

*Joanna Suliburska, Grażyna Duda<sup>1)</sup>*

## ŻYWIENIOWE CZYNNIKI RYZYKA ROZWOJU PIERWOTNEGO NADCIŚNIENIA TĘTNICZEGO

Katedra Higieny Żywienia Człowieka Akademii Rolniczej w Poznaniu  
Kierownik: prof. dr hab. *J. Gawęcki*

<sup>1)</sup> Katedra i Zakład Bromatologii Akademii Medycznej w Poznaniu  
Kierownik: prof. AM dr hab. *J. Przysławski*

Hasła kluczowe: żywienie, pierwotne nadciśnienie tętnicze.

Key words: nutrition, primary hypertension.

Choroby układu krążenia (cardiovascular disease CVD) są jedną z najczęstszych przyczyn zachorowań i zgonów w krajach rozwiniętych. Nadciśnienie tętnicze (NT) uznawane jest za jeden z kilku głównych czynników ryzyka rozwoju tej grupy chorób. Wśród osób z nadciśnieniem tętniczym zdecydowaną większość (80–90%) stanowią chorzy z pierwotnym, samoistnym nadciśnieniem tętniczym, którego patogeneza nie została jednoznacznie wyjaśniona. W związku z tym, że przyczyny wywołujące NT nadal nie są w pełni wyjaśnione oraz w obliczu wysokiej liczby zachorowań, istnieje pilna potrzeba poszukiwania nowych i weryfikacja znanych już czynników ryzyka rozwoju pierwotnego nadciśnienia tętniczego.

Spośród wielu znanych czynników ryzyka rozwoju pierwotnego nadciśnienia tętniczego na szczególną uwagę zasługują czynniki żywieniowe, do których zaliczyć można: nadmierną wartość energetyczną posiłków, nieprawidłową podaż podstawowych składników pokarmowych, związków o działaniu antyoksydacyjnym i składników mineralnych.

### Wartość energetyczna posiłków

W przypadku osób z nadciśnieniem tętniczym, wartość energetyczna spożywanych całodziennych racji pokarmowych (crp) nie powinna przekraczać ich zapotrzebowania, które uwzględnia: wiek, płeć i aktywność fizyczną. Długotrwałe spożywanie racji pokarmowych o nadmiernej wartości energetycznej prowadzi do powstania nadwagi i otyłości. Otyłość uznaje się z kolei za jeden z niezależnych czynników sprzyjających rozwojowi chorób metabolicznych, w tym nadciśnienia tętniczego. Potwierdziły to liczne badania, w których u osób z nadwagą i otyłością wykazano częste występowanie nadciśnienia tętniczego. Dodatnia korelacja pomiędzy otyłością i ciśnieniem tętniczym może występować już we wczesnym okresie życia i zwiększa się wyraźnie u osób dorosłych (1). 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 (2).

Uważa się, że ogniwami łączącymi otyłość z nadciśnieniem tętniczym może być insulinooporność i/lub wysokie stężenie leptyny wykazujące znaczący efekt presyjny związany z aktywacją układu współczulnego (3).

### Białka

W zaleceniach dotyczących białka spożywanego przez osoby z NT uwzględnić należy jego skład, biorąc pod uwagę fakt, że w chorobach sercowo-naczyniowych szczególną rolę odgrywają dwa aminokwasy: arginina i metionina.

*Arginina* stanowi substrat niezbędny do wytwarzania w śródbłonku naczyń krwionośnych tlenku azotu (NO) – czynnika wpływającego regulująco na ciśnienie krwi. Obniżony poziom argininy w organizmie może powodować spadek stężenia tlenku azotu i w konsekwencji wzrost ciśnienia krwi. Wyniki ostatnio przeprowadzonych badań wykazały, że przyjmowanie suplementów argininy powodowało spadek ciśnienia tętniczego, zwiększając równocześnie wrażliwość na insulinę, u osób i zwierząt z nadciśnieniem tętniczym i/lub cukrzycą (4). Wykazano jednocześnie, że aminokwas ten pochodzący z białek roślinnych jest w większym stopniu przyswajalny przez organizm człowieka aniżeli z produktów pochodzenia zwierzęcego (5).

*Metionina* w organizmie człowieka jest prekursorem homocysteiny odgrywającej istotną rolę w etiopatogenezie miażdżycy. Nadmiar tego aminokwasu, przy jednoczesnym niedoborze witamin B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, kwasu foliowego oraz choliney nasila rozwój zmian miażdżycowych w obrębie ściany naczyniowej. Białkami bogatymi w metioninę są białka zwierzęce, a wśród nich za najbardziej aterogenne białko uważana jest kazeina (6). Jak donoszą *Dinavahi* i *Falkner*, istnieją badania wskazujące na istotny związek pomiędzy zwiększonym poziomem homocysteiny we krwi, a występowaniem nadciśnienia tętniczego (7).

#### Węglowodany

Z przeprowadzonych badań wynika, że dieta z wysoką zawartością cukrów złożonych i błonnika wywiera działanie hipotensyjne (8, 9). Uważa się, że błonnik rozpuszczalny w wodzie posiada bardziej istotny wpływ na obniżenie ciśnienia tętniczego aniżeli błonnik nierozpuszczalny. Fizjologiczne, korzystne działanie błonnika rozpuszczalnego na organizm wiąże się przede wszystkim z jego zdolnością do obniżania stężenia cholesterolu i glukozy we krwi. Wpływ tej frakcji błonnika na metabolizm glukozy i insuliny może mieć bezpośredni związek z obserwowanym spadkiem ciśnienia tętniczego oraz redukcją masy ciała osób spożywających ten składnik pokarmowy. Właściwości takich nie posiada błonnik nierozpuszczalny w wodzie. Uważa się jednak, że spożywanie tego rodzaju błonnika związane jest z obniżeniem ryzyka chorób sercowo-naczyniowych i cukrzycy (9).

Składnikami diety, których podaż należy szczególnie ograniczyć są cukry proste (głównie sacharoza). W badaniach epidemiologicznych wykazano, że nadmiar sacharozy w diecie zwiększa ryzyko rozwoju chorób serca, cukrzycy i otyłości, powodując wzrost stężenia triglicerydów we krwi, spadek cholesterolu frakcji HDL oraz obniżenie wrażliwości komórek na insulinę (10).

#### Tłuszcze

Spożycie tłuszczów i cholesterolu, odgrywa znaczącą rolę w rozwoju chorób sercowo-naczyniowych, szczególnie z uwagi na ich wpływ na gospodarkę lipidową ustroju. Zgodnie z ogólnymi zaleceniami żywieniowymi oraz zawartymi w Siódmym Raporcie JNC, w przypadku osób z nadciśnieniem tętniczym, należy ograniczyć do 30% udział energii pochodzącej z tłuszczu w ogólnej wartości energetycznej pożywienia, w tym do 10% udział energii z nasyconych kwasów tłuszczowych (NKT), a spożycie cholesterolu do 300 mg (11). Według *Szczeklik-Kumali* i współpr. u osób ze zwiększonym ryzykiem miażdżycy, do których zalicza się również pacjentów z NT, dobowe spożycie cholesterolu, w indywidualnych przypadkach, nie powinno przekraczać nawet 200 mg (12). Wspomniani Autorzy podają, że optymalny stosunek kwasów tłuszczowych nasyconych, jednonienasyconych (JNK) i wielonienasyconych (WKT) w całodziennej racji pokarmowej dostarczającej 30% energii z tłuszczów, powinien kształtować się odpowiednio jak 8:13:9.

Niekorzystne działanie na organizm nadmiaru nasyconych kwasów tłuszczowych w diecie związane jest głównie z ich wpływem na wzrost stężenia cholesterolu całkowitego we krwi, a szczególnie jego aterogenicznej frakcji LDL. Generalnie, negatywne działanie na ustrój nasyconych kwasów tłuszczowych wynika także z ich wpływu na wzrost krzepliwości krwi, poprzez aktywację płytek krwi i podwyższenie poziomu fibrynogenu. Uważa się, że nienasycone kwasy tłuszczowe występujące w formie trans wywierają bardziej szkodliwy wpływ na zdrowie aniżeli kwasy nasycone. Wiąże się to z ich wpływem na podwyższanie we krwi stężenia cholesterolu frakcji LDL i obniżenie poziomu cholesterolu HDL (12).

Coraz więcej doniesień potwierdza hipotensyjny efekt wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny  $\omega$ -3, pochodzących z ryb morskich (13). Z badań, przeprowadzonych głównie na zwierzętach z nadciśnieniem tętniczym wynika, że zwiększony udział w diecie niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych, szczególnie kwasu  $\gamma$ -linolenowego (C<sub>18:3</sub>), eikozapentaenowego (C<sub>20:5</sub>) i dokozaheksaenowego (C<sub>22:6</sub>), powoduje spadek ciśnienia krwi i wzrost potencjału antyoksydacyjnego organizmu (14).

Wielonienasycone kwasy tłuszczowe, ze względu na swoją strukturę chemiczną, łatwo ulegają jednak utlenieniu, a produkty ich oksydacji mogą wykazywać szkodliwe działanie na organizm człowieka. *Soringuer* i wsp. stwierdzili, że wzrost spożycia produktów utleniania i polimeryzacji tłuszczów, powstałych m. in. pod wpływem smażenia oleju, koreluje wyraźnie ze wzrostem ryzyka zachorowania na nadciśnienie tętnicze (15).

#### Związki o działaniu antyoksydacyjnym

Z badań analizujących związek pomiędzy zwyczajami żywieniowymi, a występowaniem nadciśnienia tętniczego wynika, że dieta z dużą zawartością owoców i warzyw znacząco redukuje ciśnienie tętnicze u osób z umiarkowanym nadciśnieniem tętniczym (16). Wiadomo, że owoce i warzywa są głównym żywieniowym źródłem związków o działaniu antyoksydacyjnym, do których zalicza się przede wszystkim witaminę C, karotenoidy oraz flawonoidy.

Potwierdzeniem znaczącej roli antyoksydantów żywieniowych w rozwoju chorób sercowo-naczyniowych są wyniki badań klinicznych, wskazujące na obniżenie u pacjentów z tymi schorzeniami surowiczych stężeń witamin: E, C, A i  $\beta$ -karotenu (17). Spożywanie, zarówno przez ludzi, jak i zwierzęta doświadczalne, diety z wysoką zawartością tych związków i/lub suplementacja farmakologiczna poszczególnymi witaminami hamuje proces peroksydacji lipidów, prowadzi do obniżenia wartości ciśnienia tętniczego, wzrostu wrażliwości na insulinę, usprawnia funkcję naczyń krwionośnych mięśnia sercowego oraz zmniejsza agregację płytek krwi (18, 19).

Regulacyjny wpływ witamin E i C na poziom ciśnienia tętniczego ma najprawdopodobniej związek z ich oddziaływaniem na funkcje śródbłonna naczyń krwionośnych, poprzez modulację aktywności syntetazy tlenu azotu (NOS), oksydazy NADPH oraz dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) (20). Przypuszcza się, że witaminy antyoksydacyjne działają w organizmie synergistycznie, tzn. w pewnym zakresie niedobór jednej z nich uzupełniany jest przez pozostałe. Z badań przeprowadzonych *in vitro* wynika np., że  $\alpha$ -tokoferol, ograniczając oksydację nienasyconych kwasów tłuszczowych, utlenia się do rodników tokoferylowych, które mogą być następnie regenerowane przez kwas askorbinowy. Długotrwałe niedobory kwasu askorbinowego prowadzą z kolei do obniżenia stężenia witaminy E w wielu tkankach (17).

W badaniach eksperymentalnych zwrócono uwagę, że zwiększenie podaży witamin antyoksydacyjnych, w stosunku do zwyczajowo spożywanych ilości, podwyższa aktywność enzymów przeciwutleniających (21). *Chen* i współpr. podczas obserwacji prowadzonych na kilkutysięcznej grupie osób, w wieku od 20 do 60 lat, zdrowych i z nadciśnieniem tętniczym, wykazali dodatnią korelację pomiędzy stężeniami tokoferolu i retinolu w surowicy, a wartością ciśnienia krwi (22).

Biorąc pod uwagę fakt, że w organizmie występują interakcje pomiędzy witaminami uznano, że na stan antyoksydacyjny organizmu ma wpływ łączna ich zawartość, czyli tzw. indeks kumulacyjny witamin antyoksydacyjnych (CIAVIT) (23).

Innymi ważnymi antyoksydantami pokarmowymi są polifenole. Wyniki wielu badań epidemiologicznych potwierdziły dodatnią współzależność pomiędzy spożywaniem warzyw, owoców, soków oraz napojów takich, jak: czarna i zielona herbata, czerwone wino – tj. produktów z dużą relatywnie zawartością flawonoidów a obniżeniem ryzyka wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych, w tym nadciśnienia tętniczego (24). Uważa się, że korzystny wpływ flawonoidów na organizm polega przede wszystkim na ich zdolności hamowania peroksydacji lipidów i agregacji płytek krwi oraz stymulowania syntazy tlenu azotu w śródbłunku naczyń krwionośnych (25).

#### Składniki mineralne

Makroelementy: sód, potas, magnez i wapń

Wyniki badań epidemiologicznych wskazują, że spożywanie nadmiernej ilości chlorku sodu przyczynia się do wzrostu ciśnienia tętniczego, prowadzi także do licznych zaburzeń metabolicznych m.in. osłabienia aktywności syntetazy NO i zmniejszenia wrażliwości na insulinę (26). Analizując rolę sodu w etiopatogenezie NT wykazano, że zmniejszone spożycie tego pierwiastka, zwłaszcza w połączeniu ze stosowaniem diety DASH (Dietary Approach to Stop Hypertension), wpływa korzystnie na ciśnienie tętnicze krwi oraz gospodarkę lipidową i to zarówno u osób zdrowych, jak i z nadciśnieniem tętniczym (27).

Ostatni raport JNC (11) zaleca pacjentom z nadciśnieniem tętniczym ograniczenie spożycia sodu do 2,4 g (6 g NaCl) w ciągu dnia. Rola sodu w etiopatogenezie nadciśnienia tętniczego i celowość stosowania diety niskosodowej jest wciąż przedmiotem licznych kontrowersji i polemik. Spory dotyczące tego zagadnienia związane są z wynikami prac, wskazującymi na brak związku pomiędzy

ilością spożytego chlorku sodu, a ciśnieniem krwi i poziomem lipidów w surowicy. Istnieją również opracowania ujawniające niepożądane skutki metaboliczne i hormonalne stosowania, u osób z nadciśnieniem tętniczym, diety ze znacznym (do 460 mg/dzień) ograniczeniem spożycia sodu (28).

Uważa się, że wpływ sodu na poziom ciśnienia tętniczego uzależniony jest od współwystępowania z nim chloru (29). W wielu doświadczeniach modelowych oraz przeprowadzonych z udziałem ludzi, nie zaobserwowano wzrostu ciśnienia krwi przy wysokim pobraniu organicznych soli sodowych (28). Potwierdza to w pewnym stopniu, obserwowany w erytrocytach pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, niższy poziom jonów chlorkowych oraz ich obniżona aktywność, w stosunku do osób zdrowych. Świadczyć to może o zaburzeniach metabolizmu chloru w stanach patologicznych związanych z występowaniem nadciśnienia tętniczego. Zaobserwowano także, że chlorek sodu powoduje wzmożone wydalanie wapnia, podczas gdy sód niewspółwystępujący z chlorem, nie wywołuje takiego działania (29).

Przypuszcza się, że reakcja organizmu na chlorek sodu występujący w diecie uzależniona jest w znacznym stopniu od wzajemnych proporcji sodu, potasu, wapnia i magnezu. W wielu badaniach stwierdzono odwrotną współzależność pomiędzy poziomem potasu, wapnia i magnezu w diecie, a wartością ciśnienia krwi (16, 28). Jak wykazano, spożywanie magnezu, potasu i wapnia w postaci związków syntetycznych lub jako składników żywności będącej ich dobrym źródłem, wywoływało spadek ciśnienia tętniczego u osób i zwierząt z nadciśnieniem. W przypadku osób z nadciśnieniem tętniczym korzystne okazało się m. in. zastąpienie dodatku chlorku sodu do pożywienia solami potasu lub magnezu (31, 32).

W regulacji ciśnienia tętniczego na poziomie komórkowym szczególną rolę odgrywa wapń. Mechanizm oddziaływania tego pierwiastka na ciśnienie tętnicze krwi związany jest przede wszystkim z jego wpływem na mięśnie gładkie, hormony wapnio-zależne, aktywność układu renina – angiotensyna i aktywność sympatycznego układu nerwowego (33). Przypuszcza się również, że rola magnezu, potasu i sodu w rozwoju nadciśnienia tętniczego wiąże się w znacznym stopniu z ich wpływem na metabolizm wapnia (34, 35).

#### Mikroelementy: żelazo, cynk i miedź

Nie do końca poznana jest rola, jaką w patogenezie nadciśnienia tętniczego odgrywają: miedź, żelazo i cynk. Jak sugerują wyniki licznych badań, zarówno zbyt wysokie, jak i zbyt niskie spożycie tych mikroelementów w racjach pokarmowych oraz zaburzenia gospodarki tymi pierwiastkami w ustroju, mogą prowadzić do rozwoju chorób sercowo-naczyniowych. W wielu z tych badań wykazano znaczące odchylenia w stężeniu cynku oraz podwyższony poziom miedzi w: surowicy, włosach, moczu i innych tkankach osób lub zwierząt z nadciśnieniem tętniczym w stosunku do zdrowych (36, 37).

Najnowsze badania sugerują m. in. wpływ zwiększonej podaży cynku w diecie na wzrost ciśnienia tętniczego u szczurów, z wyjściowym prawidłowym ciśnieniem krwi (38). W przypadku żelaza, obserwowano występowanie podwyższonego ciśnienia krwi zarówno przy deficytowym, jak i nadmiernym poziomie tego pierwiastka w organizmie (39, 40). Wykazano ponadto, że zaburzenia w metabolizmie miedzi i żelaza w organizmie wywierały znaczący wpływ na gospodarkę lipidową. Stwierdzono m. in., że deficyt miedzi oraz nieprawidłowe stężenie żelaza (nadmiar lub niedobór) sprzyjały rozwojowi hiperlipidemii (41, 42). Potwierdzono również wpływ miedzi na prawidłowe funkcjonowanie naczyń krwionośnych poprzez jej udział w syntezie elastyny i kolagenu. Ustalono także, że niski poziom tego pierwiastka w organizmie koreluje z upośledzoną tolerancją glukozy (42).

Omawiane powyżej składniki mineralne wchodzą także w skład enzymów antyoksydacyjnych, co wskazuje na ich istotne znaczenie w ograniczaniu występowania stresu oksydacyjnego. Jak sugerują niektórzy Autorzy oznaczanie aktywności cynko- i miedziozależnych enzymów może stanowić bardziej specyficzną i czułą metodę oceny poziomu cynku i miedzi w organizmie, aniżeli pomiar stężenia tych pierwiastków w tkankach (43).

Podsumowując przedstawione powyżej wyniki badań klinicznych i epidemiologicznych należy stwierdzić że, czynniki żywieniowe odgrywają istotną rolę w rozwoju pierwotnego nadciśnienia tętniczego. W związku z tym prawidłowy, zgodny z zaleceniami żywieniowymi, sposób żywienia stanowić może ważny element tzw. stylu życia zapobiegający rozwojowi tej jednostki chorobowej lub wspomagający stosowane leczenie farmakologiczne.

