HSP 60 pozostaje w ścisłej zależności z występowaniem cukrzycy insulinozależnej i może przyczynić się do wielokierunkowego sposobu leczenia tej choroby.

Tabela II

Procent pokrycia normy na poziomie bezpiecznym dla kobiet (26–60 lat) o umiarkowanej aktywności fizycznej na wybrane witaminy i składniki mineralne przez niektóre modele diety NPPCh dla chorych na cukrzycę i przez rację pokarmową kobiet wg Pol-MONICA (zawierającą 1700 kcal)

Table II

Percentage of cover the norm on the safety level for certain vitamins and minerals shown by some diet models NPCh for diabetes patients and by food ration for women (according to Pol-MONICA) that contains 1700 kcal.

Table concerns 26–60 year old women with medium physical activity

Oznaczany parametr	% pokrycia normy bezpiecznej dla kobiet przez			
	PRP ok. 1500 kcal	dietę ok. 1700 kcal	dietę ok. 2020 kcal	rację pok. wg Pol-Monica ok. 1700 kcal
Potas	119	132	158	62
Wapń	105	106	120	55
Magnez	122	137	153	b.d.
Żelazo	87	95	115	80
Cynk	107	116	129	b.d.
Miedź	71	80	101	b.d.
Wit. A ^{*)}	417	417	462	111*
Wit. E	224	229	302	68
Wit. B ₁ *	77	86	98	59*
Wit. B ₂ *	104	109	125	69*
Wit. PP*	76	84	93	b.d.
Wit. B ₆	133	151	177	b.d.
Wit. C*	238	249	375	83*

*) Po redukcji na straty technologiczne

1) witamina A (ekwiwalent retinolu) = retinol + β -karoten; b.d. = brak danych.

Podstawową zasadą leczenia chorych na cukrzycę jest dieta, a w niej zminimalizowanie czynników wywołujących stłuszczenie wątroby oraz normalizacja glikemii (26, 27). Dlatego też, ważnym punktem terapii, jest dieta z ograniczeniem produktów wysokoenergetycznych, zaprzestanie picia alkoholu, ograniczenie używania leków hepatotoksycznych oraz stosowanie diety wysokopektynowej (28, 29, 30), rybnej (31), wysokobiałkowej (32, 33, 34). Poleca się również, dodawanie do diet witamin z grupy B oraz spożywanie białek pochodzenia zwierzęcego zawierających cholinę i metioninę, które utrudniają transport lipoprotein VLDL z komórek wątroby – hepatocytów lub składników mineralnych, do których należą sód, potas, wapń i magnez (33).

Zgodnie z rekomendacjami, w diecie chorych na cukrzycę białka powinny być źródłem 10–20% energii (ograniczenia podaży białka zaleca się w odniesieniu do chorych z cechami nefropatii cukrzycowej i narastającymi wskaźnikami niewydolności nerek), tłuszcze <30% w tym: nienasycone kwasy tłuszczowe <10%, a węglowodany 50–60%. Zaleca się ograniczenie spożywania cukrów prostych (jedno- i dwucukrów), kosztem zwiększenia udziału węglowodanów złożonych. Rekomendacje te, zostały „przełożone” na porcje produktów z poszczególnych grup żywieniowych: produkty zbożowe, warzywa, owoce, mleko i produkty mleczne, mięso i jego zamienniki, tłuszcze przeznaczone do spożycia w ciągu dnia (34). Proponowany system określa zasady wyboru liczby porcji z poszczególnych grup w zależności od zalecanej przez lekarza kaloryczności diety. Wybieranie porcji wg tego systemu zapewnia prawidłowe proporcje składników odżywczych w diecie bez konieczności ich liczenia (tab. II).

W ostatnich latach, obserwować można znaczny postęp w leczeniu cukrzycy i towarzyszącej często chorobie wieńcowej. Przybywa ciągle wieloośrodkowych randomizowanych badań potwierdzających skuteczność stosowanych leków takich, jak β -blokery czy statyny. Jednakże *Benjamin* i *Smith* (35) uważają, że istnieją trzy stopnie profilaktyki tych chorób:

- Prewencja podstawowa:
 - aktywność fizyczna,
 - zdrowe odżywianie,
 - prawidłowa masa ciała.
- Prewencja pierwotna:
 - badanie poziomu lipidów,
 - leczenie nadciśnienia,
 - zaprzestanie palenia,
 - leczenie cukrzycy.
- Prewencja wtórna:
 - leki.

Problem diety, uważany jest za najbardziej istotny. Zastosowana dla chorych dieta śródziemnomorska, zawierająca zmniejszoną zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych, spowodowała obniżenie stężenia frakcji LDL-cholesterolu we krwi (36, 37). Duża zawartość flawonoidów, tokoferoli i karotenoidów, które zabezpieczają frakcję LDL przed utlenieniem, wykazują korzystny wpływ tej diety na częstość występowania zakrzepów i związanych z nimi powikłań.

Tabela III
Składniki diety zmniejszające lub zwiększające ryzyko występowania chorób

Table III
Diet ingredients lowering or heighting risk of disease appearance

Parametr	Zmniejszające ryzyko	Zwiększające ryzyko
Bezsporne	<ul style="list-style-type: none"> – owoce i warzywa, – ryby i oleje rybne, – kwas linolowy, – potas, – aktywność fizyczna, – małe dawki alkoholu. 	<ul style="list-style-type: none"> – kwasy tłuszczowe o konfiguracji trans, – wysoka podaż sodu, – otyłość, – nadużywanie alkoholu.
Prawdopodobne	<ul style="list-style-type: none"> – kwas α-linolenowy, – błonnik, – sterole. 	<ul style="list-style-type: none"> – cholesterol pokarmowy, – kawa po turecku, – suplementacja β-karotenem.
Możliwe	<ul style="list-style-type: none"> – soja 	<ul style="list-style-type: none"> – tłuszcze bogate w kwas laurylowy.

W raporcie WHO wykazano, bezsporny efekt diety (choroby dietozależne) w leczeniu cukrzycy i chorób układu krążenia (38). Mogą to być składniki diety zmniejszające lub zwiększające ryzyko występowania chorób, uważane jako bezpieczne, prawdopodobne lub możliwe (tab. III).

Istniejący związek między wskaźnikiem masy ciała (BMI), a ryzykiem zachorowania na cukrzycę i choroby wieńcowe, wymaga stosowania odpowiedniej diety oraz zmiany dotychczasowego stylu życia. Otyłości towarzyszą zwykle zaburzenia ciśnienia tętniczego i przyspieszony proces zmian miażdżycowych. Zmiany w lipidogramie chorych z cukrzycą dotyczą wzrostu stężenia triglicerydów i frakcji VLDL oraz obniżonych wartości HDL. Leczenie, prowadzi się w kierunku obniżenia poziomu LDL cholesterolu poniżej 100 mg/dl, triglicerydów < 150 mg/dl oraz frakcji HDL cholesterolu > 45 mg/dl. Właściwe nawyki żywieniowe oraz czynniki tzw. zdrowego stylu życia mają istotny, korzystny wpływ na pozbycie się nadwagi i otyłości (39). Przy otyłości istnieje realne zagrożenie wytwarzania zakrzepów, zwiększa się zwykle stężenie fibrynogenu, wzrasta aktywność czynnika VII oraz inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI) często spowodowane nawykami palenia.