J. Suliburska, G. Duda

THE NUTRITIONAL FACTORS IN THE DEVELOPMENT  
OF PRIMARY HYPERTENSION

## PIŚMIENNICTWO

1. *Schunkert H.*: Obesity and target organ damage: the heart. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2002; 26(4): 15-20. – 2. *Kozłowska-Wojciechowska M.*: Czynniki żywieniowe w profilaktyce i leczeniu nadciśnienia tętniczego. *Czynniki Ryzyka*, 1998; 4: 50-54. – 3. *Mark A.L., Correia L.G., Rahmoui K., Haynes W.G.*: Wybiórcza oporność na leptynę: nowa koncepcja patofizjologiczna o istotnych konsekwencjach dla układu sercowo-naczyniowego. *J. Hypertens.*, 2002; 20: 1245-1250. – 4. *Gokce N.*: L-arginine and hypertension. *J. Nutr.*, 2004; 134: 2807-2811. – 5. *Venho B., Voutilainen S., Valkonen V.P., Virtanen J., Lakka T.A., Rissanen T.H., Ovaskainen M.L., Laitinen M., Salonen J.T.*: Arginine intake, blood pressure, and the incidence of acute coronary events in men: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002; 76: 359-364. – 6. *Szostak-Wegierek D.*: Rola homocysteiny w powstawaniu miażdżycy. *Żyw. Człow. Metab.*, 1991; 28(2): 132-142. – 7. *Dinavahi R., Falkner B.*: Relationship of homocysteine with cardiovascular disease and blood pressure. *J. Clin. Hypertens.*, 2004; 6(9): 494-498. – 8. *He J., Streiffer R.H., Muntner P., Krousel-Wood M.A., Whelton P.K.*: Effect of dietary fiber intake on blood pressure: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. *J. Hypertens.*, 2004; 22: 73-80. – 9. *Hodgson J.M.*: Dietary fiber and blood pressure. *J. Hypertens.*, 2004; 22: 25-26. – 10. *Hu F.B., Willett W.C.*: Optimal diets for prevention of coronary heart disease. *JAMA* 2002; 288: 2569-2578.

11. *Chobanian A.V., Bakris G.L., Black H.R., Cushman W.C., Green L.A., Izzo J.L., Jones D.W., Materson B.J., Oparil S., Wright J.T., Roccella E.J. and the National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee*: Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertens.*, 2003; 42: 1206-1252. – 12. *Szczeklik-Kumala Z., Bernas M., Tatoń J.*: Tłuszcze w ukierunkowanym prewencyjnie żywieniu osób ze zwiększonym ryzykiem miażdżycy i jej powikłań. *Medycyna Metaboliczna*, 2002; 4(2): 59-67. – 13. *Mori T.A., Bao D.Q., Burke V., Puddey I.B., Beilin L.J.*: Docosahexaenoic acid but not eicosapentaenoic acid lowers ambulatory blood pressure and heart rate in humans. *Hypertens.*, 1999; 34: 253-260. – 14. *Yuan Y.V., Kitts D.D.*: Dietary (n-3) fat and cholesterol alter tissue antioxidant enzymes and susceptibility to oxidation in SHR and WKY rats. *J. Nutr.*, 2003; 133: 679-688. – 15. *Soringuer F., Rojo-Martinez G., Dobarganes C., Almeida J.M.G., Esteve I., Beltran M., De Adana M.S.R., Tinahones F., Gomez-Zumaquero J.M., Garcia-Fuentes E., Gonzalez-Romero S.*: Hypertension is related to the degradation of dietary frying oils. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2003; 78(6): 1092-1097. – 16. *Resnick L.M., Oparil S., Chait A., Haynes R.B., Kris-Etherton P., Stern J.S., Clark S., Holcomb S., Hatton D.C., Metz J.A., McMahon M., Pi-Sunyer X., McCarron D.A.*: Factors affecting blood pressure responses to diet: The Vanguard Study. *Am. J. Hypertens.*, 2000; 13: 956-965. – 17. *Wartanowicz M., Ziemiański Ś., Rudnicki S.*: Badania skринingowe nad zawartością witamin antyoksydacyjnych w surowicy krwi osób z niedocięnną chorobą serca badanych w latach 1995 – 1996 w porównaniu z 1992 r. *Medycyna Metaboliczna*, 1998; 1: 5-8. – 18. *Block G., Mangels A.R., Norkus E.P., Patterson B.H., Levander O.A., Taylor P.R.*: Ascorbic acid status and subsequent diastolic and systolic blood pressure. *Hypertens.*, 2001; 37: 261-267. – 19. *Frenoux J.M., Noirot B., Prost E.D., Madani S., Blond J.P., Belleville J.L., Prost J.L.*: Very high alpha-tocopherol diet diminishes oxidative stress and hypercoagulation in hypertensive rats but not in normotensive rats. *Med. Sci. Monit.*, 2002; 8(10): BR401-407. – 20. *Ulker S., McKeown P.P., Bayraktutan U.*: Vitamins reverse endothelial dysfunction through regulation of eNOS and NAD(P)H oxidase activities. *Hypertens.*, 2003; 41: 534-539.

21. *Vasdev S., Gill V., Longerich L., Gadag V.*: Dietary vitamin E and C supplementation prevents fructose induced hypertension in rats. *Mol. Cell. Biochem.*, 2002; 241 (1-2): 107-114. – 22. *Chen J., He J., Hamm L., Batuman V., Whelton P.K.*: Serum antioxidant vitamins and blood pressure in the United States population. *Hypertens.*, 2002; 40: 810-816. – 23. *Duda G.*: Żywieniowa profilaktyka miażdżycy. *PTTŻ*, Poznań 2000. – 24. *Negishi H., Xu J.W., Ikeda K., Njelekela M., Nara Y., Yamori Y.*: Black and green tea polyphenols attenuate blood pressure increases in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J. Nutr.*, 2004; 134: 38-42. – 25. *Coruzzi P., Brambilla L., Brambilla V., Gualerzi M., Rossi M., Parati G., Rienzo M., Tadonio J., Novarini A.*: Potassium depletion and salt sensitivity in essential

hypertension. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001; 86: 2862-2862. – 26. *Jones D.W.*: Dietary sodium and blood pressure. *Hypertens.*, 2004; 27: 932-935. – 27. *Bray G.A., Vollmer W.M., Sacks F.M., Obarzanek E., Svetkey L.P., Appel L.J.*: A further subgroup analysis of the effects of the DASH diet and three dietary sodium levels on blood pressure: results of the DASH-Sodium Trial. *Am. J. Cardiol.*, 2004; 94 (2): 222-227. – 28. *Głuszek J.*: Wpływ soli kuchennej w diecie na ciśnienie tętnicze i stan zdrowia. *Nadciśnienie Tętnicze*, 2002; 6(1): 45-51. – 29. *McCarty M. F.*: Should we restrict chloride rather than sodium? *Med. Hypotheses.*, 2004; 63(1): 138-148. – 30. *Resnick L.M., Oparil S., Chait A., Haynes R.B., Kris-Etherton P., Stern J.S., Clark S., Holcomb S., Hatton D.C., Metz J.A., McMahon M., Pi-Sunyer X., McCarron D.A.*: Factors affecting blood pressure responses to diet: The Vanguard Study. *Am. J. Hypertens.*, 2000; 13: 956-965.

31. *Appel L.J., Moore T.J., Obarzanek E., Vollmer W.M., Svetkey L.P., Sacks F.M., Bray G.A., Vogt T.M., Cutler J.A., Windhauser M.M., Lin P.*: A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. *N. Engl. J. Med.*, 1997; 336(16): 1117-1124. – 32. *Hu J.J., Liu Z.Q., Yang J., Liang Y.M., Wang Y.X., Guo B.L., Zhang X.L., Ji H.C., Xu X.L.*: Long term observation in effects of potassium and calcium supplementation on arterial blood pressure and sodium metabolism in adolescents with higher blood pressure. *Chin. J. Prev. Med.*, 2003; 37(2): 90-92. – 33. *McCarron D.A.*: Is calcium more important than sodium in the pathogenesis of essential hypertension? *Hypertens.*, 1985; 7: 607-627. – 34. *Coruzzi P., Brambilla L., Brambilla V., Gualerzi M., Rossi M., Parati G., Rienzo M., Tadonio J., Novarini A.*: Potassium depletion and salt sensitivity in essential hypertension. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001; 86: 2862-2862. – 35. *Gums J.G.*: Magnesium in cardiovascular and other disorders. *Am. J. Health Syst. Pharm.*, 2004; 61(15): 1569-1576. – 36. *Pęczkowska M., Kabat M., Janaszek-Sitkowska A., Puławska M.*: Ocena wybranych parametrów gospodarki cynkowej u chorych z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 1996; 95: 198-204. – 37. *Senturk U.L., Kaputlu I., Gunduz F., Kuru O., Gokalp O.*: Tissue and blood levels of zinc, copper and magnesium in nitric oxide synthase blockade-induced hypertension. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2000; 77: 97-106. – 38. *Yanagisawa H., Sato M., Nodera M., Wada O.*: Excessive zinc intake elevates systemic blood pressure levels in normotensive rats – potential role of superoxide – induced oxidative stress *J. Hypertens.*, 2004; 22: 543-545. – 39. *Lewis R.M., Petry C.J., Ozanne S.E., Hales C.N.*: Effects of maternal iron restriction in the rat on blood pressure, glucose tolerance and serum lipids in the 3-month-old offspring. *Metabolism*, 2001; 50 (5): 562-567. – 40. *Moirand R., Mortaji A.M., Loreal O., Paillard F., Brissot P., Daignier Y.*: A new syndrome of liver iron overload with normal transferrin saturation. *Lancet*, 1997; 349 (9045): 95-97.

41. *Choi J.W., Kim S.K., Pai S.H.*: Changes in serum lipid concentrations during iron depletion and after iron supplementation. *Ann. Clin. Labor. Sci.*, 2001; 31(2): 151-155. – 42. *Klevay L.M.*: Cardiovascular disease from copper deficiency – a history. *J. Nutr.*, 2000; 130: 489S-492S. – 43. *Vivoli G., Brgomi M., Rovesti S., Pinotti M., Caselgrandi E.*: Zinc, copper and zinc or copper-dependent enzymes in human hypertension. *Biol. Trace Element Res.*, 1995; 49: 97-106.

Adres: 60-624 Poznań, ul. Wojska Polskiego 31.

*Anna Wojtczak, Jadwiga Skrętkowicz*

## ZNACZENIE DIETY W PROFILAKTYCE I TERAPII MIAŻDŻYCY

Zakład Farmakogenetyki Katedry Biofarmacji  
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi  
Kierownik: dr hab. n. med. *J. Skrętkowicz*

Hasła kluczowe: miażdżycyca – czynniki ryzyka – dieta.

Key words: atherosclerosis – risk factors – diet.

Miażdżycyca (*atherosclerosis*) jest przewlekłą odpowiedzią zapalną na uszkodzenie śródbłonka tętnic, połączoną ze stresem oksydacyjnym, odkładaniem się cholesterolu, zwiększonym wykrzepianiem i procesem fibroproliferacyjnym. Jest to degeneracyjna choroba tętnic, w której dochodzi do powstania wieloogniskowych zmian w błonie wewnętrznej i środkowej zwanych blaszkami lub płytkami miażdżycowymi. Proces może zaczynać się już w bardzo młodym wieku i z biegiem lat postępuje, przy czym zmiany miażdżycowe rozwijają się najbardziej intensywnie pomiędzy 14 a 35 rokiem życia. Na tle miażdżycowym rozwija się wiele chorób układu krążenia, w szczególności należą do nich choroba niedokrwienna serca, udar mózgu i miażdżycyca tętnic kończyn dolnych.

### Patogeneza miażdżycy

Pierwszym ogniwem rozwoju miażdżycy jest uszkodzenie śródbłonka naczyń z następową kumulacją leukocytów, płytek krwi, monocytów/makrofagów i limfocytów T w błonie wewnętrznej naczyń. Zjawisku temu sprzyja odkładanie się w ścianach naczyń złogów cholesterolu, a zwłaszcza oksydowanych cząsteczek frakcji LDL. Zaburzenia w profilu lipidowym osocza są ściśle powiązane z dynamiką rozwoju zmian miażdżycowych oraz poziomem ryzyka wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych (tab. I).

Tabela I

Poziom ryzyka chorób sercowo-naczyniowych w zależności od stężenia lipidów w surowicy (1)

Table I

Influence of lipid level on risk of cardiovascular diseases

Poziom ryzyka	LDL-cholesterol (mg/100 cm <sup>3</sup> )	HDL-cholesterol* (mg/100 cm <sup>3</sup> )	Triglicerydy (mg/100 cm <sup>3</sup> )
Wysokie	130	<40	400
Umiarkowane	100–129	40–59	150–399
Niskie	<100	60	<150

\* wartości dla kobiet są o 10 mg/100 cm<sup>3</sup> wyższe

Obładowanie makrofagów lipidami daje początek komórkom piankowatym, tworzącym smugi tłuszczowe (*fatty streak*) charakterystyczne dla początkowych etapów miażdżycy. Następnie, pod wpływem różnych czynników wzrostu dochodzi do zmian morfologicznych i czynnościowych komórek

mięśni gładkich tworzących ścianę tętnicy, które proliferują i wydzielają elementy tkanki łącznej, prowadząc do powstania blaszki włóknisto-tłuszczowej (*fibrous cap*). Proces ten w konsekwencji doprowadza do usztywnienia tętnic, zaburzenia konstrukcji i przepuszczalności ścian oraz zawężania światła naczyń. Usztywnione tętnice o zmniejszonej podatności na rozciąganie przyczyniają się do podwyższenia skurczowego ciśnienia tętniczego, a także biorąc pod uwagę przebudowę ścian naczyń do ich pęknięcia i krwotoków. Nieregularne zwężenia światła tętnic powodują zawirowania strumienia krwi utrudniając i zmniejszając przepływ krwi, co ogranicza zaopatrzenie narządów w tlen i substancje odżywcze. Ponadto, uszkodzony śródbłonek stwarza warunki do tworzenia się skrzeplin, co jeszcze bardziej zwęża, a czasami całkowicie zamyka światło tętnicy. Towarzysząca aktywacja zapalna śródbłonek wiąże się z nadmiernym wytwarzaniem bardzo aktywnych substancji takich, jak: aniony ponadtlenkowe ( $O_2^-$ ), aniony nadtlenoazotynu (ONOO<sup>-</sup>), prostaglandyna  $H_2$  (PGH<sub>2</sub>), endotelina-1 (ET-1), angiotensyna (Ang II), cytokiny zapalne (IL-1, IL-6), cząsteczki adhezyjne (VCAM-1, ICAM-1), chemokiny (np. MCP-1), inhibitor aktywatora plazminogenu (PAI) i wiele innych, które uruchamiają i podsycają procesy zapalne i zakrzepowe (2, 3). Toczący się proces zapalny w obrębie blaszki miażdżycowej może wywołać jej destabilizację, a nawet pęknięcie zwiększając ryzyko ostrych incydentów wieńcowych lub udaru mózgu, w zależności od lokalizacji zmiany.

W patogenezie miażdżycy coraz większą rolę przypisuje się czynnikiem genetycznym (4). Różnice w czynności śródbłonek pomiędzy poszczególnymi osobami mogą być spowodowane istnieniem polimorfizmu genów kontrolujących uwalnianie mediatorów śródbłonkowych lub białek odpowiedzialnych za ich metabolizm. Można tu wspomnieć o polimorfizmie genu kodującego enzym konwertazę angiotensyny, który to przejawia się odmienną wrażliwością śródbłonek na bodźce kurczące i różnicą w produkcji czynników pro- i antyfibrynolitycznych. Przykładem może być także polimorfizm genu lipoproteiny E wpływający na różnice w stężeniach cholesterolu całkowitego i frakcji LDL.

#### Profilaktyka miażdżycy

Wszystkie znane czynniki ryzyka miażdżycy, zarówno środowiskowe (palenie tytoniu, wadliwe żywienie, mała aktywność fizyczna, stres psychiczny), jak i metaboliczne (nadciśnienie tętnicze, zaburzenia gospodarki lipidowej – hipertriglicerydemia i hipercholesterolemia; zaburzenia gospodarki węglowodanowej – oporność na insulinę, cukrzyca; nadwaga/otyłość, hiperhomocysteinemia) modyfikują czynność śródbłonek i determinują pojawienie się odpowiedzi zapalnej i rozwój zmian miażdżycowych. Dlatego tak istotnym działaniem jest profilaktyka – najtańsza i najskuteczniejsza forma zapobiegania miażdżycy. Od wielu lat uznana i nieodzowną metodą profilaktyki i leczenia miażdżycy jest dieta zgodna z zasadami prawidłowego żywienia. Odpowiednio dobrane składniki odżywcze mogą oddziaływać na czynniki ryzyka, a także na ekspresję genów przyczyniając się do stabilności genomu. Inicjatywy propagujące zachowania prozdrowotne i edukacja społeczeństwa w kierunku właściwego odżywiania się i szeroko rozumianego zdrowego stylu życia mają ogromne znaczenie. Działalność ta nabiera szczególnego wymiaru w obliczu ogłoszonego ostatnio raportu IPSOS „Fakty i mity. Odżywianie i zdrowie Polaków w kontekście międzynarodowym” powstałego w oparciu o badania przeprowadzone w okresie od maja do czerwca 2005 r. w Polsce, USA, Kanadzie, Argentynie, Chile, Szwecji i Hiszpanii (5). W Polsce badaniem objęto reprezentatywną grupę 815 osób w wieku powyżej 15 lat. Z raportu wynika niezrozumiała rozbieżność pomiędzy samooceną sposobu odżywiania (69% Polaków uważa, iż odżywia się zdrowo), a praktykowanymi zwyczajami kulinarnymi 93% respondentów zjada mięso, najczęściej (43%) smażone, 13% pije napoje alkoholowe między posiłkami. W innych badanych krajach odsetek osób pijących alkohol nie przekraczał 5%. Jedynie 22% badanych w Polsce wskazało na przestrzeganie i znajomość piramidy zdrowego żywienia. Tylko 2% Polaków uznaje się za otyłych, podczas gdy obliczony wskaźnik masy ciała BMI (Body Mass Index) dla ankietowanych wskazuje aż 14%. Przy zakupie produktów spożywczych Polacy nie zwracają uwagi na konkretne składniki, jak na przykład: zawartość witamin, błonnika, żywych kultur bakterii, kwasów tłuszczowych. Rzadziej niż mieszkańcy innych krajów Polacy świadomie sięgają po produkty pełnoziarniste, niskokaloryczne. Odsetek osób czytających etykiety na opakowaniach był również niższy niż w innych krajach (60%). Do zakupu żywności ankietowanych przekonują jedynie cechy ogólne produktów. Polacy także ocenili wysoko swoją sprawność fizyczną (44% odsetek jeden z najwyższych spośród ankietowanych krajów), mimo iż 66% badanych czas wolny spędza przed telewizorem, a tylko 20% jeździ na rowerze czy 7% uprawia jogging lub gimnastykę. W obliczu przytoczonych danych opracowanie i rozpowszechnianie prawidłowej diety stanowi aktualny i konieczny cel w ramach prewencji i terapii chorób układu krążenia.



### Dieta antyaterogenna i jej znaczenie

W profilaktyce i leczeniu miażdżycy należy stosować dietę ubogotłuszczową z ograniczeniem cukrów prostych i cholesterolu oraz zwiększeniem zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Podstawowe źródło energii (55–60% spożywanym kalorii) stanowią węglowodany. W większości, powinny to być węglowodany złożone o stosunkowo niskiej wartości indeksu glikemicznego (IG). Indeks glikemiczny określa wpływ różnych węglowodanów na zachowanie się stężenia glukozy w surowicy po ich spożyciu (6). Jest definiowany jako pole pod krzywą glikemiczną po podaniu produktu spożywczego zawierającego 50 g węglowodanów w porównaniu do analogicznego pola po podaniu 50 g glukozy. Im wyższa wartość IG danego produktu, tym wyższy poposiłkowy poziom glukozy we krwi. Spożycie węglowodanów o wysokim IG (tzn.  $\geq 70$ ) doprowadza do gwałtownego skoku glikemii co przekłada się na duży wyrzut insuliny. Taka poposiłkowa hiperglikemia z towarzyszącą hiperinsulinemią działa wyjątkowo aterogennie. Oddziałuje bowiem na lipogenezę pobudzając syntezę triglicerydów i produkcję VLDL. Następnie poziom glukozy szybko ulega obniżeniu i przypominając mechanizm wahadłowy, nie spada do wartości wyjściowej, lecz znacznie niżej, co może doprowadzać do hipoglikemii. Procesowi temu towarzyszy uczucie głodu, a chęć jego zaspokojenia jest powodem niekontrolowanego pojadania. Produkty o wysokim IG sprzyjają zwiększaniu masy ciała w dwojaki sposób: wywołują głód, co zwiększa częstotliwość jedzenia i działają anabolicznie (aktywują procesy przyswajania i magazynowania pokarmu) wywołując duże wahania wydzielania insuliny. Wysoki indeks glikemiczny diety wiąże się z wyższym ryzykiem pojawienia się chorób rozwijających się na podłożu miażdżycy, a także otyłości i cukrzycy. Natomiast spożycie produktu o niskim indeksie glikemicznym ( $\leq 55$ ) powoduje powolny i relatywnie niewielki wzrost poziomu glukozy i co za tym idzie – niewielki wyrzut insuliny, co sprzyja utrzymaniu masy ciała i prawidłowej glikemii. Warto pamiętać, że przetwarzanie produktów żywnościowych (obróbka termiczna) podwyższa ich indeks glikemiczny. Wykaz przykładowych produktów wraz z indeksem glikemicznym zestawiono w tab. II.