Niekorzystne zmiany w lipidogramie chorych na cukrzycę wynikają głównie z niewłaściwej proporcji w spożywaniu kwasów tłuszczowych (KT) nasyconych, jednonienasyconych i wielonienasyconych – PUFA (polyunsaturated fatty acids), ze szczególnym uwzględnieniem PUFA z grup n-3 i n-6 (40, 41). Odkrycie wpływu n-3 PUFA na rolę w diecie w chorobach krążeniowych i cukrzycy, pozwala zaliczyć je do tzw. żywności funkcjonalnej wykazującej duże prozdrowotne właściwości (42). Wpływ PUFA na metabolizm ludzkiego organizmu zależy od liczby wiązań nienasyconych oraz izomerii tych związków typu cis – trans. PUFA są ważnym składnikiem fosfolipidów, błon komórkowych i organelli wewnątrzkomórkowych wpływając na ich strukturę i przepuszczalność. W połączeniu z białkami tworzą lipoproteiny osoczowe pośredniczące w transporcie lipidów. Działanie PUFA związane jest w dużym stopniu ze wzrostem aktywności eikozanoidów syntetyzowanych z kwasu arachidonowego (AA) i kwasu eikozapentaenowego (EPA) (43). Są one prekursorami do syntezy prostaglandyn (PG), prostacyklin (PGI), tromboksanów (TX), lipooksyn (LX) czy leukotrienów (LT).



Synteza eikozanoidów:

AA – kwas arachidonowy, EPA – kwas eikozapentaenowy, TXA – tromboksany,
 LT – leukotrieny, LX – lipoksyny, PG-prostaglandyny, PGI – prostacykliny.

Kwasy te, redukują stężenie triglicerydów w osoczu krwi, normalizują ciśnienie krwi poprzez zwiększenie poziomu prostacyklin oraz zmianę resorpcji zwrotnej sodu (44). W wyniku hamowania tworzenia substancji silnie protrombotycznych: tromboksanu, interleukiny 1 (IL-1), nie powodują agregacji płytek krwi i zwiększają aktywność tkankowego aktywatora plazminogenu (TPA) (45). Odwrotna zależność między wartościami BMI (Body Mass Index), a poziomem n-3 PUFA w fosfolipidach błon komórkowych jest związane z hamującym wpływem tych związków na lipogenezę (46, 47).

Stąd, zgodnie ze stanowiskiem opublikowanym w 2002 r. przez American Diabetes Association, leczenie żywieniowe (leczenie dietetyczne, terapia żywieniowa) jest nieodłącznym elementem programu opieki i edukacji chorych na cukrzycę. Zalecenia dotyczące chorych na cukrzycę i towarzyszące jej powikłania są przedmiotem licznych badań, które wskazują na złożoność zagadnienia i konieczność współpracy dietetyków i klinicystów.

M. Stefańczyk, Ł. Stefańczyk, A. Wędzisz

DIABETERS AS A DISEASE OF OUR CIVILISATION

PIŚMIENNICTWO

1. *Kara I.*: Zaburzenia lipidowe, otyłość i cukrzyca wśród 40-letnich mieszkańców Poznania i województwa poznańskiego z nadciśnieniem tętniczym (TN) i chorobą niedokrwienną serca (CHNS) a zachowania niesprzyjające zdrowiu. *Przegl. Lek.* 2005; 62: Supl.3, 51-54. – 2. *Foster D.W.*: From glycogen to ketons – and back. *Diabetes* 2003; 33: 1188-1199. – 3. *Naskalski J.*: Problems of uncertainty in evaluation of glycemia – a compromise between the available analytical performance and clinical requirements. *Exper. Clin. Diabetol.* 2003; 3.:207-215. – 4. *Strojek K., Kucyzsyn Z., Dąbrowski K.*: Zawał serca a leczenie hipoglikemizujące chorych na cukrzycę typu 2. *Diabetol. Dośw. Klin.* 2003; 3(1): 109-113. – 5. *Wojakowski W., Telega A., Gumiński J.*: Leczenie zaburzeń lipidowych w cukrzycy. *Diabetol. Pol.* 1998; 5(1): 80-88. – 6. *Bartnik A.*: Dieta w cukrzycy insulinozależnej w intensywniej insulinoterapii. *Post. Nauk Med.* 2000; 5(4): 190-192. – 7. *Jabłoński E., Cypryk K.*: Leczenie dietetyczne chorych na cukrzycę przy współistnieniu innych schorzeń lub dolegliwości. *Diabetol. Pol.* 2004; 11(1): 67-71. – 8. *Ruxer J., Pińkowski D., Możdżan M., Saryusz-Wolska M., Markuszewski L., Loba J.*: Satisfaction with intensive insulin treatment in poorly controlled diabetes patient treated in hospital. *Exper.Clin. Diabetol.* 2004; 4: 457-461. – 9. *Davidson M.B.*: Rational use of sulfonylureas. *Med. Dypl.* 1993; 2(1): 18-19. – 10. *Kopff B., Jegier A.*: Adipokiny: adiponektyna, leptyna, rezystyna a ryzyko choroby niedokrwiennej serca. *Przegl. Lek.* 2005; 62(3): 69-72.