W diecie przeciwmiażdżycowej zawartość białka ma mniejsze znaczenie. Należy jednak zaznaczyć właściwości hipolipemiczne białka soi. Odpowiednio wysokie przyjmowanie białka sojowego może obniżyć poziom cholesterolu w surowicy o 5–10%. Zalecane spożycie białka w profilaktyce miażdżycy jest zgodne z zasadami żywienia ludzi zdrowych, czyli winno stanowić 10–15% wartości energetycznej diety.

Najwięcej uwagi w diecie antyaterogenicznej należy poświęcić tłuszczom (8). Niezbędne jest ograniczenie całkowitej podaży lipidów do ok. 15–20% energii ogółem oraz zredukowanie spożycia nasyconych kwasów tłuszczowych (NKT) do 7%. Kwasy tłuszczowe nasycone pochodzą głównie z mleka oraz tłuszczu odzwierzęcych i wykazują działanie pro miażdżycowe, prozakrzepowe, a także prozapalne. Dlatego też, pożądane jest zastąpienie ich kwasami tłuszczowymi nienasyconymi. Najbardziej rozpowszechniony jest kwas oleinowy będący kwasem jednonienasyconym, znajdujący się między innymi w oliwie z oliwek i oleju rzepakowym niskoerukowym. Konieczne jest także dostarczanie wraz z dietą tzw. niezbędnych kwasów tłuszczowych należących do wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (WKT). Główni przedstawiciele to kwas linolowy z rodziny n-6 oraz kwas  $\alpha$ -linolenowy z rodziny n-3. Kwas linolowy obecny jest w oleju słonecznikowym i sojowym, a także w margarynach wyprodukowanych na bazie tych olei. Kwas  $\alpha$ -linolenowy jest składnikiem oleju lnianego i rzepakowego oraz orzechów włoskich. Ze względu na funkcje fizjologiczne tych kwasów tłuszczowych istotna jest odpowiednia proporcja WKT n-6 do WKT n-3 w diecie. W profilaktyce miażdżycy najkorzystniejszym wydaje się być stosunek 4:1. Obecność w spożywanych pokarmach odpowiedniej ilości WKT n-3 wiąże się ze zmniejszonym ryzykiem zgonów sercowych wynikającym z ich działania przeciwzapalnego i przeciwzakrzepowego, a także antyarytmicznego (9).

Nie bez znaczenia dla diety antyaterogenicznej jest również zmniejszenie spożycia samego cholesterolu do wartości poniżej 300 mg dziennie. Produkty o wysokiej zawartości cholesterolu takie, jak: jaja, podroby, słonina, sery żółte czy tłuszcz mleka winny być ograniczane, a w niektórych przypadkach całkowicie wyeliminowane.

Wspomnieć w tym miejscu należy o zróżnicowanej wśród populacji odpowiedzi hipolipemicznej na dietę. Niepowodzenia w osiągnięciu obniżenia poziomu lipidów w surowicy u niektórych osób można upatrywać w uwarunkowaniach genetycznych, a w szczególności w polimorfizmie niektórych genów np. apolipoproteiny E.

Ważną rolę w diecie przeciwmiażdżycowej odgrywa również błonnik pokarmowy. Jego dzienne spożycie powinno wynosić ok. 30 g i pochodzić z różnych źródeł, tj. warzyw, owoców, pieczywa z pełnego ziarna, gruboziarnistych kasz, nasion roślin strączkowych i orzechów. Błonnik pokarmowy,

głównie jego frakcja nierozpuszczalna, poprawia perystaltykę jelit i działa przeciw zaparciom. Z kolei frakcja rozpuszczalna błonnika obniża stężenie cholesterolu, glukozy i ciśnienie krwi.

Tabela II  
Indeksy glikemiczne wybranych produktów (7)

Table II  
Glycemic index of some foodstuffs

Produkt	Indeks glikemiczny	Produkt	Indeks glikemiczny
Ananas	59	Kasza jaglana	71
Arbuz	75	Kasza manna	58
Banan	59	Kiwi	52
Biszkopt	46	Knedle ziemniaczane	52
Brzoskwinie	29	Kukurydza z puszki	55
Brzoskwinie z puszki w syropie	52	Kasza kuskus	65
Buraki	65	Makaron	55
Cebula	15	Marchew	30
Chleb – pieczywo francuskie	95	Marchew gotowana	85
Chleb jasny	95	Miód	87
Chleb pełnoziarnisty żytni	58	Mleko pełne	27
Chleb pszenny	85	Mleko zsiadłe	32
Chleb pumpernikiel	40	Morele	15
Cukier rafinowany	68	Morele suszone	30
Czekolada biała	44	Orzechy arachidowe	14
Czekolada gorzka	22	Otręby owsiane	55
Czekolada mleczna	49	Płatki kukurydziane	84
Czereśnie	22	Pomarańcza	44
Czosnek	15	Pomidory	15
Dynia	75	Popcorn	72
Fasola biała	33	Rodzyнки	64
Fasola szparagowa	71	Ryba	38
Frytki	95	Ryż biały	70
Grejpfrut	25	Ryż brązowy	55
Groszek zielony	45	Soja	14
Groszek zielony z puszki	61	Sok jabłkowy	40
Gruszki	42	Sok pomarańczowy	42
Herbatniki	57	Śliwki	30
Jabłka	38	Truskawki	40
Jabłka suszone	29	Winogrona	46
Jogurt owocowy	36	Wiśnie	25
Jogurt naturalny	36	Ziemniaki gotowane	95
Kasza gryczana	54	Ziemniaki pieczone	85

Kolejnym istotnym elementem w zapobieganiu miażdżycy jest uwzględnienie zawartości w diecie witamin antyoksydacyjnych, do których należą: witamina E (alfa-tokoferol), witamina C (kwas askorbinowy) oraz prowitamina A ( $\beta$ -karoten). Antyoksydanty mogą chronić cząsteczki LDL cholesterolu przed szkodliwym działaniem wolnych rodników i oksydacją oraz wywierać korzystny wpływ na funkcję śródbłonna. Głównym źródłem tych witamin powinny być produkty naturalne takie, jak: owoce i warzywa (do 1000 g dziennego spożycia), gdyż jak wynika z ostatnich badań klinicznych suplementacja witaminowa nie wpływa redukująco na występowanie incydentów sercowo-naczyniowych (10, 11).

Tabela III  
Produkty i potrawy zalecane i niezalecane w diecie przeciwmiażdżycowej

Table III  
Foodstuffs and dishes prescribed and unprescribed in antiatherogenic diet

Produkty i potrawy	Dozwolone	Niezalecane
Pieczywo	Wszystkie rodzaje z wyjątkiem zabronionych	Chleb razowy na miodzie, pieczywo cukiernicze
Mąka	Wszystkie rodzaje	
Kasze	Wszystkie rodzaje	
Mleko	Odtuszczone, świeże, zsiadłe, kefir, jogurt, maślanka	Tłuste i napoje z tłustego mleka
Sery	Twaróg i biały ser z odtuszczonego mleka	Białe i żółte sery tłuste, dojrzewające i topione
Jaja	Białka, żółtka w ograniczonej ilości do dwóch na tydzień	Większa ilość żółtek
Mięsa	Chude i o małej zawartości cholesterolu: wołowina, baranina, cielęcina	Wszystkie tłuste oraz podroby
Drób	Chude: kura, kurczak, brojler, indyk, gołąb	Tłuste: gęś, kaczka, podroby i skóra
Ryby	Chude	Tłuste
Wędliny i wyroby wędliniarskie	Chuda szynka wołowa i wieprzowa, połówka	Pozostałe wędliny i wyroby wędliniarskie
Masło	ograniczone ilości	
Śmietanka i śmietana	Śmietanka chuda	Śmietana
Tłuszcze	Oleje roślinne: słonecznikowy, arachidowy, sojowy, rzepakowy, oliwa	Zwierzęce: łój, smalec, słonina, boczek oraz margaryny twarde
Ziemniaki	Gotowane w wodzie i na parze, purée, gotowane i pieczone w mundurkach	Frytki, smażone, odsmażane, placki ziemniaczane
Warzywa	Wszystkie z wyjątkiem zabronionych	Groch, fasola, kapusta, grzyby
Owoce	Wszystkie	
Cukier i słodycze	Cukier, miód, dżem, marmolada, syropy owocowe – w ilościach ograniczonych	Słodycze z dodatkiem tłuszczu i używek
Przyprawy	Łagodne	Ostre
Napoje	Odtuszczone mleko, kefir, jogurt, herbata, kawa, napary ziołowe, herbata i kawa z mlekiem, soki owocowe i warzywne	Alkoholowe, czekolada, kakao, napoje słodkie i tłuste
Zupy	Mleczne, owocowe, warzywne, owocowe, na wywarach jarskich, krupniki	Na wywarach mięsnych, kostnych, grzybowych, z warzyw strączkowych, zawiesziste i tłuste
Potrawy mięsne	Gotowane pulpety, potrawki, pieczone w folii, duszone i smażone bez tłuszczu	Smażone, duszone i pieczone z tłuszczem
Potrawy z drobiu	Gotowane, pulpety, potrawki, pieczone w folii, galarety	Smażone, pieczone i duszone z tłuszczem
Potrawy z ryb	Gotowane, pulpety, faszzerowane, w galarecie, pieczone w folii	Smażone, pieczone i duszone z tłuszczem
Potrawy z warzyw	Surówki, sałatki, gotowane, duszone, soki i przeciera	Smażone
Potrawy z mąki	Pierogi, makaron, kluski, knedle, gotowane	Smażone, odsmażane, naleśniki, potrawy tłuste i słodkie
Sosy	Na wywarze jarskim, zagęszczane zawiesiną	Majonezowe, na wywarach mięsnych, drobiowych, grzybowych, zagęszczane zasmażkami, z dodatkiem śmietany, słodkie
Desery	Surowe owoce, przeciera, pieczone jabłka, kompoty bez cukru	Tłuste i słodkie ciasta, torty, kremy, bita śmietana, lody, kremy, itp.

Podobne znaczenie w ochronie przed miażdżycą mają flawonoidy związki odpowiedzialne za barwę i smak produktów roślinnych. Cennym ich źródłem są owoce i warzywa, soki, a także czerwone wino. Flawonoidy hamują oksydację lipidów, podwyższają poziom cholesterolu frakcji HDL, działają przeciwzakrzepowo i antyoksydacyjnie.

W profilaktyce miażdżycy istotne znaczenie mają także witaminy z grupy B (B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>) i kwas foliowy. Ich źródłem może być chude mięso, warzywa liściaste i kapustne. Związki te, biorą udział w metabolizmie homocysteiny, której podwyższony poziom w surowicy jest obecnie uznawany za niezależny czynnik ryzyka chorób sercowo-naczyniowych. Hiperhomocysteinemia często powiązana jest z niskim stężeniem kwasu foliowego oraz witamin B<sub>6</sub> i B<sub>12</sub>. U osób z genetycznie uwarunkowaną obniżoną aktywnością enzymów biorących udział w przemianach homocysteiny pokrycie zapotrzebowania na te witaminy może zapobiegać nadmiernemu gromadzeniu tego aminokwasu we krwi. Jednakże wyniki badania NORVIT ogłoszone na Kongresie Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego we wrześniu 2005 r. nie potwierdzają ochronnego wpływu suplementacji tą grupą witamin w prewencji wtórnej chorób układu krążenia (12). Co więcej, badacze odnotowali w grupie osób leczonych kwasem foliowym i witaminą B<sub>6</sub> aż 20% wzrost ryzyka ponownego incydentu sercowo-naczyniowego (zawał serca, udar mózgu).

Oprócz znaczenia składu diety w profilaktyce i terapii miażdżycy, dużą rolę spełnia także obróbka produktów spożywczych. Technologia sporządzania potraw w diecie przeciwmiażdżycowej powinna opierać się na gotowaniu w wodzie lub na parze, smażeniu i duszeniu bez tłuszczu oraz pieczeniu w folii. Z drobiu należy zdejmować skórę, z mięs usuwać zewnętrzny tłuszcz. Wykaz produktów oraz potraw zalecanych i niezalecanych w diecie przeciwmiażdżycowej przedstawiono w tab. III.

Reasumując, dieta stanowi podstawę działań profilaktycznych w kierunku miażdżycy i chorób układu krążenia. Właściwe stosowanie zbilansowanej diety bogatej w warzywa i owoce, produkty zbożowe i strączkowe, ryby i chude mięso może przyczynić się do zahamowania progresji zmian miażdżycowych.

A. Wojtczak, J. Skrętkowicz

#### THE IMPORTANCE OF DIET IN PREVENTION AND THERAPY OF ATHEROSCLEROSIS

#### PIŚMIENNICTWO

1. ADA Clinical Practice Recommendation 2003. *Diab. Care*, 2003; 26 (supl.1): 83-86. – 2. *Ross R.*: Atherosclerosis an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.*, 1999; 2: 115-126. – 3. *Libby P., Ridker P.M., Maseri A.*: Inflammation and Atherosclerosis. *Circulation*, 2002; 105: 1135-1143. – 4. *Rdzanek A., Filipiak K.J.*: Human genome project implikacje kardiologiczne. *Pol. Przegl. Kardiol.*, 2000; 2(3): 207-214. – 5. IPSOS Fakty i mity. *Odżywianie i zdrowie Polaków w kontekście międzynarodowym*. Raport z dnia 02.09.2005 r., [www.ipsos.pl](http://www.ipsos.pl). – 6. *Ciok J., Dolna A.*: Indeks glikemiczny a zaburzenia gospodarki lipidowej. *Żyw. Człow. Metab.*, 2005; 32(1): 38-46. – 7. *Foster-Powel K., Holt S.H., Brand-Miller J.C.*: International tables of glycemic index and glycemic load values: 2002. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002; 76(1): 5-56. – 8. *Cybulska B., Kłotiewicz-Latoszek L.*: Diagnostyka i leczenie hipercholesterolemii. *Żyw. Człow. Metab.*, 2005; 32(2): 74-92. – 9. *Cybulska B., Kłotiewicz-Latoszek L.*: Kwasy tłuszczowe omega 3 w prewencji choroby niedokrwiennej serca. *Kardiol. Pol.*, 2005; 62: 625-630. – 10. Heart Protection Study Collaborative Group MRC/BHF Heart Protection Study of antioxidant vitamin supplementation in 20.535 high-risk individuals: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet*, 2002; 360: 23-33.

11. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high risk patients. *N. Engl. J. Med.*, 2000; 324: 154-160. – 12. *Bonaa K.H.*: NORVIT: Randomized trial of homocysteine-lowering with B-vitamins for secondary prevention of cardiovascular disease after acute myocardial infarction. Program and Abstracts from The European Society of Cardiology Congress 2005; September 3-7, 2005, Stockholm, Sweden.

*Anna Waluś, Lidia Wądołowska<sup>1)</sup>, Roman Cichon<sup>1)</sup>, Tomasz Długosz<sup>2)</sup>*

**ANALIZA ZWYCZAJÓW ŻYWIENIOWYCH MŁODZIEŻY  
Z POLSKI PÓŁNOCNO-WSCHODNIEJ  
Z ZASTOSOWANIEM ANALIZY CZYNNIKOWEJ<sup>\*)</sup>**

Katedra i Zakład Żywienia i Dietetyki Collegium Medicum w Bydgoszczy  
Kierownik Katedry i Zakładu: prof. dr hab. inż. *R. Cichon*

<sup>1)</sup> Katedra Żywienia Człowieka Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie  
Kierownik Katedry: prof. dr hab. inż. *J. Borowski*

<sup>2)</sup> Katedra i Zakład Bromatologii Collegium Medicum w Bydgoszczy  
Kierownik Katedry i Zakładu: dr hab. *G. Bazylak*

*Badano zwyczaje żywieniowe młodzieży z Polski Północno-Wschodniej za pomocą analizy czynnikowej. Badaniami objęto 431 osób w wieku od 15 do 18 lat. Wyłoniono 8 wzorów żywieniowych, które opisywały wzajemną współzależność częstości spożycia żywności przez młodzież. Korzystne cechy odżywiania tworzyły 4 odrębne grupy i były związane z wysoką częstością spożycia soków owocowych i warzywnych, produktów strączkowych, ryb, mięsa wołowego, warzyw, owoców, razowego pieczywa i napojów mlecznych. Wysoka częstość spożycia przekąsek, słodczy i słodkich napojów tworzyła odrębny zespół niepożądanых zachowań żywieniowych młodzieży.*

Hasła kluczowe: analiza czynnikowa, częstość spożycia żywności, młodzież, zwyczaje żywieniowe.

Key words: factor analysis, food frequency intake, youth, food patterns.

Współzależność pomiędzy odżywianiem a zdrowiem budzi ogromne zainteresowanie wielu badaczy. Dostępne wyniki badań wskazują na prozdrowotny wpływ niektórych produktów, takich jak niskotłuszczowe produkty mleczne, warzywa, owoce, produkty sojowe lub pełnoziarniste produkty zbożowe, na zmniejszenie ryzyka chorób dietozależnych (1, 2, 3, 4). Odżywianie jest złożonym procesem obejmującym wiele cech występujących wspólnie i wzajemnie się warunkujących (5, 6, 7). Mogą one tworzyć pewne modele (wzory żywieniowe), które silniej niż pojedyncze cechy wpływają na stan zdrowia i ryzyko chorób o podłożu żywieniowym. Jak wykazały badania *Fung* i współpr. (6) „rozsądne zwyczaje żywieniowe”, związane z wyższym spożyciem warzyw, owoców, pełnoziarnistych produktów zbożowych i drobiu były pozytywnie skorelowane z korzystnym profilem biomarkerów, a „zachodnie zwyczaje żywieniowe”, związane z wyższym spożyciem czerwonego mięsa, wysokotłuszczowych produktów mlecznych i rafinowanych produktów zbożowych, były skorelowane z niekorzystnym profilem biomarkerów

---

<sup>\*)</sup> Badania finansowano w ramach projektu KBN Nr 3 P05D 073 22.

chorób układu krążenia. Kolejna praca tego zespołu wykazała związek obu typów zwyczajów żywieniowych z dysfunkcją śródbłonna naczyń, która jest pierwszym krokiem do rozwoju zmian miażdżycowych (8). Zespół *Newby* (7) opisał 6 wzorów żywieniowych osób dorosłych i wykazał, że wzór żywieniowy charakteryzujący się wysokim spożyciem niskotłuszczowych produktów mlecznych i żywności obfitującej w błonnik może prowadzić do mniejszych rocznych przyrostów masy ciała u kobiet i mniejszych przyrostów obwodu talii u osób obu płci. W cytowanych pracach z powodzeniem wykorzystywano analizę czynnikową. Wykazano ponadto, że daje porównywalne wyniki z analizą skupień w odniesieniu do lipidowych wskaźników krwi, a wzory żywieniowe mogą być powtarzalnie wyłaniane, co sugeruje jej wysoką użyteczność w analizie zachowań żywieniowych ludzi (9, 7).

Celem przeprowadzonych badań było wyłonienie za pomocą analizy czynnikowej wspólnie występujących zwyczajów żywieniowych młodzieży i ich charakterystyka.

#### MATERIAŁ I METODYKA

Badania prowadzono jesienią 2002 i 2003 r. wśród 431 osób w wieku od 15 do 18 lat (średnio  $16,1 \pm 0,44$  lat). Badaną próbę stanowili uczniowie szkół średnich o różnych profilach. W badaniach założono podobną liczebność młodzieży mieszkającej na wsi, w małych miastach i dużym mieście regionu rolniczego, o małym stopniu uprzemysłowienia. Badania przeprowadzono w Olsztynie i wybranych miejscowościach regionu suwalskiego, które były typowe dla Polski Północno-Wschodniej i posiadały szkoły kształcące na poziomie średnim. Z małych miast regionu suwalskiego wybrano: Suwałki i Sejny, natomiast ze wsi: Przerośl i Dowspudę. Próbę do badań dobrano poprzez losowanie grupowe 2-warstwowe. Początkowo wylosowano 2+3 szkoły ponadpodstawowe z wyżej wymienionych miejscowości, a następnie po 2+3 klasy z każdej ze szkół.