11. *Karbowska J., Brzeziński M., Kochan Z.*: Rola adiponektyny – białka wydzielanego przez tkankę tłuszczową w zapobieganiu miażdżycy. *Post. Hig.Med.Dośw.* 2003; 57(5): 579-591. – 12. *Simońska E., Gumprecht J., Skubala A., Zychman M., Grzeszczak W.*: Adiponektyna w cukrzycy typu 2. *Diabetol. Dośw. Klin.* 2004; 4: 249-254. – 13. *Diez J., Iglesias P., Fernandez-Reyes M.*: Serum concentrations of leptin, adiponectin and resistin and their relationship with cardiovascular disease in patients with end-stage renal disease. *Clin. End.* 2005; 62: 242-244. – 14. *Dunajska K., Milewicz A., Jędrzejuk D.*: Plasma adiponectin concentration in relation to severity of coronary atherosclerosis and cardiovascular risk factors in middle-aged men. *Endocrine* 2004; 25: 215-217. – 15. *Higashiura K., Ura N., Ohata J.*: Correlations of adiponectin, obesity, and cardiovascular disease. *Biochimie* 2004; 86.:779-781. – 16. *Soderberg S., Ahren B., Jansson J.H.*: Leptin is associated with increased risk of myocardial infarction. *J. Intern. Med.* 1999; 246: 409-411. – 17. *Weigle D.S., Breen P.A., Matthys C.C., Collahan H.S., Meews K.E., Burden V.R., Purnell J.Q.*: A high-protein diet induces sustained reductions in appetite ad libitum caloric intake, and body weigh despite compensatory changes in diurnal plasma leptin and concentrations. *Am. J. Clin. Nutr.* 2005; 82: 41-48. – 18. *Kazumi T., Kawaguchi A., Hirano T., Yoshino G.*: Serum adiponectin is associated with high – density lipoprotein cholesterol, triglycerides, and low-density lipoprotein particle size in young healthy men. *Metabolism.* 2004; 53: 589-592. – 19. *Reilly M., Lehrke M., Wolfe M.*: Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans. *Circulation* 2005; 111: 932-938. – 20. *Alessi M.Ch., Bastelica D., Marange P., Berthet B.*: Plasminogen activator 1, transforming growth factor β and BMI are closely associated in human adipose tissue during morbid obesity. *Diabetes* 2000; 49 (8): 1374-1380.

21. *Fronczyk A., Majkowska L.*: Białko C-reaktywne w cukrzycy. *Diabet. Dośw. Klin.* 2000; 4: 255-260. – 22. *Jagosz J., Górczyńska-Kosiorz S., Birker E., Strojek K.*: Białko S u chorych na cukrzycę. *Diabetologia* 2000; 4: 427-431. – 23. *Schram M.T., Chaturvedi N., Schalkwijk C., Giorgino F., Ebeling P., Fuller H.J., Stehouwer C.D.*: Vascular risk factors and markers of endothelial function as determinants of inflammatory markers in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26: 2165-2173. – 24. *Tamer L., Erkan B., Unlu A.*: The relationship between leptin and lipids in atherosclerosis. *Indian Heart J.* 2002; 54: 692-698. – 25. *Burdon R.H.*: HSP in relation to medicine. *Mol.Aspects Med.* 1993; 14(2): 83-165. – 26. *Bauer-Kosińska B.*: Leczenie dietetyczne w cukrzycy. *Mag. Med.* 1994; 5(12): 11-12. – 27. *Jabłoński E., Kaźmierczak U., Cypryk K.*: Leczenie dietetyczne chorych na cukrzycę przy współistnieniu innych schorzeń lub dolegliwości. *Diabetol. Pol.* 2004; 10(1): 67-71. – 28. *Iwanicka Z., Wąsikowska R., Biernat J., Szymczak J.*: Wpływ diety wysokobłonnikowej na glikemię dobową u dzieci chorych na cukrzycę insulinozależną. *Pediat. Pol.* 1990; 9(10): 64-69. – 29. *Kłosiwicz-Latoszek L.*: Rola błonnika pokarmowego i witamin antyoksydacyjnych w dietetycznym zapobieganiu i leczeniu cukrzycy i miażdżycy. *Diabetol. Pol.* 1996; (3): 34-40. – 30. *Chandalia M., Garg A., Lutjohann D.*: Beneficial effects of

high dietary fiber intake in patients with type II diabetes mellitus. *New Engl. J. Med.* 2000, 342, 1392-1398.

31. *Boukourt F.O., Girard A., Prost J., Ait-Yahia D., Bovhenak M., Bellevile J.*: Fish protein improves the total antioxidant status of streptozotocin-induced diabetes in spontaneously hypertensive rat. *Med. Sci. Monit.* 2004; 10(11): 397-404. – 32. *Bernas M.*: Intensyfikacja nefarmakopealnego leczenia cukrzycy typu 2 do celów prewencji miażdżycy. *Med. Metab.* 2004; 8(2): 61-67. – 33. *Heleniak G., Jabłoński E., Cypryk K.*: Leczenie dietetyczne chorych na cukrzycę przy współistnieniu innych schorzeń i dolegliwości (2). *Diabetol. Pol.*, 2004; 11(1): 50-57. – 34. *Cichocka A.*: Żywność w cukrzycy typu 2. Prosta metoda informacji dla pacjenta. *Żywność, żywienie, prawo a zdrowie.* 2001; 2: 186-188. – 35. *Benjamin E.J., Smith S.C.*: Task Force – Magnitude of the prevention problem: opportunities and challenges. *JACC*, 2002; 40(4): 579-651. – 36. *Meade T.W., Imeson J., Stirling Y.*: Effects of changes in smoking and other characteristics on clotting factors and the risk of ischemic heart disease. *Lancet* 1987; 2: 986. – 37. *Lall V.W.Y., Journoud M., Jones P.J.H.*: Plant sterols are efficacious in lowering plasma LDL and non-HDL cholesterol in hypercholesterolemic type 2 diabetic and nondiabetic persons. *Am. J. Clin. Nutr.* 2005; 81: 1351-1358. – 38. WHO, diet, nutrition and prevention of chronic diseases, raport of a WHO Study Group. Technical Raport Series 797, WHO Geneva, 1990; 54-61. – 39. American Diabetes Association. Standarts medical care for patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2002; 25 (1): 33– 49. – 40. *Gurr M.J.*: *Fats w: Human Nutrition and Diabetics*, red.: Carrow J.S., Churchill Livingstone, Edinburg, 1993.

41. *Leathwood P.*: For a better nutrition in the 21st century. Ravan Press, New York, 1993. – 42. *Blum M.*: Designing foods for better health. *Food Ingredients*, 1996; 3: 25-29. – 43. *Bjerve K.S., Brubak A.M.*: Omega – 3 fatty acids – essential fatty acids with important biological effects and serum phospholipids fatty acids as markers of dietary omega 3-fatty acids intake. *Am. J. Clin. Nutr.* 1993; 5: 801-808. – 44. *Ziemiński S., Panczenko-Kresowska B., Okolska G.*: Effects of dietary fats on experimental hypertension. *Ann. Nutr. Metab.* 1985; 29: 223-299. – 45. *Allman M.A.*: Supplementation with flaxseed oil versus sunflowerseed oil in healthy young men consuming a low fat diet: effects on platelet composition and function. *Europ. J. Clin. Nutr.* 1995; 3: 252-254. – 46. *Nettleton J.A.*: *Omega 3 fatty acids in health.* Chapman & Hall, New York, 1995. – 47. *Nichols P.D.*: *Marine oil products in Australia.* INFORM, 1994; 3: 254.