W wywiadzie indywidualnym zebrano dane charakteryzujące badaną próbę, m.in. płeć, datę urodzenia i informacje o zwyczajach żywieniowych młodzieży, wykorzystując specjalnie przygotowany kwestionariusz z pytaniami typu zamkniętego (10, 11, 12). Częstość spożycia produktów określono w skali 7-punktowej z kategoriami: (1) nigdy, (2) 1–3 razy w miesiącu, (3) 1–2 razy w tygodniu, (4) 3–4 razy w tygodniu, (5) 5–6 razy w tygodniu, (6) 1–2 razy dziennie i (7) 3 razy dziennie lub częściej.

W analizie czynnikowej zmiennymi wejściowymi było 21 cech dotyczących częstości spożycia żywności. Zmienne wejściowe przed włączeniem do analizy czynnikowej poddano standaryzacji, tzn. przekształcono je w taki sposób, że wartość średnia każdej cechy wynosiła 0, a odchylenie standardowe 1. Analizę czynnikową prowadzono metodą głównych składowych, poddając czynniki rotacji Varimax znormalizowanej. Czynniki główne i ich liczbę określono kierując się ich wartościami własnymi ( $>1$ ) i wykresem osypiska. W podejmowaniu decyzji nie uwzględniono udziału wariancji w wyjaśnianiu każdego czynnika głównego, ponieważ jest bardzo uzależnione od liczby czynników wejściowych (9, 13). Wyłonione czynniki główne, nazywane dalej wzorami, zidentyfikowano w oparciu o wartości ładunków czynnikowych (współczynników korelacji) pomiędzy zmienną wejściową a utworzonym wzorem. Wzorom nadano nazwy kierując się właściwościami zmiennych wejściowych i ich wartościami. Przyjęto, że nazwę wzoru tworzyły te zmienne wejściowe, które miały wysokie i dodatnie wartości ładunków czynnikowych (7, 13). Za punkt odjęcia przyjęto  $r=0,5$ . Dla każdego ze wzorów wyznaczono przedziały kwintylowe (Q1, Q2, Q3, Q4 i Q5), a następnie obliczono średnią częstość spożycia produktów (po jej przeliczeniu na krotność/dzień) w każdym ze wzorów i wyznaczono poziom istotności dla trendu. Analizę statystyczną przeprowadzono programem komputerowym Statistica PL v.6.0.

## WYNIKI I Dyskusja

Zidentyfikowano 8 wzorów żywieniowych, które opisywały wzajemną współzależność częstości spożycia 21 produktów przez młodzież. Nazwano je kolejno: soki owocowe i warzywne (15,8% udziału w wyjaśnianiu wariancji), alkohole (9,8%), mięso wieprzowe i drobiowe (7,7%), przekąski, słodczyce i słodkie napoje (6,5%), strączkowe suche, ryby i mięso wołowe (6,5%), warzywa, owoce i razowe pieczywo (5,7%), margaryna (5,2%), napoje mleczne (5,0%). Łączny udział 8 wzorów w wyjaśnianiu wariancji wyniósł 62,2% (tab. I).

Tabela I  
Ładunki czynnikowe i częstość spożycia żywności przez młodzież

Table I  
Factor loadings and food intake frequency in youth

Wzory i ich składowe	r (V)	Częstość spożycia* (krotność/dzień)			
		ogółem (N)	Q1 (N)	Q5 (N)	p trendu
Wzór I: soki owocowe i warzywne	(15,8)	(414)	(84)	(83)	
soki owocowe	0,86	0,64±0,72	0,18±0,20	1,76±0,88	0,070
soki warzywne, warzywno-owocowe	0,84	0,39±0,56	0,10±0,09	1,02±0,94	0,37
Wzór II: alkohole	(9,8)	(414)	(82)	(82)	
piwo	0,77	0,05±0,10	0,00±0,01	0,19±0,17	0,133
wino	0,74	0,01±0,05	0,00±0,01	0,04±0,10	0,088
wódka, inne mocne alkohole	0,73	0,01±0,03	0,00±0,00	0,03±0,05	0,069
Wzór III: mięso wieprzowe i drobiowe	(7,7)	(414)	(82)	(83)	
wieprzowina	0,81	0,44±0,51	0,10±0,10	1,10±0,74	0,034
drób	0,77	0,45±0,40	0,16±0,11	0,91±0,543	0,008
Wzór IV: przekąski, słodczyce i słodkie napoje	(6,5)	(414)	(84)	(81)	
czipsy	0,75	0,37±0,53	0,14±0,13	1,02±0,89	0,092
słodczyce	0,73	0,80±0,70	0,35±0,25	1,67±0,98	0,033
słodkie napoje	0,61	0,75±0,77	0,26±0,27	1,58±1,06	0,019
frytki	0,60	0,16±0,20	0,07±0,04	0,34±0,317	0,030
Wzór V: strączkowe suche, ryby i mięso wołowe	(6,5)	(414)	(83)	(83)	
strączkowe suche	0,73	0,14±0,21	0,05±0,04	0,35±0,38	0,062
ryby	0,68	0,14±0,16	0,06±0,04	0,31±0,25	0,038
wołowina	0,51	0,13±0,18	0,06±0,06	0,25±0,32	0,019
Wzór VI: warzywa, owoce i razowe pieczywo	(5,7)	(414)	(81)	(82)	
surowe warzywa	0,67	0,65±0,60	0,19±0,24	1,29±0,80	0,008
razowe pieczywo	0,58	0,56±0,75	0,23±0,30	1,33±1,08	0,041
owoce	0,55	1,09±0,87	0,64±0,49	2,00±0,97	0,030
Wzór VII: margaryna	(5,2)	(414)	(80)	(83)	
margaryna	0,84	0,43±0,77	0,04±0,11	1,57±1,06	0,099
masło	-0,62	1,82±1,05	2,92±0,38	1,01±1,02	0,013
Wzór VIII: napoje mleczne	(5)	(410)	(85)	(82)	
mleko	0,81	0,96±0,85	0,29±0,31	2,23±0,84	0,026
mleczne napoje fermentowane	0,68	0,51±0,54	0,20±0,23	1,11±0,82	0,031

\*) średnia i odchylenie standardowe; r – ładunki czynnikowe; V – udział wyjaśnianej wariancji w %; N – liczebność; Q1 – kwintyl najniższy, Q5 – kwintyl najwyższy.

We wszystkich wzorach żywieniowych, z wyjątkiem VII, ładunki czynnikowe miały wartości dodatnie, co oznacza, że wzrost częstości spożycia jednego produktu tworzącego dany wzór był związany ze wzrostem częstości spożycia innych produktów z tego wzoru. Jedynie we wzorze VII stwierdzono tendencję do wzrostu częstości spożycia margaryny ( $r=0,84$ ; trend:  $p=0,099$ ), która była związana z istotnym obniżeniem częstości spożycia masła ( $r=-0,62$ ; trend:  $p=0,013$ ) (tab. I). Uzyskane wyniki potwierdzają, że margaryna i masło są tłuszczami ekwiwalentnymi, a rosnąca częstość spożycia

przez młodzież jednego z nich wyraźnie zmniejszała częstość spożycia drugiego. Znamienne jest, że względnie mały wzrost częstości spożycia margaryny wpływał na istotny spadek częstości spożycia masła. *Newby* i współpr. (7, 14) stwierdzili, że zwyczaj spożywania margaryny przez dorosłych mieszkających w Baltimore był silnie pozytywnie związany ze spożyciem olejów roślinnych i warzyw skrobiowych, a negatywnie ze spożyciem czekolady.

Mięso wieprzowe i drobiowe są także produktami, które mogą być wzajemnie zastępowane w żywieniu ludzi, lecz takiej zależności nie wykazano. Badana młodzież wraz ze wzrostem częstości spożycia mięsa wieprzowego (trend:  $p=0,034$ ) spożywała także częściej mięso drobiowe (trend:  $p=0,008$ ) (tab. I). Oznacza to równoległy wzrost częstości spożycia mięsa o dużej i małej zawartości tłuszczu i jest sprzeczne z zaleceniami, aby tłuste gatunki mięsa zastępować mięsem o małej zawartości tłuszczu (1). Obserwowane zależności wymagają dalszych badań zmierzających do wyjaśnienia: czy ich podłożem były preferencje młodzieży, uwarunkowania ekonomiczne czy np. ogólnie niskie spożycie mięsa? Odmienne wyniki dotyczące częstości spożycia mięsa i jego przetworów stwierdzono w badaniach realizowanych w Instytucie Onkologii (15). Potrawy mięsne o dużej zawartości tłuszczu, takie jak: kiełbasa, kotlet, hamburger, boczek i golonka, tworzyły spójny model żywienia, niezależny od spożywania innych produktów.

Wzory żywieniowe I, V, VI i VIII grupowały produkty o podobnej wartości odżywczej lub roli w profilaktyce chorób dietozależnych. We wzorze I istotny wzrost częstości spożycia soków warzywnych lub warzywno-owocowych (trend:  $p=0,037$ ) był związany z tendencją do rosnącej częstości spożycia soków owocowych (trend:  $p=0,070$ ), we wzorze VI wzrost częstości spożycia surowych warzyw (trend:  $p=0,008$ ) był związany ze wzrostem częstości spożycia razowego pieczywa (trend:  $p=0,041$ ) i owoców (trend:  $p=0,030$ ), a we wzorze VIII wzrost częstości spożycia mleka (trend:  $p=0,026$ ) – ze wzrostem częstości spożycia mlecznych napojów fermentowanych (trend:  $p=0,031$ ) (tab. I). Wspólne występowanie korzystnych cech odżywiania obejmujących wysokie spożycie niskotłuszczowych produktów mlecznych, gotowych do spożycia produktów zbożowych i owoców stwierdzili *Newby* i współpr. (7, 14). Wyłoniony przez nich wzór żywieniowy charakteryzował się ponadto niskim spożyciem wędlin, ziemniaków i mięsa. Opisane przez *Hu* (5) „rozsądne zwyczaje żywieniowe” były związane z wysoką częstością spożycia warzyw, produktów strączkowych, ryb i owoców morza, pełnoziarnistych produktów zbożowych i owoców.

Ciekawe relacje pomiędzy produktami przedstawia wzór V. Grupuje on strączkowe suche, ryby i mięso wołowe, które w założeniach profilaktyki żywieniowej są zaliczane do wymienników białkowych (1, 16). Uzyskane wyniki wskazują, że spożycie tych produktów przez młodzież było wzajemnie powiązane. Rosnąca tendencja częstości spożycia strączkowych suchych (trend:  $p=0,062$ ) była związana ze wzrostem częstości spożycia ryb (trend:  $p=0,038$ ) i mięsa wołowego (trend:  $p=0,019$ ) (tab. I). Te zachowania żywieniowe badanej młodzieży wykazują duże podobieństwo do „rozsądnego zwyczaju żywieniowego” opisanego przez zespół *Hu* (5, 6, 9).

Wzory żywieniowe II i IV grupują cechy „negatywne żywieniowo”. We wzorze IV tendencja do wzrostu częstości spożycia chipsów (trend:  $p=0,092$ ) była związana z istotnym wzrostem częstości spożycia słodczy (trend:  $p=0,033$ ), słodkich napojów (trend:  $p=0,019$ ) i frytek (trend:  $p=0,030$ ) (tab. I). Związek pomiędzy wysokim spożyciem słodkich napojów, niskotłuszczowych deserów mlecznych i żywności typu fast food odnotowali również *Newby* i współpr. (7). Wysokie spożycie tych produktów było jednocześnie związane z niskim spożyciem wysokotłuszczowych produktów mlecznych i alkoholu. Uzyskane wyniki wykazują jednak większe podobieństwo do wyników uzyskanych przez Instytut Onkologii (15). Jeden z opisanych wzorów żywieniowych Polaków, nazwany słodczy i „zapychacz”, wskazywał na pozytywny związek ze spożyciem ciastek, lodów i chipsów. Częstość spożycia frytek była charakterystyczna dla 2 wzorów żywieniowych, tj. słodczy i „zapychaczy” oraz tłustych produktów mięsnych.

We wzorze II znalazły się różne napoje alkoholowe. Wskazuje to, że młodzież spożywająca jeden z gatunków alkoholi spożywała także inne rodzaje alkoholi. Jednak w kolejnych kwintylach wzrost częstości spożycia piwa nie był istotny (trend:  $p=0,133$ ), a dla wina i mocnych alkoholi miał cechy tendencji (odpowiednio trend:  $p=0,088$  i  $p=0,069$ ) (tab. I). Spożycie alkoholi stanowiło odrębną cechę zachowań żywieniowych młodzieży i nie było związane ze spożyciem żadnego produktu. W świetle uzyskanych wyników należy przypuszczać, że działania zmierzające do ograniczenia konsumpcji alkoholu przez młodzież nie wpłyną na zmiany w spożyciu żywności, zarówno pozytywne, jak i negatywne.



## PODSUMOWANIE

Zidentyfikowano 8 wzorów żywieniowych, które opisywały wzajemną współzależność częstości spożycia żywności przez młodzież. Cztery spośród nich charakteryzowały się korzystnymi cechami odżywiania związanymi z wysoką częstością spożycia soków owocowych i warzywnych, produktów strączkowych, ryb, mięsa wołowego, warzyw, owoców, razowego pieczywa i napojów mlecznych. Niepożądane zachowania żywieniowe były związane z wysoką częstością spożycia przekąsek, słodczy i słodkich napojów. Uzyskane wyniki potwierdzają, że analiza czynnikowa umożliwia wyłonienie charakterystycznych cech odżywiania i może być stosowana w analizie zachowań żywieniowych młodzieży.

A. Waluś, L. Wądołowska, R. Cichon, T. Długosz

ANALYSIS OF EATING HABITS OF JUVENILE PEOPLE  
FROM NORTH-EAST POLAND USING FACTOR ANALYSIS

Summary

Eating habits of juvenile people from North-Eastern Poland were studied by the factor analysis. The study included 431 people aged from 15 to 18. Eight nutritional patterns were formulated to describe correlation in food intake frequency of the youths. Beneficial features of consumption were included into 4 separate groups and were connected with high intake frequency of fruit and vegetable juices, legumes fish, beef, vegetables, fruit, whole grain products and dairy beverages. High intake frequency of snacks, sweets and sweet beverages was included into the group of unfavourable eating behaviours of the juvenile people.

## PIŚMIENNICTWO

1. WHO.: Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Technical Report Series 916. Genewa 2003. – 2. *Augustyniak U., Brzozowska A.*: Sposób żywienia młodzieży w Polsce na podstawie piśmiennictwa z ostatnich 10 lat (1990–2000). Rocz. PZH, 2002; 5(4): 399-406. – 3. *Bao W., Srinivasan S.R., Valdez R., Greenlund K.J., Wattingne W.A., Berenson G.S.*: Longitudinal changes in cardiovascular risk from childhood to young adulthood in offspring of parents with coronary artery disease: the Bogalusa Heart Study. JAMA, 1997; 278: 1749-1754. – 4. *Dietz W.H.*: Childhood weight affects adult morbidity and mortality. J. Nutr., 1998; 128: 411S-414S. – 5. *Hu F.B.*: Plant-based foods and prevention of cardiovascular disease: an overview. Am. J. Clinical Nutrition, 2003; 78: 544-551. – 6. *Fung T.T., Rimm E.B., Spiegelman D., Rifai N., Tofler G.H., Willett W.C., Hu F.B.*: Association between dietary patterns and plasma biomarkers of obesity and cardiovascular disease risk. Am. J. Clinical Nutrition, 2001; 73: 61-67. – 7. *Newby P.K., Muller D., Hallfrisch J., Andres R., Tucker K.L.*: Food patterns measured by factors analysis and antropometric changes in adults. Am. J. Clinical Nutrition, 2004; 80: 504-513. – 8. *Lopez-Garcia E., Schulze M.B., Fung T.T., Meigs J.B., Rifai N., Manson J.E., Hu F.B.*: Major dietary patterns are related to plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction. Am. J. Clinical Nutrition, 2004; 80: 1029-1035. – 9. *Hu F.B., Grimm E., Smith-Warner S.A., Feskanich D., Stampfer M.J., Ascherio A., Sampson L., Willett W.C.*: Reproducibility and validity of dietary patterns assessed with a food-frequency questionnaire. Am. J. Clinical Nutrition., 1999; 69: 243-249. – 10. *Gibson R.S.*: Principles of nutritional assessment. Oxford University Press, New York, Oxford, 1990; 37-136.

11. *Jędrychowski W.*: Metody zbierania wywiadów lekarskich i budowa kwestionariuszy zdrowotnych. Wyd. PZWL, Warszawa, 1982. – 12. *Wądołowska L., Cichon R.*: Ocena sposobu żywienia. Ankiety do badania zwyczajów i upodobań żywieniowych. Wyd. ART, Olsztyn 1995. – 13. StatSoft. 2000. Redukcja danych. Analiza czynnikowa (Materiały kursowe). StatSoft, Polska. – 14. *Newby P.K.*,

*Muller D., Tucker K.L.*: Associations of empirically derived eating patterns with plasma lipid biomarkers: a comparison of factor and cluster analysis methods. *Am. J. Clinical Nutrition*, 2004; 80: 759-767. – 15. *Ostrowska A.*: Styl życia a zdrowie. *Z zagadnień promocji zdrowia*. Wyd. IFiS PAN, Warszawa 1999: 52-62. – 16. *Ziemiański, Ś., & Panczenko-Kresowska B.*: Podstawowe zalecenia żywieniowe. Warszawa: Wyd. IŻŻ, 1998.

Adres: 85-626 Bydgoszcz, ul. Dębowa 3.

*Barbara Smorczevska-Czupryńska, Jolanta Ustymowicz-Farbiszewska,  
Mariola Kozłowska, Jan Karczewski*

OCENA WARTOŚCI ENERGETYCZNEJ, ZAWARTOŚCI  
KWASÓW TŁUSZCZOWYCH, CHOLESTEROLU I BŁONNIKA  
W DIETACH MŁODZIEŻY GIMNAZJALNEJ  
ZAMIESZKAŁEJ NA TERENIE WOJ. PODLASKIEGO

Zakład Higieny i Epidemiologii Akademii Medycznej w Białymstoku  
Kierownik: prof. dr hab. *J. Karczewski*

*Metodą 24-godz. wywiadu żywieniowego dokonano oceny zawartości kwasów tłuszczowych, cholesterolu i błonnika w całodziennych racjach pokarmowych (CRP) młodzieży gimnazjalnej. Stwierdzono, że proporcje frakcji kwasów tłuszczowych w dietach badanej młodzieży obu płci były nieprawidłowe. Zawartość cholesterolu i błonnika odbiegała od normy tylko w niektórych grupach młodzieży.*

Hasła kluczowe: racje pokarmowe, młodzież gimnazjalna, kwasy tłuszczowe, cholesterol, błonnik.

Key words: daily food ration, junior high school, fatty acids, fiber.

Żywienie młodzieży jest ważnym czynnikiem warunkującym harmonijny rozwój młodego organizmu. Odgrywa również znaczącą rolę w braku chorób przewlekłych w dalszych okresach życia (1).

Prawidłowo zbilansowane dzienne racje pokarmowe młodzieży powinny dostarczać odpowiednią ilość energii oraz optymalne ilości podstawowych składników odżywczych, soli mineralnych i witamin. Wyniki badań w ostatnich latach w Polsce wskazują, że diety populacji w wieku rozwojowym charakteryzują się dużą zawartością tłuszczów (zwłaszcza nasyconych) i białek, niską węglowodanów, zaś w wielu racjach pokarmowych brakuje wapnia i magnezu, witamin z grupy B oraz witamin o właściwościach antyoksydacyjnych (2, 3, 4, 5, 6).

Celem pracy była ocena wartości energetycznej diet młodzieży gimnazjalnej z 2 losowo wybranych szkół z terenu woj. podlaskiego i określenie w nich zawartości frakcji kwasów tłuszczowych, cholesterolu i błonnika.

#### MATERIAŁ I METODY

W badaniach wykorzystano materiały pierwotne, którymi były 24-godzinne wywiady żywieniowe (wykonane wg zaleceń IŻŻ). Objęły one 138 dziewcząt i 153 chłopców, uczniów szkół gimnazjalnych w wieku 13–15 lat z okolic Białegostoku. W doborze szkół i uczniów wykorzystano metodę losowania zespołowego. Wylosowano 2 szkoły: I z okolicy podmiejskiej (położoną kilkanaście km od miasta) i II z typowo rolniczej części woj. podlaskiego (położoną kilkadziesiąt km od miasta).