Adres: 90-151 Łódź, ul. Muszyńskiego 1.

REGULAMIN OGŁASZANIA PRAC

1. Kwartalnik Bromatologia i Chemia Toksykologiczna zamieszcza nie publikowane prace oryginalne i poglądowe, listy do redakcji, notatki laboratoryjne, oceny podręczników i monografie naukowych, streszczenia z piśmiennictwa zagranicznego oraz sprawozdania ze zjazdów naukowych związanych z naukami reprezentowanymi w tytule.

2. Prace nadesłane do redakcji powinny być napisane na maszynie z interlinią (31 wierszy na stronie), jednostronnie z marginesem 4 cm z lewej strony arkusza. Prace powinny być nadesłane w 3 egzemplarzach opatrzonych podpisem autora z podaniem placówki naukowej. Łącznie z maszynopisem autor powinien przesłać zgodę pisemną kierownika placówki oraz oświadczenie, że praca nie została złożona do druku w innej redakcji. Objętość prac oryginalnych łącznie z wykazem piśmiennictwa, tabelami, rycinami i streszczeniami nie powinna przekraczać 9 stron maszynopisu, objętość prac poglądowych – 12 stron, innych – 2 strony maszynopisu. Pierwsza strona maszynopisu powinna zaczynać się na 2/3 wysokości (1/3 str. od góry należy zostawić wolną).

3. W maszynopisie obowiązuje następująca kolejność tekstu: pełne imię i nazwisko autora, tytuł pracy, nazwa katedry (zakładu), pierwsza litera imienia i nazwiska kierownika zakładu; krótkie streszczenie w języku artykułu tzw. „jaskółka”, hasła kluczowe (4-6) w j. polskim i angielskim; układ prac powinien w zasadzie składać się z czterech części: 1) krótkiego wstępu, 2) części doświadczalnej, 3) wyników, 4) wniosków.

4. Do pracy powinno być dołączone na oddzielnych arkuszach streszczenie w języku polskim oraz jego tłumaczenie na język angielski (po 3 egz.). Układ streszczenia powinien być następujący: pierwsza litera imienia i nazwisko autora, tytuł pracy, streszczenie, treść.

5. Wykaz piśmiennictwa powinien być napisany na oddzielnej stronie, ułożony chronologicznie z tekstem pracy i zblokowany po 10 pozycji. Każda pozycja piśmiennictwa powinna zawierać: liczbę porządkową, nazwisko(a) autora(ów) z inicjałami imion, dwukropek, tytuł cytowanego artykułu, przecinek, nazwę czasopisma w skrócie stosowanym w piśmiennictwie, przecinek, rok wydania, średnik, tom, ew. numer zeszytu w nawiasie – gdy nie ma ciągłości numeracji stron w tomie – dwukropek, pierwszą i ostatnią stronę artykułu, kropka, kreska. W przypadku cytowania pozycji książkowych należy podać: liczbę porządkową, nazwisko(a) z inicjałami imion autora(ów), tytuł opracowania (książki), nazwisko(a) z inicjałami wydawcy (edytora), nazwę i miejsce wydawnictwa, rok wydania, średnik, tom, dwukropek, pierwszą i ostatnią stronę artykułu bądź rozdziału, kropka, kreska. W wykazie piśmiennictwa nie należy umieszczać pozycji referatowych, a jedynie doniesienia oryginalne, z których autor istotnie korzystał w toku wydrukowanej pracy. Liczba cytowanych pozycji nie może przekraczać w oryginalnej pracy naukowej 30, w publikacjach poglądowych 40, w doniesieniach 12.