Wielkość spożytych przez młodzież porcji oszacowano w miarach domowych, korzystając z „Albumu porcji produktów i potraw” (7). Wartość energetyczną oraz zawartość podstawowych składników odżywczych, kwasów tłuszczowych, cholesterolu i błonnika obliczono przy pomocy programu komputerowego FOOD-3. Wyniki badań porównano z normą odpowiednią do płci i wieku dla umiarkowanej aktywności fizycznej (8).

Za prawidłowe uznano wartości zawarte między 90–110% realizacji normy. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej z zastosowaniem testu *t-Studenta*. Przyjęto, że dwie średnie różnią się między sobą w sposób istotny statystycznie, jeżeli  $p \leq 0,05$ .

## WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

W tab. I przedstawiono wartość energetyczną i zawartość poszczególnych składników pokarmowych w CRP badanej młodzieży. Wartość energetyczna diet młodzieży obu płci ze szkoły II jest wyraźnie niższa w porównaniu z wartością energetyczną diet uczniów ze szkoły I. Zawartość białek, tłuszczów i węglowodanów w CRP uczniów ze szkoły II jest niższa w stosunku do zawartości tych składników w dietach uczniów ze szkoły I. Różnice te są statystycznie istotne.

Tabela I  
Wartość energetyczna i zawartość poszczególnych składników odżywczych  
w całodziennych racjach pokarmowych badanej młodzieży

Table I  
Energy value and content of nutrients in daily food rations of examined adolescents

	Szkoła I		Szkoła II	
	chłopcy N = 91	dziewczeta N = 79	chłopcy N = 62	dziewczeta N = 59
Energia (kcal)	3306,2*	2316,9**	2364,9*	1658,3**
% realizacji normy na energię	126,0	100,2	90,1	72,0
Białko (g)	101,2*	69,6**	70,5*	49,4**
Tłuszcze (g)	125,9*	86,6**	86,5*	63,0**
% realizacji normy na tłuszcze	107,1	108,5	102,9	110,1
Węglowodany (g)	466,6*	332,8**	343,9*	238,2**

\*, \*\* – różnice istotne statystycznie.

Wyniki badań innych autorów (1) są zbieżne z danymi uzyskanymi w niniejszej pracy. Stwierdzono, że CRP młodzieży płci żeńskiej często nie zapewnia prawidłowej podaży energii. Należy przypuszczać, że dziewczeta bardziej niż ich rówieśnicy dbają o swoją sylwetkę stosując umiarkowaną kaloryczną dietę. Najniższą wartością energetyczną wśród badanych charakteryzowały się diety uczennic ze szkoły II, bowiem realizacja normy na energię w tej grupie była na poziomie 72%. Wartość kaloryczna diet chłopców ze szkoły I jest wysoka i utrzymuje się na poziomie 126%, co w konsekwencji może prowadzić do otyłości. Podobny % realizacji normy na energię w dietach młodzieży płci męskiej wykazali w swoich badaniach *Ilow* i współpr. (9).

Tabela II przedstawia % udział energii z podstawowych składników odżywczych w CRP badanej młodzieży. Procentowy udział energii z białek w dietach jest podobny niezależnie od płci i nie przekracza 12,5%. Wprawdzie % udział energii z białek w CRP nie powinien przekraczać 12%, lecz badani są w wieku 13–15 lat a więc w okresie intensywnego rozwoju. Udział energii z tłuszczów jest wysoki zwłaszcza w dietach dziewcząt ze szkoły II, z węglowodanów we wszystkich badanych grupach waha się w granicach 54–55,5% jest więc za niski, ponieważ normy WHO/FAO (za 10) zalecają 55–75%.

Wyniki badań sugerują, że wiedza młodzieży w analizowanym przedziale wieku na temat racjonalnego zestawienia poszczególnych produktów odżywczych jest niewystarczająca. Badana młodzież obu płci, a szczególnie dziewczeta ze szkoły II, spożywają duże ilości produktów wysokotłuszczowych i ubogich w węglowodany. Źle zbilansowana dieta w okresie intensywnego rozwoju psychofizycznego może przyczynić się do zwiększonego ryzyka powstania chorób na tle nieprawidłowego żywienia w dalszym okresie życia (6).

Tabela II  
 Podaż energii w składnikach odżywczych całodziennych racji pokarmowych badanej młodzieży

Table II  
 Energy supply in nutrients of daily food rations of examined adolescents

% udział energii	Szkoła I		Szkoła II	
	chłopcy	dziewczęta	chłopcy	dziewczęta
białka	12,5	12,3	12,3	12,1
tluszcze	33,5	32,4	33,4	33,4
węglowodany	54,0	55,3	54,3	54,5

Maruszewska i współpr. (11) analizując diety młodzieży poznańskiej stwierdzili znacznie wyższe dysproporcje w badanych CRP. Tłuszcze stanowiły 37–38% wartości energetycznej diet, co rzutowało na niską zawartość węglowodanów. Natomiast Ostrowska i współpr. (1) badając zawartość tego składnika w jadłospisach młodzieży z woj. mazowieckiego stwierdzili realizację normy na poziomie 80% w dietach dziewcząt i 118% w jadłospisach chłopców. Wyżej cytowane wyniki badań są porównywalne z zawartymi w niniejszej pracy ponieważ w obliczeniach zastosowano również program komputerowy FOOD 3.

W tab. III przedstawiono zawartość kwasów tłuszczowych, cholesterolu i błonnika w CRP badanej młodzieży.

Tabela III  
 Zawartość kwasów tłuszczowych, cholesterolu i błonnika w całodziennych racjach pokarmowych badanej młodzieży

Table III  
 Content of fatty acids, cholesterol and dietary fibre in daily food rations of examined adolescents

	Szkoła I		Szkoła II	
	chłopcy	dziewczęta	chłopcy	dziewczęta
Kwasy tłuszczowe nasycone (g)	51,2*	34,5**	30,6*	23,1**
Kwasy tłuszczowe jednonienasycone (g)	48,7*	34,0**	36,9*	25,2**
Kwasy tłuszczowe wielonienasycone (g)	16,0	12,8	13,6	9,0
Cholesterol (mg)	394,7*	277,6**	216,6*	156,2**
Błonnik (g) norma (20 g/dzień)	28,9*	22,9**	21,0*	13,9**

\*, \*\* – różnice istotne statystycznie.

Zawartość kwasów tłuszczowych nasyconych i jednonienasyconych w jadłospisach młodzieży obu płci ze szkoły I w porównaniu z zawartością tych kwasów w dietach młodzieży ze szkoły II jest ponad 1,5 razy wyższa. Różnice te są statystycznie istotne. Wydaje się, że różnice te wynikają z niższej kaloryczności i niższej zawartości tłuszczów w CRP uczniów ze szkoły II. Zawartość kwasów tłuszczowych wielonienasyconych w jadłospisach młodzieży była niska i nie przekraczała 16 g.

Wielu autorów analizowało w swoich doniesieniach w/w parametry. Iłow i współpr. (9, 12) stwierdzili nieco niższą zawartość kwasów tłuszczowych nasyconych w dietach młodzieży z Głogowa i Lubina w porównaniu z wartościami analizowanymi w niniejszym doniesieniu. Zawartość kwasów tłuszczowych wielonienasyconych była dwukrotnie wyższa w CRP młodzieży badanej przez w/w autorów w porównaniu z zawartością tych kwasów w jadłospisach młodzieży z okolic Białegostoku. Ostrowska i współpr. (13) podkreślają, że w żywieniu nastolatków z woj. mazowieckiego dominują kwasy nasycone i jednonienasycone co jest zbliżone z wynikami otrzymanymi w niniejszej pracy.

W tab. III przedstawiono również zawartość cholesterolu i błonnika w dietach badanej młodzieży. Tylko diety chłopców ze szkoły I zawierały wysokie wartości cholesterolu (ponad 300 mg), w pozostałych CRP zawarty był między wartościami 156–276 mg. Różnice w zawartości cholesterolu w analizowanych grupach uczniów były statystycznie istotne. Ważną rolę w żywieniu zdrowego

człowieka odgrywa błonnik, bowiem tworzy wiązania z lipidami pokarmu i żółci (14). Zawartość błonnika w dietach młodzieży płci męskiej z obu szkół oraz dziewcząt ze szkoły I przekraczała 20 g. Jedynie w CRP dziewcząt ze szkoły II wartość ta była niższa i wynosiła ok. 14 g. Różnice w zawartości tego składnika w dietach poszczególnych grup młodzieży były znamienne statystycznie.

W tab. IV przedstawiono wzajemne proporcje poszczególnych kwasów tłuszczowych oraz % udział dostarczanej energii. Stosunek ilości kwasów nasyconych i jednonienasyconych był zbliżony do 1, kwasy te dostarczały ok. 26% energii ogółem w racjach pokarmowych dziewcząt i chłopców. Z punktu widzenia żywienia profilaktycznego stwierdzony udział energii z kwasów nasyconych jest za wysoki w proporcji do zalecanego poziomu wynoszącego nie więcej niż 10% (13). Zawartość kwasów tłuszczowych wielonienasyconych we wszystkich analizowanych dietach była niska a % energii wynosił ok. 5. Zawartość i procentowy udział energii z kwasów tłuszczowych wielonienasyconych w CRP młodzieży z woj. mazowieckiego był nieznacznie wyższy (przekraczał 5%) w stosunku do udziału tego składnika w jadłospisach uczniów z woj. podlaskiego.

Tabela IV

Proporcje i odsetek ogółu energii z kwasów tłuszczowych w całodziennych racjach pokarmowych badanej młodzieży

Table IV

Proportions and percentage of total energy from fatty acids in daily food rations of examined adolescents

		Chłopcy			Dziewczęta		
		kwasы tłuszczowe					
		nasycone	jednonienasycone	wielonienasycone	nasycone	jednonienasycone	wielonienasycone
Szkoła I	proporcje	3,2	3,04	1,0	2,7	2,6	1,0
	% ogółu energii	13,6	12,9	4,3	13,0	12,5	4,9
Szkoła II	proporcje	2,25	2,7	1,0	2,6	2,8	1,0
	% ogółu energii	11,8	14,2	4,4	12,3	13,3	4,8

FAO/WHO (za 10) zaleca w dietach populacji z krajów rozwiniętych zmniejszenie ogółu energii pochodzącej z kwasów tłuszczowych nasyconych do wartości mniejszych niż 7% i zwiększenie ilości energii z kwasów tłuszczowych wielonienasyconych do 6–10%, a zawartość cholesterolu pokarmowego utrzymać na poziomie mniejszym niż 300 mg na dzień.

Przedstawione wyniki wskazują, że skład diet badanej młodzieży obu płci w wieku 13–15 lat jest nieodpowiedni. Wprawdzie w analizowanych dietach nie stwierdzono przekroczeń ilości tłuszczów ogółem jednak wszędzie udział energii z tłuszczów przekraczał 100% zalecanej normy. Wzajemne proporcje kwasów tłuszczowych wskazują, że sposób żywienia młodzieży ma charakter miążdżycorodny a niska podaż błonnika pokarmowego zwiększa zagrożenie zdrowia w przyszłości. Wymaga to wzmocnienia działań edukacyjnych w zakresie zmian sposobu żywienia młodzieży, co sugerują także inni autorzy (10). Szczególną uwagę należy zwrócić na spożywanie takich produktów jak np. ryby morskie (przynajmniej 2× w tygodniu), które są doskonałym źródłem wielonienasyconych kwasów tłuszczowych.

## WNIOSKI

1. W zależności od usytuowania szkoły stwierdzono istotne różnice w dietach badanych ze względu na podaż energii, podstawowych składników pokarmowych, błonnika pokarmowego i cholesterolu.

2. Stwierdzono nieprawidłowe wzajemne proporcje kwasów tłuszczowych w badanych dietach.

3. Wyniki badań wskazują, że młodzież gimnazjalna powinna być objęta programem edukacji prozdrowotnej w zakresie zasad racjonalnego żywienia.

B. Smorczevska-Czupryńska, J. Ustymowicz-Farbiszewska,  
M. Kozłowska, J. Karczewski

ASSESSMENT OF ENERGY VALUE, CONTENT OF FATTY ACIDS,  
CHOLESTEROL AND FIBRE IN THE DIETS  
OF GYMNASIUM ADOLESCENTS IN PODLASIE PROVINCE

Summary

The study assessed the energy value of daily food rations as well as the content of cholesterol and dietary fibre and mutual proportions of fatty acids. A 24-hour dietary history was used (according to the recommendations of the National Food and Nutrition Institute) to examine 291 gymnasium students aged 13-15 years from Podlasie Province. FOOD 3 software was used for the calculations. The results were compared with the values recommended for specified age, gender and moderate physical activity and subjected to statistical analysis. The energy value was found to be normal in a half of the diets examined, in the remaining diets the content of fats exceeded 100% of the recommended values. The proportion of saturated and monounsaturated acids to polyunsaturated acids were not optimal. There was a considerable variation in the content of dietary fibre and cholesterol in daily food rations depending on school location and gender.

PIŚMIENNICTWO

1. *Ostrowska A., Szewczyński J., Gajewska M.*: Wartość odżywcza całodziennych racji pokarmowych uczniów szkół średnich z województwa mazowieckiego. Cz. I. Składniki podstawowe. Żyw. Człow. Metab., 2003; 362-366. – 2. *Smorczevska-Czupryńska B., Ustymowicz-Farbiszewska J., Karczewski J., Filon J., Weglińska A.*: Diets of junior high school students – energy value and basic nutritional components in the respective seasons on the year. Polish Journal of Environmental Studies, 2004; 13(2): 508-511. – 3. *Ustymowicz-Farbiszewska J., Smorczevska-Czupryńska B., Kozłowska M., Karczewski J., Filon J.*: Analiza zawartości wapnia w dietach młodzieży gimnazjalnej z Białegostoku i okolic. Bromat. Chem. Toksykol. Suplement 2005; 203-207. – 4. *Ustymowicz-Farbiszewska J., Smorczevska-Czupryńska B., Karczewski J., Filon J., Siniło M.*: Ocena zawartości magnezu w dietach młodzieży gimnazjalnej z Białegostoku i okolic. Journal of Elementology 2005; 10,(1): 185-191. – 5. *Smorczevska-Czupryńska B., Ustymowicz-Farbiszewska J., Kozłowska M., Karczewski J., Filon J.*: Analiza stanu odżywienia witaminami grupy B młodzieży gimnazjalnej z Białegostoku i okolic. Bromat. Chem. Toksykol. Suplement 2005; 123-127. – 6. *Augustyniak U., Brzozowska A.*: Sposób żywienia młodzieży w Polsce na podstawie piśmiennictwa z ostatnich 10 lat (1990–2000). Roczn. PZH, 2002; 53(4): 399-406. – 7. *Szponar L., Wolnicka K., Rychlik E.*: Album fotografii produktów i potraw. IŻŻ, Warszawa 2000. – 8. *Ziemlański Ś., Buthak-Jachymczyk B., Budzyńska-Topolowska J., Panczenko-Kresowska B., Wartanowicz M.*: Normy żywienia dla ludności w Polsce (energia, białko, tłuszcz, witaminy i składniki mineralne). Nowa Med., 1998; (4): 9-14. – 9. *Iłow R., Regulska-Iłow B., Szymczak J.*: Ocena sposobu żywienia chłopców ze szkół średnich z Głogowa i Lubina. Cz. II. Ocena ilościowa. Bromat. Chem. Toksykol. 1999; 1: 43-50. – 10. *Kozłowska-Wojciechowska M.*: Rola kwasów omega-3 w redukcji ryzyka choroby niedokrwiennej serca. Czynniki ryzyka. 2004; 1-2: 61-65.

11. *Maruszewska M., Duda G., Gertig H., Przysławski J.*: Ocena wartości odżywczej całodziennych racji pokarmowych młodzieży szkół średnich. Cz. I. Składniki podstawowe. Bromat. Chem. Toksykol. 1998; 31(3): 207-212. – 12. *Iłow R., Regulska-Iłow B., Szymczak J.*: Ocena sposobu żywienia dziewcząt ze szkół średnich z Głogowa i Lubina. Cz. II. Ocena ilościowa. Bromat. Chem. Toksykol. 1999; 1: 27-33. – 13. *Ostrowska A., Szewczyński J.*: Charakterystyka kwasów tłuszczowych i cholesterolu w racjach pokarmowych młodzieży szkolnej z województwa mazowieckiego. Bromat. Chem. Toksykol. 2002; 4, 323-327. – 14. *Narajek L.*: Zmiany w żywieniu dzieci szkolnych ze wsi lubelskiej po upływie ćwierćwiecza. Medycyna Ogólna. 1999; 5: 314-324.





*Ewa Przysiężna, Karina Banachowicz*

## OSZACOWANIE ZAWARTOŚCI TŁUSZCZU W DIETACH STUDENTÓW

Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Zwierzęcego  
Akademii Ekonomicznej we Wrocławiu  
Kierownik: dr hab. inż. *J. Wołoszyn* prof. AE

*Celem pracy było oszacowanie: wartości energetycznej i zawartości tłuszczu z uwzględnieniem grup kwasów tłuszczowych oraz cholesterolu w CRP studentek i studentów. Stwierdzono nieodpowiednią zawartość tłuszczu, jak i proporcje między poszczególnymi grupami kwasów tłuszczowych co dobrze obrazuje wskaźnik Keysa. Wskaźnik Keysa wynosił dla CRP studentek ok. 42–45, a studentów 43–50.*

Hasła kluczowe: całodzienna racja pokarmowa, studenci, tłuszcz, kwasy tłuszczowe.

Key words: daily food rations, students, fat, fatty acids.

Uważa się, że procesy spożywania, trawienia, wchłaniania i wykorzystywania składników żywności znajdują się pod kontrolą genetyczną i to, czym dysponuje organizm, zależy zarówno od dostępności żywności o odpowiedniej wartości odżywczej, jak i od osobniczego profilu genetycznego (1). Prawidłowe żywienie jest czynnikiem środowiskowym w istotny sposób oddziałującym na zdrowie człowieka jako jednostki, a tym samym na prawidłowe zachowanie ciągłości populacji ludzkiej (2). Cywilizacja przynosi ze sobą wiele zagrożeń dla jakości żywienia oraz wprowadza złe nawyki żywieniowe. Brak znajomości zasad racjonalnego odżywiania się człowieka we wszystkich okresach życia można zaliczyć do podstawowych przyczyn złego stanu odżywienia, przynajmniej w krajach rozwiniętych gospodarczo.

Zainteresowanie tłuszczami pokarmowymi wynika z udokumentowanej zależności pomiędzy wysokim spożyciem tłuszczu, a rozwojem chorób cywilizacyjnych, zwłaszcza miażdżycy, otyłości, niektórych chorób nowotworowych (3, 4, 5). W krajach rozwiniętych, choroby związane z niewłaściwym sposobem odżywiania występują bardzo często. Zjawisko to związane jest między innymi z nadmiernym spożyciem tłuszczów, a także ich niekorzystnym pod względem żywieniowym składem w diecie. Ich wpływ na zdrowie wynika głównie z proporcji między kwasami tłuszczowymi nasyconymi, monoenowymi i polienowymi, a szczególnie polienowymi z rodziny n-3 (6) i n-6, a także z obecności kwasów tłuszczowych w konfiguracji *trans* (7).

Celem pracy było oszacowanie: wartości energetycznej, zawartości tłuszczu z uwzględnieniem grup kwasów tłuszczowych oraz cholesterolu w całodziennych racjach pokarmowych (CRP) studentek i studentów.

#### MATERIAŁ I METODYKA

Materiał badawczy stanowiły 24 godz. wywiady żywieniowe przeprowadzone wśród studentek i studentów II roku Akademii Ekonomicznej we Wrocławiu jesienią, zimą i wiosną na przełomie roku 2000/2001. Wywiady objęły w okresie jesieni 82 studentki i 33 studentów; zimy 97 studentek i 49 studentów i wiosny 102 studentki i 48 studentów. Do weryfikacji wielkości porcji spożytych posiłków wykorzystano „Albumu porcji produktów i potraw” (8). W oparciu o przeprowadzone wywiady, za pomocą programu komputerowego FOOD 3.0. oszacowano wartość energetyczną, zawartość: tłuszczu ogółem, kwasów tłuszczowych nasyconych, monoenowych, polienowych oraz cholesterolu w CRP studentek i studentów. Średnią arytmetyczną, odchylenie standardowe obliczono za pomocą programu MS Excel 2000. Uzyskane wyniki zgodnie z zaleceniami IŻŻ poddano redukcji jednostopniowej i zmniejszono o 10% wartość energetyczną oraz zawartość tłuszczów, ze względu na straty nieuniknione. Otrzymane wyniki porównano z normami żywieniowymi IŻŻ dla kobiet i mężczyzn umiarkowanie ciężko pracujących w wieku 19–25 lat (9) oraz zaleceniami opracowanymi przez ekspertów WHO/FAO w 2003 r. (10).

#### WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wyniki uzyskane z obliczeń z zastosowaniem programu FOOD opracowanego na podstawie tabel wartości odżywczej produktów spożywczych z 1998 r. wykazują dużą zgodność z wynikami oznaczeń analitycznych wartości energetycznej i zawartości tłuszczu w racjach pokarmowych (11), natomiast zastosowanie innej bazy danych daje teoretyczne wyniki wyższe niż uzyskane metodą analityczną (12) albo niższe (13).

Średnia wartość energetyczna CRP ankietowanych studentek wynosiła 7538–7989 kJ (tab. I), a studentów 11135–14115 kJ (tab. II). Wartość energetyczna 58% CRP ankietowanych studentek była niższa od zalecanego poziomu, poziom prawidłowy stwierdzono w 30% CRP, a w 12% CRP przekraczała poziom zalecany (tab. III). Natomiast w przypadku ankietowanych studentów w 38% CRP stwierdzono prawidłową wartość energetyczną, mniej – w porównaniu do studentek – miało wartość energetyczną poniżej poziomu zalecanego – 32%, ale aż w 30% CRP wartość energetyczna przekraczała poziom zalecany (tab. IV).

Udział energii z tłuszczów w energii ogółem badanych CRP studentek wynosił 30% (tab. I) i odpowiadał zaleceniom IŻŻ (9), natomiast w przypadku studentów wynosił 33–38% (tab. II) i przekraczał poziom zalecany przez IŻŻ (9).

Średnia zawartość tłuszczu w CRP studentek wynosiła 61–64 g (tab. I) i podobnie jak wartość energetyczna była niższa od poziomu zalecanego. W przypadku studentów zawartość tłuszczu w CRP była bardzo zróżnicowana w poszczególnych porach roku i wynosiła 98–142 g (tab. II) i przekraczała poziom zalecany.

Zaledwie w 21% CRP studentek i w 22% CRP studentów zawartość tłuszczu odpowiadała normie, w 27% CRP studentów i aż w 62% CRP studentek była poniżej, a w 17% CRP studentek i aż w 51% CRP studentów przekraczała ilości zalecane (tab. III, tab. IV).

Zróżnicowane wyniki uzyskane w różnych porach roku mogą wskazywać, że sposób żywienia się studentów jest przypadkowy i nie opiera się na zasadach prawidłowego żywienia.

Nadmierną podaż tłuszczu stwierdzili też inni w CRP różnych grup ludności w żywieniu indywidualnym (12, 14, 15, 16), a w żywieniu zbiorowym w odniesieniu do norm dla dziewcząt i kobiet (17, 18, 19). Spożywanie tłuszczu, przekraczające fizjologiczne zapotrzebowanie ustroju jest bardzo niekorzystne dla organizmu człowieka, ponieważ podwyższa ono wartość energetyczną racji pokarmowych, co może prowadzić do otyłości, zwiększając ryzyko wystąpienia choroby wieńcowej, kamieni żółciowych, nowotworów jelita grubego, gruczołu sutkowego, gruczołu krokowego (5, 20).

Wiadomo, że tłuszczu nie można całkowicie wyeliminować z pożywienia, gdyż powodowałoby to wystąpienie objawów chorobowych związanych z niedoborem polienowych kwasów tłuszczowych,

a także upośledzenie wchłaniania witamin rozpuszczalnych w tłuszczach. Za minimalną granicę spożycia tłuszczu przez dorosłego człowieka przyjmuje się ok. 15% energii dziennej racji pokarmowej. Kobiety w wieku reprodukcyjnym nie powinny otrzymywać mniej niż 20% energii z tłuszczu (7).

Energia z kwasów tłuszczowych nasyconych w CRP studentek wynosiła ok. 12% energii ogółem (tab. I), a studentów 12–15% (tab. II); przy zaleceniach FAO/WHO na poziomie 10% (10), a nawet 8% (7).

Tabela I  
Wartość energetyczna i zawartość tłuszczów w CRP studentek

Table I  
Energy and fat intake in DFR of female students

Składniki odżywcze	Jesień $\bar{x} \pm SD$	Zima $\bar{x} \pm SD$	Wiosna $\bar{x} \pm SD$	Norma dla kobiet
energia (kcal)	1906 ± 763	1831 ± 646	1799 ± 747	1950–2600
energia (kJ)	7989 ± 3199	7675 ± 2707	7538 ± 3132	8200–10900
tłuszcz ogółem (g)	64 ± 43	61 ± 30	64 ± 37	65–87
ogółem nasycone KT (g)	26 ± 19	23 ± 13	23 ± 14	
ogółem monoenowe KT (g)	23 ± 18	23 ± 13	23 ± 14	
ogółem polienowe KT (g)	12 ± 11	10 ± 7	11 ± 13	
indeks P/S	0,46	0,43	0,48	0,7
% energii z tłuszczów	30	30	32	30
KT nasycone – % energii ogółem	12	11	12	
KT monoenowe % – energii ogółem	11	11	11	
KT polienowe – % energii ogółem	6	5	6	3
KTP z rodziny n-6 (g)	10,02	8,21	9,56	
KTP z rodziny n-3 (g)	1,14	1,39	1,65	
n-6/n-3	8,79	5,91	5,79	4-5
EPA i DHA (g)	0,029	0,26	0,31	
KT w konfiguracji <i>trans</i> (g)	3,76	3,26	3,08	
cholesterol (mg)	215 ± 253	337 ± 381	357 ± 408	300
wskaźnik Keysa	42	43	45	

$\bar{x}$  – Wartość średnia;  $\pm SD$  – odchylenie standardowe; KT – kwasy tłuszczowe; indeks P:S gdzie: P – kwasy tłuszczowe polienowe, S – kwasy tłuszczowe nasycone, EPA – kwas ikozapentaenowy, DHA – kwas dokozaheksaenowy. Wskaźnik Keysa (26).

$$\text{Wskaźnik Keysa} = 1,35 (2 \times \text{SFA} - \text{PFA}) + 1,5 \sqrt{\frac{\text{choldiet}}{1000[\text{kcal}]}}$$

SFA – % energii z nasyconych kwasów tłuszczowych.

PFA – % energii z polienowych kwasów tłuszczowych.

choldiet – cholesterol pokarmowy (w mg).

Zawartość kwasów tłuszczowych nasyconych w 18% CRP ankietowanych studentek i w 55% studentów przekraczała zalecany poziom (tab. III, IV).

Udział energii z kwasów tłuszczowych monoenowych w energii ogółem wynosił ok. 11% w CRP studentek (tab. I) i ok. 15% w CRP studentów (tab. II); przy zalecanych 16% (7).

Udział energii z kwasów tłuszczowych polienowych wynosił ok. 4–6% energii ogółem w CRP studentek i studentów (tab. I, II), przy czym za minimalne zapotrzebowanie przyjmuje się 3% energii ogółem (9), a za najkorzystniejszą ilość uważa się ok. 6% (7). Zapotrzebowanie na polienowe kwasy tłuszczowe jest zróżnicowane i zależy nie tylko od wieku, ale także stanu zdrowia i stanu fizjologicznego.

Średnia zawartość kwasów tłuszczowych z rodziny n-6 w CRP ankietowanych studentek wynosiła 8–10 g (tab. I), studentów 13–15 g (tab. II), a z rodziny n-3 odpowiednio ok. 1,5 g i 1,5–3 g. Dotychczas nie ustalono jeszcze optymalnej ilości spożycia kwasów polienowych z rodziny n-3 zarówno

dla człowieka zdrowego jak i chorego. Zaleca się aby wartość stosunku ilości kwasów tłuszczowych z rodziny n-6 do n-3 wynosiła 4–5 (9). FAO/WHO zaleca aby polienowe kwasy tłuszczowe dostarczały 6–10% (10). W analizowanych CRP wartość stosunku ilości kwasów tłuszczowych z rodziny n-6 do n-3 wynosiła ok. 5–9 (tab. I, II), a więc ilość kwasów tłuszczowych polienowych z rodziny n-3 była zbyt niska w porównaniu z ilością n-6. Stosunek ilości kwasów polienowych z rodziny n-6 do ilości z rodziny n-3 w fosfolipidach błon, wynikający z proporcji w diecie odgrywa decydującą rolę między innymi w regulacji przepuszczalności błon komórkowych, poziomu lipidów w osoczu krwi. Większość ludzi spożywa zbyt małe ilości kwasów tłuszczowych n-3 w porównaniu z n-6, co może zaburzać wymienione funkcje (21). Dla ochrony przed niekorzystnymi zmianami w procesie peroksydacji wewnątrzustrojowej kwasów tłuszczowych n-6 i n-3 zaleca się, aby w diecie stosunek  $\alpha$ -tokoferolu (w mg) do zawartości polienowych kwasów tłuszczowych (w g) wynosił 0,4–0,6 (wskaźnik Harrisa) lub też zaleca się częściowe zastąpienie kwasów tłuszczowych polienowych monoenowymi, które wykazują taki sam pozytywny wpływ na organizm, a nie stwierdzono ich wpływu niekorzystnego, jaki wykazują kwasy tłuszczowe polienowe (22).

Tabela II  
Wartość energetyczna i zawartość tłuszczów w CRP studentów

Table II  
Energy and fat intake in DFR of female students

Składniki odżywcze	Jesień $\bar{x} \pm SD$	Zima $\bar{x} \pm SD$	Wiosna $\bar{x} \pm SD$	Norma dla mężczyzn
energia (kcal)	2657 ± 1226	3368 ± 1429	2986 ± 1282	2700–3250
energia (kJ)	11135 ± 5140	14115 ± 5989	12513 ± 5372	11300–13700
tłuszcz ogółem (g)	98 ± 45	142 ± 80	119 ± 62	90–108
ogółem nasycone KT (g)	36 ± 16	58 ± 33	42 ± 24	
ogółem monoenowe KT (g)	41 ± 27	55 ± 36	48 ± 29	
ogółem polienowe KT (g)	15 ± 18	16 ± 10	18 ± 13	
index P:S	0,42	0,28	0,43	0,7
% energii z tłuszczów	33	38	36	30
KT nasycone % energii ogółem	12	15	13	
KT monoenowe % energii ogółem	14	15	14	
KT polienowe % energii ogółem	5	4	5	3
KTP z rodziny n-6 (g)	12,97	13,86	14,83	
KTP z rodziny n-3 (g)	1,51	2,46	3,12	
n-6/n-3	8,59	5,63	4,75	4–5
EPA i DHA (g)	0,15	0,38	1,12	
KT w konfiguracji <i>trans</i> (g)	5,93	7,02	6,44	
cholesterol (mg)	370 ± 260	612 ± 546	519 ± 450	300
wskaźnik Keysa	43	50	50	

Objaśnienia jak w tab. I.

Średnia oszacowana suma zawartości kwasów tłuszczowych z rodziny n-3 (20:5, 22:6), EPA (kwas all *cis*-5,8,11,14,17-ikozapentaenowy) i DHA (kwas all *cis*-4,7,10,13,16,19-dokozaheksaenowy) wynosiła 0,029–0,31 g w CRP ankietowanych studentek (tab. I) oraz 0,15–1,12 g w CRP studentów (tab. II), pokrywając 0,01–0,15% energii ogółem (CRP studentek) i 0,05–0,33% energii ogółem (CRP studentów) podczas, gdy jako zalecane minimum proponuje się ok. 0,44 g EPA i DHA dziennie, tj. ok. 0,1% energii.

Istotnym kryterium oceny żywieniowej tłuszczów spożywczych jest zawartość w nich izomerów trans nienasyconych kwasów tłuszczowych ze względu na negatywny wpływ na zdrowie człowieka. Występują one przede wszystkim w produktach pochodzenia roślinnego (0,1–72% tłuszczu), natomiast w produktach spożywczych pochodzenia zwierzęcego ich ilości są niewielkie (23). Zawartość izomerów

trans kwasów tłuszczowych w CRP studentów i studentek oszacowano w oparciu o tabele (wyniki) zawartości kwasów tłuszczowych w konfiguracji trans (23, 24) przyjmując, że we wszystkich spożytych produktach występowały w najwyższych ilościach.

Zawartość kwasów tłuszczowych w konfiguracji *trans* wynosiła w CRP studentek maksymalnie 3,76 g (ok. 1,78% energii ogółem), natomiast studentów ok. 7 g (ok. 1,88% energii ogółem) (tab. I, II). Poziom izomerów *trans* w badanych CRP jest zbyt wysoki, ponieważ według ekspertów FAO/WHO zawartość izomerów trans w dziennej racji pokarmowej człowieka nie powinna przekraczać 1% energii ogółem (10). Głównymi źródłami izomerów trans (ze względu na ich zawartość w produkcie lub ich grupie oraz wielkość spożycia) w badanych CRP są margaryny i tłuszcze mieszane zaliczane do grupy produktów inne tłuszcze, których podaż w badanych CRP realizuje normę dla studentek w 132–172% (tab. V), a dla studentów w ok. 200% (tab. VI).

Tabela III  
Odsetek CRP ankietowanych studentek realizujących i nie realizujących normy na energię i wybrane składniki odżywcze

Table III  
Proportion of female student DFRs ensuring or not ensuring recommended levels of intake of energy and selected nutrients

Energia i składniki odżywcze	Ilość	Jesień	Zima	Wiosna	Ogółem
Energia	<8200 kJ	55%	50%	66%	58%
	8200 kJ–10900 kJ	30%	39%	22%	30%
	> 10900 kJ	15%	11%	12%	12%
Tłuszcz ogółem	< 65 g	61%	61%	63%	62%
	65–87 g	21%	24%	20%	21%
	> 87 g	18%	15%	17%	17%
Cholesterol	> 300 mg	12%	24%	30%	19%
KT nasycone	< 21 g	38%	44%	45%	43%
	21–29 g	41%	40%	38%	39%
	> 29 g	21%	16%	17%	18%

KT – kwasy tłuszczowe.

Tabela IV  
Odsetek CRP ankietowanych studentów realizujących i nie realizujących normy na energię i wybrane składniki odżywcze

Table IV  
Proportion of male student DFRs ensuring or not ensuring recommended levels of intake of energy and selected nutrients

Energia i składniki odżywcze	Ilość	Jesień	Zima	Wiosna	Ogółem
Energia	< 11300 kJ	42%	20%	35%	32%
	11300 kJ–13700 kJ	46%	35%	38%	38%
	> 13700 kJ	12%	45%	27%	30%
Tłuszcz ogółem	< 90 g	45%	20%	20%	27%
	90–108 g	25%	13%	32%	22%
	> 108 g	30%	67%	48%	51%
Cholesterol	> 300 mg	39%	78%	44%	55%
KT nasycone	< 30 g	24%	22%	15%	20%
	30–36 g	34%	11%	35%	25%
	> 36 g	42%	67%	50%	55%

Zawartość cholesterolu w badanych w pracy CRP średnio wynosiła od 215–612 mg w zależności od pory roku i płci (tab. I, II), przy czym aż w 55% CRP ankietowanych studentów (tab. IV) i w 19% CRP studentek (tab. III) stwierdzono zawartość cholesterolu powyżej zalecanego poziomu, tzn. powyżej 300 mg. Cholesterol jest składnikiem błon komórkowych i w dużych ilościach występuje w tkance nerwowej. Jest niezbędny do życia, zwłaszcza w okresie intensywnego wzrostu i rozwoju, jednak jego

spożywanie w nadmiernych ilościach może wpływać na wzrost ryzyka wystąpienia niedokrwiennej choroby serca oraz przyspieszenie rozwoju zmian miażdżycowych (25).

Do oceny aterogenności diety wykorzystuje się wskaźnik *Keysa*, który uwzględnia spożycie nasyconych i polienowych kwasów tłuszczowych oraz cholesterolu (26). Wskaźnik *Keysa* CRP ankietowanych studentek wynosił 42–45 (tab. I), a studentów 43–50 (tab. II). W polskiej diecie zwyczajowej wynosi ok. 42 (27), w sanatoryjnych CRP 46 (17), a nawet 57 (18), a w CRP stołówek przy bursach i internatach we Wrocławiu 41–51 (19) i przekracza we wszystkich przypadkach wartość 35 dla diety zalecanej w prewencji przeciwmiażdżycowej.

Tabela V  
Udział grup produktów w CRP studentek w poszczególnych porach roku (g/dzień)

Table V  
Proportions of food products groups in the DFR of female students in different seasons (g/day)

Pora roku Produkty	jesień				zima				wiosna				Zalecane ilości dla kobiet*
	$\bar{x}$	$\pm$ SD	$W_{min.}$	$W_{max.}$	$\bar{x}$	$\pm$ SD	$W_{min.}$	$W_{max.}$	$\bar{x}$	$\pm$ SD	$W_{min.}$	$W_{max.}$	
Produkty zbożowe	175	117	0	527	181	103	17	622	161	118	0	692	290
Mleko i przetwory mleczne	669	536	23	2597	548	403	0	1908	592	446	0	1954	1000
Jaja	14	41	0	313	35	62	0	282	31	66	0	367	17
Mięso, wędliny i ryby	121	108	0	466	114	100	0	418	131	130	0	529	150
Masło	15	22	0	100	21	19	0	104	15	15	0	71	30
Inne tłuszcze	38	32	0	120	34	23	0	106	29	26	0	160	22
Ziemniaki	166	167	0	652	175	128	0	600	128	148	0	462	400
Warzywa i owoce	406	464	0	2864	358	689	0	1563	452	480	0	2688	610
Strączkowe suche	1	4	0	36	1	7	0	65	2	8	0	52	10
Cukier	52	39	2	293	52	34	0	157	41	35	0	175	50

$\bar{x} \pm$  SD – średnia arytmetyczna  $\pm$  odchylenie standardowe;

\* – na poziomie ekonomicznym B.

Tabela VI  
Udział grup produktów w CRP studentów w poszczególnych porach roku (g/dzień)

Table VI  
Proportions of food products groups in the DFR of male students in different seasons (g/day)

Pora roku Produkty	jesień				zima				wiosna				Zalecane ilości dla mężczyzn*
	$\bar{x}$	$\pm$ SD	$W_{min.}$	$W_{max.}$	$\bar{x}$	$\pm$ SD	$W_{min.}$	$W_{max.}$	$\bar{x}$	$\pm$ SD	$W_{min.}$	$W_{max.}$	
Produkty zbożowe	283	149	122	771	332	110	78	625	310	131	86	639	370
Mleko i przetwory mleczne	803	744	75	2976	1021	781	14	2958	814	605	0	2422	950
Jaja	45	58	0	220	66	101	0	422	59	84	0	362	17
Mięso, wędliny i ryby	250	158	25	635	309	250	0	1058	306	214	60	1150	150
Masło	34	35	0	205	49	27	4	114	42	31	0	120	30
Inne tłuszcze	70	35	20	136	68	49	10	295	68	62	0	300	35
Ziemniaki	263	177	0	625	256	269	30	753	312	267	60	847	450
Warzywa i owoce	436	259	10	1234	539	258	71	1048	541	331	115	1310	650
Strączkowe suche	3	13	0	72	9	34	9	184	0	2	0	13	12
Cukier	91	58	2	260	122	81	27	571	120	76	38	443	70

$\bar{x} \pm$  SD – średnia arytmetyczna  $\pm$  odchylenie standardowe;

\* – na poziomie ekonomicznym B.

Oszacowane spożycie produktów z poszczególnych grup w CRP ankietowanych studentów i studentek również wykazuje nieprawidłowości (tab. V, VI). I tak średnia CRP studentek nie pokrywała normy na: produkty zbożowe (60%), mleko i przetwory mleczne (57%), mięso, wędliny i ryby (81%), masło (56%), ziemniaki (39%), warzywa i owoce (66%), strączkowe suche (13%), natomiast spożycie jaj i innych tłuszczów przez studentki realizowało normy w ponad 100% (150% i 153% odpowiednio). W przypadku ankietowanych studentów średnia CRP nie realizowała normy na: produkty zbożowe (83%), mleko i przetwory mleczne (92%), ziemniaki (58%), warzywa i owoce (77%), strączkowe suche (33%), natomiast w ponad 100% realizowała normy na: jaja (331%), mięso, wędliny i ryby (190%), masło i śmietanę (137%), inne tłuszcze (194%), cukier (157%). Nieprawidłowości w spożyciu produktów z poszczególnych grup mają swoje odzwierciedlenie w stwierdzonych i powyżej omówionych nieprawidłowościach wartości energetycznej oraz spożyciu tłuszczów ogółem, poszczególnych grup kwasów tłuszczowych oraz cholesterolu w CRP ankietowanych studentów i studentek.