6. W maszynopisie listu do redakcji obowiązuje kolejność tekstu: tytuł, treść doniesienia, imię i nazwisko autora, nazwa i adres placówki naukowej. Listy do redakcji mogą być nadsyłane w języku angielskim.

7. W maszynopisie notatki laboratoryjnej obowiązują zasady ustalone w p. 2, 3 i 5 niniejszego regulaminu z tym, że nie należy umieszczać tzw. „jaskółki”.

8. Ryciny, wzory, itp. dołączone oddzielnie do prac, listów do redakcji i notatek laboratoryjnych powinny być wykonane starannie, czarnym tuszem, na oddzielnych kartkach kalki technicznej lub na odbitce na błyszczącym papierze fotograficznym w wymiarze przyszłej reprodukcji. Każda rycina itp. powinna być na odwrocie zaopatrzona w kolejny numer, oznaczenie: góra-dół, nazwisko autora i tytuł pracy. W maszynopisie musi być zaznaczone miejsce, gdzie rycina itp. ma się znajdować. Poza tym należy załączyć na oddzielnym arkuszu treść podpisów do poszczególnych rycin. Ryciny należy oznaczyć liczbami arabskimi, a tabele – rzymskimi. Każda tabela powinna być napisana maszynowo na oddzielnej kartce. Do maszynopisu należy dołączyć (na oddzielnej kartce) przetłumaczone na język angielski podpisy pod ryciny i nagłówki tabel.

9. Za prace ogłaszane w kwartalniku Autor nie otrzymuje honorarium, natomiast otrzyma odbitki. Fakt nadesłania tekstów jest równoznaczny z wyrażeniem zgody Autora (Autorów) na nieodpłatne przeniesienie na rzecz Wydawcy całości majątkowych praw autorskich przysługujących zgodnie z postanowieniami obowiązującego Prawa Autorskiego.

10. Rękopisy nadesłane niezgodnie z wymogami regulaminu będą odsyłane autorom.

11. Korektę podczas druku wykonuje redakcja na podstawie maszynopisu pracy zakwalifikowanej do druku w układzie uwzględniającym uwagi recenzenta i opracowanie redakcji, zaakceptowanym przez autorów.

12. Prace będą drukowane równomiernie w obydwu działach w kolejności ich napływu do redakcji. Jeśli praca była referowana na posiedzeniach naukowych Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, co powinno być poświadczane przez przewodniczącego Zarządu Sekcji, należy to zaznaczyć odnośnikiem na dole pierwszej strony maszynopisu; prace te, jak również prace będące podstawą przyznawania stopni naukowych będą miały pierwszeństwo druku.

BROMATOLOGIA I CHEMIA TOKSYKOLOGICZNA

Czasopismo poświęcone zagadnieniom badań ochrony
zdrowia i środowiska

TOM XXXIX

2006

Nr 1

TREŚĆ

E. Stasiuk, P. Przybyłowski: The impact of the modified method of using KNO_3 on the formation of volatile <i>N</i> -nitrosamines in gouda cheese	1
M. Grembecka, E. Malinowska, W. Moufakkir, P. Szefer: Zawartość pierwiastków chemicznych w kawach mielonych i rozpuszczalnych z uwzględnieniem oceny stopnia ich ługowania do naparu	7
E. Malinowska, M. Grembecka, K. Żabko, P. Szefer: Ocena zawartości wybranych biopierwiastków w herbatkach ziołowych i mieszankach herbat z dodatkami roślinnymi ..	15
B. Kot, E. Bobrowska-Grzesik: Zawartość niektórych mikroelementów w ziarnie słonecznika i dyni	25
M. Grembecka, I. Zdrojewska, A. Kusiuk, E. Hendożko, E. Malinowska, P. Szefer: Zawartość magnezu, cynku, żelaza i fosforu w różnych gatunkach kasz ogólnie dostępnych w sprzedaży	31
Z. Rzedzicki, L. Kondzielska: Charakterystyka składu chemicznego wybranych nisko przetworzonych zbóż śniadaniowych ze szczególnym uwzględnieniem frakcji błonnika pokarmowego	39
A. Wojtasik, H. Kunachowicz, W. Kłys: Występowanie alergenów w produktach żywnościowych ze szczególnym uwzględnieniem białek roślinnych	49
A. Białek, A. Tokarz: Nutrigenomika – nowe spojrzenie na rolę diety w żywieniu podstawowym i leczniczym. Cz. I.	57
A. Białek, A. Tokarz: Technika mikromacierzy DNA w badaniach ekspresji genów. Cz. II.	65
J. Suliburska, G. Duda: Stan odżywienia i aktywność fizyczna osób dorosłych a występowanie pierwotnego nadciśnienia tętniczego	71
M. Drzewicka, J. Biernat, H. Grajeta: Wpływ rodzaju tłuszczu w diecie na skład kwasów tłuszczowych w fosfatydylocholinie lipidów osocza i wybranych narządów szczerów doświadczalnych	77
E. Birkner, E. Grucka-Mamczar, J. Zalejska-Fiolka, S. Kasperczyk, B. Birkner: Wpływ kofeiny i fluorku sodu na aktywność enzymów antyoksydacyjnych i stężenie MDA w erytrocytach i osoczu krwi szczerów	85
A. Kosińska, M. Karamać: Ograniczenie zastosowania metody kolorymetrycznej z AlCl_3 do oznaczania flawonoidów ogółem	89
M. Stefańczyk, Ł. Stefańczyk, A. Wędzisz: Cukrzyca jako choroba cywilizacyjna	95

CONTENS

E. Stasiuk, P. Przybyłowski: Wpływ zmodyfikowanego sposobu stosowania KNO_3 na możliwość tworzenia się lotnych <i>N</i> -nitrozoamin w serach gouda	1
M. Grembecka, E. Malinowska, W. Moufakkir, P. Szefer: The content of chemical elements in ground and soluble coffee and the evaluation of minerals leaching into infusions	7
E. Malinowska, M. Grembecka, K. Żabko, P. Szefer: Concentrations of selected bioelements in herbal tea grades and mixtures of tea with plant additives	15
B. Kot, E. Bobrowska-Grzesik: Determination of microelements in sunflower and pumpkin seeds	25
M. Grembecka, I. Zdrojewska, A. Kusiuk, E. Hendożko, E. Malinowska, P. Szefer: Content of magnesium, zinc, iron and phosphorus in different groats obtained from the local market	31
Z. Rzedzicki, L. Kondzielska: Characteristics of chemical composition of selected hot breakfast cereals, and fractional composition of dietary fibre in particular	39
A. Wojtasik, H. Kunachowicz, W. Kłys: Allergens found in food products, with particular reference to Plant proteins	49
A. Białek, A. Tokarz: Nutrigenomics - a new look at the role of the diet in the standard nutrition and sitotherapy. Part I.	57
A. Białek, A. Tokarz: DNA microarray technique in gene expression studies. Part II. ...	65
J. Sulibutrska, G. Duda: Nutritional status and physical activity of adults and essential hypertension	71
M. Drzewicka, J. Biernat, H. Grajeta: The effect of dietary fats on fatty acid composition in phosphatidylcholine of rat plasma and organs	77
E. Birkner, E. Grucka-Mamczar, J. Zalejska-Fiolka, S. Kasperczyk, B. Birkner: The effect of caffeine and sodium fluoride on antioxidant enzyme activity and MDA concentration in erythrocytes and blood plasma of rats	85
A. Kosińska, M. Karamać: Limitation of using the colorimetric method with $AlCl_3$ for determination of total flavonoid content	89
M. Stefańczyk, Ł. Stefańczyk, A. Wędzisz: Diabeters as a disease of our civilisation	95