Jak wynika z przeprowadzonych badań odpowiednią wartość energetyczną stwierdzono w 30% CRP studentek i w 38% CRP studentów, a zawartość tłuszczu ogółem w zaledwie 21% CRP studentek i 22% CRP studentów odpowiadała poziomowi zalecanemu. Otrzymane wyniki wskazują na istnienie ryzyka niedożywienia studentek w zakresie energii oraz tłuszczów ogółem, ponieważ aż w 58% badanych CRP wartość energetyczna była poniżej normy i w 62% CRP zawartość tłuszczu poniżej poziomu zalecanego. Zawartość kwasów tłuszczowych nasyconych i cholesterolu przekraczała poziom zalecany w 18% i 19% (odpowiednio) CRP studentek i aż w 55% i 51% CRP studentów (odpowiednio). W badanych CRP stwierdzono zbyt niski udział kwasów tłuszczowych monoenurowych. Również zawartość kwasów tłuszczowych polienowych z rodziny n-3 w porównaniu z ilością kwasów tłuszczowych z rodziny n-6 była za niska, a także zawartość EPA i DHA była bardzo niska szczególnie w CRP studentek. Zawartość natomiast kwasów tłuszczowych w konfiguracji trans w badanych CRP była zbyt wysoka.

Mając na uwadze wielorakie funkcje spełniane w organizmie przez tłuszcze i poszczególne grupy kwasów tłuszczowych, które powinny być dostarczane z codziennym pożywieniem nie tylko w określonych ilościach, ale również w określonych proporcjach, można stwierdzić, że zaobserwowane nieprawidłowości w sposobie odżywiania badanych studentek i studentów mogą mieć niekorzystny wpływ na ich zdrowie i prawidłowe funkcjonowanie organizmu.

W badanych CRP stwierdzono zarówno nieodpowiednią zawartość poszczególnych grup kwasów tłuszczowych jak i proporcje między nimi. Otrzymane wyniki wykazują ponadto niedostateczne spożycie energii oraz tłuszczów ogółem przez studentki.

## WNIOSKI

1. Zaobserwowane nieprawidłowości w sposobie odżywiania się badanych studentek i studentów mogą mieć niekorzystny wpływ na ich zdrowie i prawidłowe funkcjonowanie organizmu.

2. Uzyskane wyniki wskazują na konieczność prowadzenia wśród młodzieży akademickiej stałej edukacji w zakresie prawidłowego żywienia.

E. Przysiężna, K. Banachowicz

## ASSESSMENT OF FAT CONTENT IN STUDENTS DIET

### Summary

As indicated by results of the research study, an adequate energetic value was found in 30% of daily food rations (DFR) of female and 38% male students. The recommended level of fat content, on the other hand, was found in only 21% DFR of female and 22% DFR of male students. Furthermore, the content of saturated fatty acid and cholesterol exceeded the recommended value in 18% and 19% DFR of female, or 55% and 51% DFR of male students, respectively. The examined DFR showed too low proportion of monounsaturated fatty acids. Also, the content of polyunsaturated n-3 fatty acids was too low relation to that of n-6 fatty acids. Finally, the content of trans-fatty acids in studied DFR exceeded the allowable level.

## PIŚMIENNICTWO

1. *Nowicka G.*: Geny, żywienie, zdrowie. Gdzie jesteśmy, dokąd zmierzamy? *Żyw. Człow. i Metab.*, 2004; 31: 247-253. – 2. *Kozłowska-Wojciechowska M.*: Zasady racjonalnego żywienia. Nowa Medycyna, 1996; 21: 2-12. – 3. *Grzymistawski M.*: Otyłość, a schorzenia przewodu pokarmowego. Nowa Medycyna, 1997; 15: 9-10. – 4. *Kozłowska-Wojciechowska M., Kafel S.*: Żywność, żywienie a nowotwory. Nowa Medycyna, 1996; 21(3): 5-16. – 5. *Hryniewiecki L.*: Otyłość a rozwój nowotworów. Nowa Medycyna, 1997; 15: 3-5. – 6. *Kłosiwicz-Latoszek L.*: Rola kwasów tłuszczowych omega-3 w profilaktyce i leczeniu chorób sercowo-naczyniowych. *Żyw. Człow. i Metab.*, Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne, Żywność – Żywnienie – Nowe wyzwania, Białystok, 23-24 czerwca 2005 r., Bromat. Chem. Toksykol., 2005; 38: 493-496. – 7. *Ziemiański Ś.*: Tłuszcze w żywieniu człowieka. *Żyw. Człow. i Met.* 1997; 24: 35-48. – 8. *Szczygłowa H., Szczepańska A., Neks A., Nowicka L.*: Albumu porcji produktów i potraw. IŻŻ, Wyd. 2, Warszawa 1991. – 9. *Ziemiański Ś., Buthak-Jachymczyk B., Budzyńska-Topolowska J., Panczenko-Kresowska B., Wartanowicz M.*: Normy żywienia dla ludności w Polsce (energia, białko, tłuszcz, witaminy i składniki mineralne). Nowa Medycyna, 1998; 25: 1-28. – 10. Report of Joint WHO/FAO Expert Consultation. Diet, nutrition and prevention of chronic diseases, Geneva, 2003.
11. *Rutkowska U., Kunachowicz H., Iwanow K., Wojtasik A., Kłys W., Nadolna I., Paczkowska M., Przygoda B., Gościński R.*: Jakość zdrowotna krajowych racji pokarmowych – badania analityczne i ocena teoretyczna. Cz. I. Wartość energetyczna i zawartość składników podstawowych. *Żyw. Człow. i Metab.*, 1999; 26: 275-291. – 12. *Grajeta H., Iłow R., Prescha A., Regulska-Iłow B., Biernat J.*: Ocena wartości energetycznej posiłków przedszkolnych. *Roczn. PZH*, 2003; 54(4): 417-423. – 13. *Gielecińska I., Szponar L.*: Wybrane składniki odżywcze w diecie – porównanie obliczeń teoretycznych i wyników analitycznych. Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne, Żywność, Żywnienie – Nowe wyzwania, Białystok, 23-24 czerwca 2005 r., Bromat. Chem. Toksykol., 2005; 38: 99-103. – 14. *Konieczna W., Kopczyńska B., Świechowska E., Albinowska E.*: Sposób żywienia młodzieży szkół ponadpodstawowych w Warszawie w latach 1978–1984. *Żyw. Człow. i Metab.* 1987; 14: 236-240. – 15. *Duda G., Różycka-Cala K., Przysławski J.*: Ocena sposobu żywienia dzieci w wieku szkolnym – składniki podstawowe. Sympozjum Żywność-Lek -Zdrowie, Łódź, 21-22 września 2000; s. 53. – 16. *Dybkowska E., Świdorski F., Waszkiewicz-Robak B.*: Ocena spożycia wybranych składników odżywczych w diecie mieszkańców Warszawy. Ogólnopolskie Sympozjum Bromatologiczne, Żywność – Żywnienie – Nowe wyzwania, Białystok, 23-24 czerwca 2005 r., Bromat. Chem. Toksykol., 2005; 38: 99-103. – 17. *Przysiężna E., Jon M.*: Wartość odżywcza sanatoryjnych całodziennych racji pokarmowych. Bromat. Chem. Toksykol., 2004; 37: 169-174. – 18. *Przysiężna E., Walo D., Kupnicki A.*: Ocena sposobu żywienia w stołówce sanatoryjnej. Bromat. Chem. Toksykol., 2005; 38: 2, 139-144. – 19. *Przysiężna E., Klisz P.*: Oszacowanie zawartości tłuszczu w całodziennych racjach pokarmowych w stołówkach przy internatach. Bromat. Chem. Toksykol., 2005; 38: 3, 241-246. – 20. *Wierusz-Wysocka B.*: Otyłość a cukrzyca. Nowa Medycyna, 1997; 15: 6.
21. *Gertig H., Przysławski J.*: Tłuszcze pokarmowe a biosynteza eikozanoidów. *Żyw. Człow. i Metab.*, 1995; 22: 272-300. – 22. *Przysławski J.*: Kwasy tłuszczowe pożywienia – czynnik patogenetyczny czy terapeutyczny. Sympozjum Żywność – Lek – Zdrowie, Łódź, 21-22 września 2000 r., 13. – 23. *Daniewski M., Mielniczuk E., Jacórzynski B., Pawlicka M., Balas J.*: Skład kwasów tłuszczowych, w szczególności izomerów trans nienasyconych kwasów tłuszczowych, w produktach spożywczych. *Żyw. Człow. i Metab.*, 1998; 25: 133-151. – 24. *Barytko-Pikielna N., Jacórzynski B., Mielniczuk E., Pawlicka M., Daniewski M., Kostyra E.*: Dzielne spożycie izomerów trans w polskiej racji pokarmowej. *Żywnienie człowieka i metabolizm.* 1998; 25: 28-46. – 25. *Szostak W.B., Cybulska B. (red.)*: Metaboliczne choroby cywilizacyjne. Warszawa, CMKP, 1990. – 26. *Keys A., Anderson J., Grande F.*: Serum cholesterol response to changes in the diet. IV. Particular saturated fatty acids in diet. *Metabolism*, 1965; 14: 776. w: *Waszkiewicz A.*: Ocena zmian sposobu żywienia mieszkańców prawobrzeżnej Warszawy w okresie 17 lat (1984–2001). Cz. I. Zawartość i źródła tłuszczów w diecie. *Żyw. Człow. i Metab.*, 2001; 28: 291-305. – 27. *Waszkiewicz A.*: Ocena zmian sposobu żywienia mieszkańców prawobrzeżnej Warszawy w okresie 17 lat (1984–2001). Cz. I. Zawartość i źródła tłuszczów w diecie. *Żyw. Człow. i Metab.*, 2001; 28: 291-305.



Kazimierz Markiewicz, Halina Nowak-Polakowska<sup>1)</sup>, Emilia Markiewicz,  
Ryszard Zadernowski<sup>1)</sup>, Justyna E. Bojarska<sup>1)</sup>, Romuald E. Łojko<sup>2)</sup>

## ZAWARTOŚĆ WYBRANYCH MAKRO- I MIKROELEMENTÓW ORAZ PIERWIASTKÓW TOKSYCZNYCH W OWOCACH ORZECHA WŁOSKIEGO

Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności Uniwersytetu  
Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie  
Kierownik: prof. dr hab. inż. S. Smoczyński

<sup>1)</sup> Katedra Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych Uniwersytetu  
Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie  
Kierownik: prof. dr hab. inż. R. Zadernowski

<sup>2)</sup> Institute for Fruit Growing of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk  
Dyrektor Instytutu: dr W. Samuś

*W 29 próbkach owoców orzecha włoskiego oznaczono zawartość wybranych makro- (Ca, Mg, P, Na i K) i mikroelementów (Cu, Fe, Mn, Ni i Zn) oraz pierwiastków toksycznych (Cd i Pb). Próby orzechów pochodziły z terenu północno- i południowo-wschodniej Polski, Białorusi, Mołdawii i Uzbekistanu. W grupie makroelementów w największych ilościach występowały potas (od 310 do 589 mg/100 g części jadalnej orzecha) i fosfor (od 318 do 473 mg/100 g). Następnymi pod względem wysokości poziomu występowania były Mg (od 132 do 184 mg/100 g), Ca (od 50,4 do 145 mg/100 g) oraz Na (od 0,25 do 1,24 mg/100 g).*

*Spośród oznaczonych mikroelementów pod względem zawartości dominowały Fe, Zn, Mn występujące odpowiednio w ilości: 1,79–4,18 mg/100 g; 2,32–4,78 mg/100 g; 1,32–4,87 mg/100 g. Natomiast w zdecydowanie mniejszych koncentracjach występowały Cu i Ni, odpowiednio: 0,40–1,31 mg/100 g oraz 0,04–0,47 mg/100 g. Oznaczone ilości zarówno kadmu jak i ołowiu zamykały się w bardzo szerokich granicach, obejmujących zakres: Cd 0,36–1,21 µg/100 g oraz Pb 12,5–383,8 µg/100 g.*

Hasła kluczowe: orzechy włoskie, makro- i mikroelementy, pierwiastki toksyczne, wartość odżywcza.

Key words: walnuts, macro- and microminerals, toxic elements, nutritive value.

Zmiany zawartości i wzajemne proporcje składników mineralnych w roślinach mogą być następstwem nie tylko czynników środowiskowych, ale także interakcji pomiędzy pierwiastkami pobieranymi przez nie ze środowiska (4). Poziom makro- i mikroelementów w znacznym stopniu decyduje o wartości odżywczej roślin, z drugiej jednak strony obecność metali ciężkich, szczególnie ołowiu i kadmu, może ograniczyć lub zdyskwalifikować je jako składnik żywności.

Biorąc pod uwagę że orzechy są między innymi źródłem składników mineralnych za cel pracy przyjęto określenie poziomu wybranych makro- i mikroelemen-

tów oraz metali szkodliwych (Pb, Cd) w owocach orzecha włoskiego pochodzącego z różnych regionów upraw.

#### MATERIAŁ I METODY

Badaniami objęto 29 prób orzecha włoskiego zebranego z drzew rosnących na terenie Polski północno-wschodniej (Braniewo – 2, Gdańsk – 1, Olsztyn – 6, Kąkrowo k/Ostródy – 1, Łomża – 1); Polski południowo – wschodniej (Kielce – 3, Busko-Zdrój – 1, Kłęczanów k/ Sandomierza – 2, Złota k/ Sandomierza – 2, Sandomierz i okolice – 5); Białorusi (Mińsk – 1, Pińsk – 1, Kobryń – 1); Mołdawii – 1; Uzbekistanu (Fergana – 1). Wielkość prób wahała się od ok. 200 g (Kobryń – Białoruś) do ok. 500 g z pozostałych rejonów.

Orzechy pozbawione okryw owocowych (egzokarpu), czyste i jasne, poddano procesowi suszenia w temp. 20–22°C. Po ok. 14 dniach, zawartość wody w jądrach orzecha wynosiła od 2 do 4%. Część jadalną orzechów po rozdrobieniu na młynku laboratoryjnym poddano czterokrotnemu odtuszczeniu mieszaniną chloroform : metanol (2:1), a beztłuszczowa mąka po usunięciu rozpuszczalnika stanowiła materiał wyjściowy do oznaczeń składników mineralnych. W tym celu odważki próbek w tyglach kwarcowych wstępnie zwęglano na płytce elektrycznej z blatem ceramicznym, a następnie spopieleno w piecu elektrycznym w temp. ok. 460°C. Uzyskany popiół rozpuszczano w roztworze kwasu azotowego o stęż. 1 mol/dm<sup>3</sup> i przenoszono do kolb o obj. 25 cm<sup>3</sup> uzupełniając wodą dejonizowaną do kreski.

Zawartość Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, Ni, Pb i Cd oznaczono techniką płomieniowej spektrometrii absorpcji atomowej na spektrometrze Unicam 939 Solar (Anglia), wyposażonym w stację danych (Optimus), korekcję tła oraz odpowiednie lampy katodowe. Oznaczając Pb i Cd stosowano pułapkę atomów (STAT) (8).

Oznaczając wapń celem wyeliminowania oddziaływań fosforu do wszystkich prób dodano 10% wodnego roztworu chlorku lantanu w ilości zapewniającej końcowe stężenia La<sup>+3</sup> wynoszące 1%. W oznaczeniu sodu i potasu wykorzystano technikę emisyjną (płomień powietrze-acetylen), stosując pracujący w systemie emisyjnym spektrometr absorpcji atomowej SP 2900 firmy Pye Unicam – Anglia (8).

Fosfor w analizowanych mineralizatach oznaczano metodą molibdenianową opisaną przez *Rutkowską* (7). Pomiar absorbancji wykonano za pomocą spektrofotometru Spectromom 195 D, (UV-Vis), dł. fali  $\lambda = 610$  nm.

Weryfikację jakości metody analitycznej oznaczania mikro- i makroelementów oraz metali toksycznych przeprowadzono poprzez wykonanie analizy certyfikowanego materiału odniesienia INCT-TL-1 Tea Leaves. Oznaczone ilości objętych oceną pierwiastków toksycznych Cd i Pb stanowiły odpowiednio 96,8 i 93,7%, natomiast w przypadku pozostałych objętych oceną pierwiastków zamykały się w granicach od 95,2 do 98,6% zawartości certyfikowanych.

Odczynniki:

- kwas azotowy o stęż. 65% GR for analysis, ISO – firmy Merck (Niemcy);
- wzorce Pb, Cd, Zn, Fe, Ni, Cu, Mn, Ca, Mg, Na, K, P: odpowiednio rozcieńczane 0,1 molowym roztworem HNO<sub>3</sub>, standardy o stęż. 1 mg/cm<sup>3</sup> firmy BDH (Niemcy);
- woda dejonizowana o oporności >18,2 MΩ. cm uzyskana za pomocą dejonizatora wody Simplicity Millipore (Austria).

Wyniki zawartości oznaczonych pierwiastków, po uwzględnieniu w owocach orzechów zawartości tłuszczu i wody, wyrażano w mg lub µg/100 g części jadalnej świeżej masy jąder orzecha.

#### WYNIKI I DISKUSJA

Z danych zamieszczonych w tab. I wynika, że najniższą zawartością wapnia (50,4 mg) charakteryzowały się owoce orzecha pobrane z okolic Sandomierza, najwyższą zaś – 145 mg w 100 g części jadalnej, orzechy pochodzące z terenu Łomży.

Wyliczone średnie zawartości wapnia dla prób pochodzących z Polski północno-wschodniej, południowo-wschodniej oraz z Białorusi, Mołdawii i Uzbekistanu, wykazały iż najwięcej Ca (93,3 mg/100 g) zawierały próby z północno-wschodniej części Polski, natomiast 10 do 20 mg mniej omawianego pierwiastka zawierały próby z rejonu Polski południowo-wschodniej, Białorusi i Mołdawii.

Tabela I  
Zawartość składników mineralnych w owocach orzecha włoskiego (mg/ 100 g produktu jadalnego, z wyjątkiem Pb i Cd – µg/100 g)  
Table I  
Contents of mineral products, mg/100 g edible product, (Pb and Cd: in µg/100 g edible product)

kraj/rejon	Miejsce pobrania prób do analiz	Makroelementy										Mikroelementy										Pierwiastki toksyczne			
		Ca	Mg	P	K	Na	Fe	Zn	Cu	Mn	Ni	Pb	Cd												
Polska północno- wschodnia	miejscowość	85,2	138	337	310	0,53	2,82	2,66	1,05	1,64	0,05	154,7	0,62												
		104,6	160	353	355	0,47	2,52	2,63	1,13	2,25	0,04	20,2	1,11												
	Olśztyń – „Jacki”	85,6	149	429	397	0,35	4,18	3,72	1,16	2,01	0,10	82,2	0,59												
		71,1	153	388	403	0,37	2,55	3,37	1,15	1,81	0,07	79,7	0,38												
	Olśztyń	72,4	146	396	458	0,41	2,84	3,21	0,61	3,82	0,40	19,4	1,06												
		86,2	139	348	393	0,56	2,47	2,73	0,87	3,05	0,23	162,2	0,47												
	Kajkowo	101,6	158	415	406	0,63	3,48	4,02	0,99	2,98	0,36	14,9	1,10												
		112,2	132	352	403	0,41	2,76	2,84	1,35	2,00	0,13	12,5	0,91												
	Łomża	76,8	154	434	492	0,39	3,07	3,93	0,84	2,43	0,33	18,4	1,10												
		85,2	155	444	320	0,36	3,63	3,73	0,69	1,32	0,13	15,0	1,21												
Polska południowo- wschodnia	Kielce – „Jacki”	145,3	155	400	467	0,55	2,76	4,44	0,50	2,31	0,11	57,4	1,00												
		75,6	152	386	454	0,39	2,59	4,08	1,28	2,96	0,14	155,4	0,48												
	Kielce	56,2	149	394	426	0,49	2,13	2,65	0,72	2,32	0,07	127,7	0,41												
		73,7	168	473	391	0,47	3,01	4,21	0,84	1,79	0,09	110,3	0,44												
	Busko-Zdrój – „Jacki”	69,4	145	354	373	0,47	1,95	3,29	0,58	2,43	0,44	184,7	0,43												
		60,4	146	395	359	0,46	3,59	3,41	0,73	2,95	0,26	22,3	1,20												
	Złota	60,1	138	367	365	0,44	3,15	2,83	0,72	2,19	0,22	74,0	1,00												
		102,1	165	387	405	0,38	4,07	4,32	0,85	3,17	0,24	41,3	0,91												
	Sandomierz – „Jacki”	91,7	133	388	334	0,28	3,21	2,81	0,67	2,39	0,19	45,6	0,88												
		60,0	143	318	398	0,42	2,59	2,89	0,40	2,68	0,14	21,5	0,98												
Sandomierz	82,2	173	393	389	0,32	3,25	3,91	1,20	2,62	0,31	25,2	1,05													
	50,4	141	360	357	0,36	2,84	4,33	0,56	4,87	0,34	134,2	0,36													
Białorus	Minsk	78,6	162	401	435	0,50	3,01	3,36	1,31	4,72	0,47	68,3	0,72												
		97,3	184	440	589	0,32	1,79	3,37	0,51	1,90	0,37	42,6	0,82												
	Pińsk	88,6	136	326	313	0,56	2,81	2,85	0,84	1,73	0,05	128,8	0,44												
		89,7	141	394	327	0,25	2,56	3,52	0,91	2,10	0,10	76,5	1,19												
	Kobryń	80,2	165	394	425	1,24	2,76	4,78	0,69	3,35	0,13	383,8	1,11												
		81,0	141	380	313	0,43	2,03	2,72	1,07	3,35	0,23	129,8	0,57												
	Uzbekistan	Fergana	59,9	141	341	332	0,59	2,43	2,32	0,66	1,90	0,16	169,7	0,60											

„Jacki” (nazwa zwyczajowa) – orzechy o dużych owocach (powyżej 18 g)

Średnia zawartość magnezu wahała się od 132 mg/100 g w owocach z rejonu Olsztyna do 184 mg/100 g w próbach z okolic Sandomierza (tab. I). Natomiast średnia zawartość tego pierwiastka w poszczególnych rejonach była zbliżona i kształtowała się na poziomie powyżej 140 mg w 100 g masy próby niezależnie od rejonu.

Najwyższą zawartością fosforu (473 mg/100 g) charakteryzowały się orzechy zebrane w okolicach Kielc, najniższą zaś (318 mg/100 g) próby zebrane w okolicach Sandomierza. Średnia zawartość potasu wahała się od 310 mg/100 g w owocach orzechów pozyskanych w rejonie Braniewa do 589 mg/100 g w orzechach z okolic Sandomierza.

Sód w ocenianych próbach orzechów występował w stosunkowo niewielkich ilościach, obejmujących zakres od 0,25 mg/100 g w orzechach z rejonu Pińska (Białoruś) do 1,24 mg/100 g w orzechach z rejonu Kobrynia.

Spśród oznaczanych mikroelementów średnie zawartości Fe, Zn i Mn obejmowały zbliżone zakresy od ok. 1,5 do ok. 5 mg/100 g części jadalnej orzecha.

Średnia zawartość miedzi w badanych orzechach kształtowała się od 0,40 mg/100 g w jednej próbce pochodzącej z okolic Sandomierza do 1,35 mg/100 g w próbce orzechów z okolic Olsztyna. Wyliczone, dla objętych oceną regionów, średnie zawartości omawianego pierwiastka kształtowały się na zbliżonym poziomie, jedynie próba orzechów pochodząca z Mołdawii zawierała o ok. 30% więcej Cu niż pozostałe.

Spśród analizowanych owoców orzecha największą (0,47 mg/100 g) zawartość niklu stwierdzono w orzechach pochodzących z okolic Sandomierza, najniższą wynoszącą 0,04 mg/100 g posiadały jadalne części orzechów pochodzących z rejonu Braniewa. Wyliczone średnie zawartości niklu w owocach orzechów pochodzących z terenów Polski południowo-wschodniej i Mołdawii kształtowały się na poziomie ok. 0,25 mg/100 g, i były ok. 30% wyższe niż w owocach orzechów uprawianych na terenie północno-wschodniej Polski i Uzbekistanu. Natomiast wyliczona średnia zawartość Ni dla prób z rejonu Białorusi była najniższa – 0,09 mg/100 g jadalnej masy orzechów.

Najwyższą zawartość (383 µg/100 g) ołowiu stwierdzono w próbce orzechów pochodzących z rejonu Kobrynia (Białoruś), najniższą zaś (12,5 µg/100 g) w próbach orzechów uprawianych w okolicach Olsztyna. Na podkreślenie zasługuje fakt, że orzechy pochodzące z objętych doświadczeniem rejonów Polski charakteryzowały się ok. 2,5 razy mniejszymi średnimi zawartościami ołowiu w porównaniu z próbkami pochodzącymi z Białorusi i Uzbekistanu.

Zawartość kadmu w analizowanych owocach orzecha włoskiego wahała się w granicach od 0,4 do ok. 1,2 µg/100 g. Wyliczone średnie zawartości Cd dla orzechów z poszczególnych rejonów wykazały, że najzasobniejsze (ok. 0,9 µg w 100 g) w omawiany pierwiastek były orzechy pochodzące z rejonów Białorusi oraz z terenu północno-wschodniej części Polski. Stwierdzone w ramach przeprowadzonych badań poziomy oznaczonych w większości makro- i mikroelementów mieszczą się w zakresach podanych w piśmiennictwie (1, 2, 3, 5, 6).

## WNIOSKI

1. Spśród oznaczanych w części jadalnej orzechów makroelementów, niezależnie od rejonu ich pochodzenia dominującymi były potas i fosfor, w najmniejszych zaś ilościach występował sód.

2. W analizowanych częściach jadalnych orzecha włoskiego, średnie zawartości Fe, Zn i Mn obejmowały zbliżone zakresy od ok. 1,5 do ok. 5 mg/100 g. Zdecydowanie w mniejszych ilościach występowała miedź oraz nikiel.

3. Najwyższą zawartość (383 µg/100 g) ołowiu stwierdzono w próbce orzechów pochodzących z rejonu Kobrynia (Białoruś), najniższą zaś (12,5 µg/100 g) w próbach orzechów uprawianych w okolicach Olsztyna. Na podkreślenie zasługuje fakt, że orzechy pochodzące z aglomeracji miejskich charakteryzowały się wyższymi zawartościami ołowiu.

4. Zawartość kadmu w analizowanych owocach orzecha włoskiego wahała się w granicach od 0,4 do ok. 1,2 µg/100 g. W przypadku kadmu najzasobniejsze (ok. 0,9 µg w 100 g) w omawiany pierwiastek były orzechy pochodzące z rejonów Białorusi oraz północno-wschodniej Polski.

K. Markiewicz, H. Nowak-Polakowska, E. Markiewicz,  
R. Zadernowski, J.E. Bojarska, R.E. Łojko

CONTENTS OF SELECTED MACRO- AND MICROMINERALS  
AND TOXIC ELEMENTS IN WALNUTS

Summary

Contents of selected macro- (Ca, Mg, P, Na, K), microelements (Cu, Fe, Mn, Ni, Zn) and toxic elements (Cd, Pb) were determined in 29 samples of walnuts. The samples were from North- and South-East Poland, and Belarus, Moldova and Uzbekistan. Within the macroelement group, the most abundant were potassium (from 310 to 589mg/g) and phosphorus (from 318 to 473mg/g edible portion of walnut). These were followed by Mg, Ca and Na (132 to 184, 50.4 to 145 and 0.25 to 1.24mg/g edible portion, respectively). In the microelement group, the highest contents were recorded for Fe, Zn, Mn (1.79–4.18 mg/100 g; 2.32–4.78 mg/100 g; 1.32–4.87 mg/100 g, respectively). The concentrations of Cu and Ni were considerably lower: 0.40–1.31 mg/100 g oraz 0.04–0.47 mg/100 g, respectively. The determined concentrations of lead and cadmium varied very widely, from 0.36 to 1.21 µg/ 100 g for Cd and 12.5 to 383.8 µg/100 g for Pb.

PIŚMIENNICTWO

1. *Cabrera C., Lloris F., Gimenez R., Olalla M., López K.M.*: Mineral content in legumes and nuts: contribution to the Spanish dietary intake. *Sci. Total Environ.* 2003; 308: 1-14. – 2. *Ciborowska H., Rudnicka A.*: Dietetyka: żywienie zdrowego i chorego człowieka. PZWŁ, Warszawa 2000; 178-180. – 3. *Falandysz J., Kotecka W.*: Mangan, miedź, cynk i żelazo w importowanych orzechach, migdałach, rodzynkach i kakao. *Bromatol. Chem. Toksykol.* 1993; 26(4): 285-287. – 4. *Kabata-Pendias A., Pendias H.*: Geochemia pierwiastków śladowych. PWN, Warszawa 1999; 62-67. – 5. *Lavedrine F., Ravel A., Villet A., Ducros V., Alary J.*: Mineral composition of two walnut cultivars originating in France and California. *Food Chem.* 2000; 68: 347-351. – 6. *Marzec Z., Kunachowicz H., Iwanow K., Rutkowska U.*: Tabele zawartości pierwiastków śladowych w produktach spożywczych. Wyd. IŻŻ, Warszawa 1992. – 7. *Rutkowska U.*: Wybrane metody badań składu i wartości odżywczej żywności. PZWŁ, Warszawa 1981. – 8. *Whiteside P., Miner B.*: Pye Unicam Atomic Absorption Data Book. Pye Unicam Ltd. Cambridge, England 1984.

Adres: 10-957 Olsztyn, Pl. Cieszyński 1.



*Barbara Szteke, Renata Jędrzejczak, Wiesława Ręczajska*

## ZALEŻNOŚĆ POMIĘDZY ZAWARTOŚCIĄ MAKRO I MIKROELEMENTÓW W ZIEMNIAKACH<sup>\*)</sup>

Zakład Analizy Żywności Instytutu Biotechnologii  
Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie  
Kierownik: prof. dr hab. B. Szteke

*Zbadano zawartość 12 metali w próbkach ziemniaków pobranych w latach 2001–2003 z 129 upraw polowych w siedmiu województwach. Oznaczenia wykonano przy zastosowaniu różnych technik absorpcyjnej spektrometrii atomowej. Metodami analizy statystycznej określono wzajemne zależności pomiędzy zawartościami badanych metali w ziemniakach.*

Hasła kluczowe: makroelementy, mikroelementy, interakcje, ziemniaki.  
Key words: macro and microelements, interactions, potatoes.

W wyniku szybkiego rozwoju cywilizacji przemysłowej, urbanizacji oraz chemizacji rolnictwa równowaga naturalnego obiegu materii w przyrodzie, w którym uczestniczą między innymi składniki mineralne roślin, staje się coraz bardziej zachwiana. Skutkiem tego mogą być zmiany zawartości i wzajemnych proporcji składników mineralnych w roślinach. Zawartość metali w roślinach jest wynikiem wzajemnych oddziaływań szeregu czynników środowiskowych (np. pH gleby, gatunek i właściwości gleby, zawartość makro i mikroelementów w glebie, klimatu, rodzaju nawożenia, zasobności gleb itd.) i prawdopodobnie także interakcji (konkurencyjnego pobierania) zachodzących w trakcie wzrostu i dojrzewania rośliny. Interakcje te mogą być związane ze zdolnością jednego pierwiastka do stymulowania lub inhibitowania absorpcji innych pierwiastków przez rośliny. Przyjmuje się, że makroelementy, m.in. wapń, magnez i potas są głównymi antagonistycznymi pierwiastkami w stosunku do absorpcji i metabolizmu wielu pierwiastków śladowych (1).

Makropierwiastki i pierwiastki śladowe oraz ich biodostępność mają ogromne znaczenie w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu ludzkiego (2, 3). W związku ze zmianami zachodzącymi w środowisku przyrodniczym sygnalizowana jest na świecie konieczność stałego aktualizowania informacji o zawartości poszczególnych pierwiastków w roślinnych produktach spożywczych (4). Potrzeba gromadzenia danych o aktualnym, sprawdzonym analitycznie składzie produktów spożywczych istnieje również w Polsce (5, 6).

<sup>\*)</sup> Praca została wykonana w ramach projektu 6P06G 037 20, finansowanego przez KBN.

Badania zawartości pierwiastków szkodliwych dla zdrowia w produktach spożywczych pochodzenia roślinnego są od dawna prowadzone w Polsce przez wiele zespołów badawczych. Jednak badania obejmujące jednocześnie oznaczanie w żywności zawartości pierwiastków szkodliwych oraz odżywczych i niezbędnych w celu poszukiwania wzajemnych zależności pomiędzy nimi, realizuje niewielu badaczy (7, 8). Wstępne poszukiwania współzależności pomiędzy występowaniem niektórych pierwiastków w surowcach spożywczych pochodzenia roślinnego wskazały na istnienie korelacji zarówno dodatnich, ujemnych, jak i ich brak, zależnie od gatunku rośliny i badanych pierwiastków (9, 10, 11, 12).

Ziemniaki należą do bardzo popularnych w Polsce płodów rolnych, a ich spożycie codziennie przez mieszkańca kraju jest stale wysokie. W roku 2003 wynosiło ok. 0,25 kg, co stanowi ok. 18% masy całodziennej diety (13). Z uwagi na to, że zawartość substancji mineralnych w ziemniakach wynosi ok. 1% (14), mogą stanowić one istotne źródło zaopatrzenia organizmu człowieka zarówno w pierwiastki odżywcze i niezbędne jak i wprowadzać pierwiastki szkodliwe dla zdrowia.

Celem pracy było oznaczenie zawartości makroelementów i pierwiastków śladowych w ziemniakach i zbadanie występujących pomiędzy nimi zależności. Ze względu na konieczność uniezależnienia wyników badań od możliwości wystąpienia zmian składu chemicznego roślin, spowodowanych oddziaływaniem zewnętrznych czynników środowiskowych, zaplanowano przeprowadzenie badań w ciągu trzech kolejnych sezonów wegetacyjnych, przy wykorzystaniu ziemniaków z upraw towarowych z kilku województw kraju.

## MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiło 129 próbek ziemniaków pobranych w fazie dojrzałości zbiorczej z upraw towarowych w latach 2001 – 2003 (por. tab. IV). Próbkę do badań myto, obierano i homogenizowano. Do oznaczeń zawartości metali techniką absorpcyjnej spektrometrii atomowej płomieniowej (FAAS) i spektrometrii emisyjnej płomieniowej (FES) mineralizację prowadzono w układzie otwartym w bloku grzejmym (IMUZ): ok. 4 g ziemniaków odważano do próbki, dodawano 15 cm<sup>3</sup> mieszaniny kwasów HNO<sub>3</sub> + HClO<sub>4</sub> (3:1) i mineralizowano w bloku grzejmym stopniowo podnosząc temp. do 200°C; otrzymany roztwór przenoszono wodą do kolby pomiarowej o poj. 50 cm<sup>3</sup>. Do oznaczeń zawartości metali techniką absorpcyjnej spektrometrii atomowej z atomizacją elektrotermiczną i korekcją tła Zeemana (ZETAAS) stosowano mineralizację w układzie zamkniętym w piecu mikrofalowym (MDS 2000, CEM): ok. 1 g ziemniaków odważano do pojemnika teflonowego, dodawano 4 cm<sup>3</sup> HNO<sub>3</sub> i mineralizowano w warunkach podanych w tab. I; otrzymany roztwór przenoszono do kolby pomiarowej o poj. 25 cm<sup>3</sup>.

Oznaczenia zawartości poszczególnych pierwiastków przeprowadzono następująco: Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Zn – techniką FAAS (SOLAAR M6 TJA Solutions); K i Na – techniką FES (SOLAAR M6 TJA Solutions); Cd, Cr i Pb – techniką ZETAAS w warunkach przedstawionych w tab. II (SpectrAA 880-Z, Varian) i Hg – techniką AAS bezpłomieniową z bezpośrednim dozowaniem próbek (AMA 254, Altek).

Charakterystyka poszczególnych sposobów postępowania analitycznego określona została w ramach eksperymentu walidacyjnego (15, 16), a granice oznaczalności poszczególnych pierwiastków były następujące: Ca – 1,0 mg/kg, Cd – 0,001 mg/kg, Cu – 0,02 mg/kg, Fe – 0,05 mg/kg, Hg – 0,0003 mg/kg, K – 4 mg/kg, Mg – 1,0 mg/kg, Mn – 0,05 mg/kg, Na – 0,1 mg/kg, Pb – 0,005 mg/kg i Zn – 0,02 mg/kg. Dla zapewnienia jakości wyników w trakcie prowadzenia badań stosowano kontrolę wewnętrzną (analiza próbek odczynnikowych, analiza próbek w 3 powtórzeniach, analiza CRM) i zewnętrzną (udział w porównaniach międzylaboratoryjnych tj. IPE, FAPAS).

Obliczenia i analiza statystyczna uzyskanych wyników zostały wykonane z wykorzystaniem oprogramowania Microsoft Excel oraz Statistica.



Tabela I  
Warunki pracy pieca mikrofalowego

Table I  
Operating conditions of microwave oven

Etap	Moc (%)	Ciśnienie (psi)	Czas (min.)	TAP* (min.)	Wentylator (%)
I	40	40	10	–	100
II	60	80	10	–	100
III	180	120	15	–	100
IV	100	170	10	5	100

\* TAP (time at pressure) – czas w danym ciśnieniu.

Tabela II  
Warunki aparaturowe oznaczania Cd, Pb i Cr techniką ZETAAS

Table II  
Instrumental conditions for Cd, Pb and Cr determinations by ZETAAS

Metal	Etap	1	2	3	4	5	6	7	8*	9*	10	11
Kadm	Temp., °C	85	95	120	250	400	400	400	2200	2200	2300	45
	Czas, s	5,0	30,0	20,0	6,0	5,0	5,0	2,0	1,0	2,0	2,0	20,0
	Ar, l/min	3	3	3	3	3	3	0	0	0	3	3
Ołów	Temp., °C	85	95	120	550	550	550	2100	2100	2200	45	
	Czas, s	5,0	30,0	10,0	10,0	5,0	2,0	1,0	2,0	2,0	20,0	
	Ar, l/min	3	3	3	3	3	0	0	0	3	3	
Chrom	Temp., °C	85	95	95	120	1100	1100	1100	2600	2600	2700	45
	Czas, s	5	10	15	20	15	10	2	1	2	1	20
	Ar, l/min	3	3	3	3	3	3	0	0	0	3	3

\* Pomiar; przy oznaczaniu Pb pomiar następuje w etapie 7 i 8.

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W zbadanych 129 próbkach ziemniaków pobranych do badań w latach 2001–2003 oznaczone zawartości 12 pierwiastków wykazywały znaczne zróżnicowanie, charakteryzujące się między innymi współczynnikiem zmienności (SD%) charakterystycznym dla każdego pierwiastka (tab. III). Największą rozpiętość zawartości metali w ziemniakach zaobserwowano w przypadku ołowiu, kadmu i chromu, a nieco mniejszą w przypadku żelaza miedzi i cynku. Średnie zawartości makroelementów w ziemniakach były zbliżone, a współczynniki zmienności niewielkie, z wyjątkiem sodu. Jednak oznaczone w kolejnych latach badań średnie zawartości metali (ryc. 1–3) w porównaniu do średniej zawartości obliczonej dla wyników z całego, trzyletniego okresu badań nie wskazują na znaczący wpływ sezonu pobrania próbek na zawartość metali. Średnie zawartości metali oznaczone w próbkach ziemniaków pochodzących z różnych województw są też w zasadzie zbliżone (tab. IV). Zawartości ołowiu powyżej średniej wynoszącej dla całego zbioru 0,014 mg/kg zaobserwowano w ziemniakach w woj. małopolskim, a kadmu powyżej średniej dla całego zbioru tj. 0,035 mg/kg, w ziemniakach w woj. małopolskim, mazowieckim w 2002 r. i wielkopolskim.

Oznaczone w latach 2001–2003 średnie zawartości pierwiastków w ziemniakach zestawiono w tab. V w porównaniu do danych krajowych i zagranicznych. Widoczna jest wyraźna tendencja do zmniejszania się zawartości ołowiu, rtęci i chromu oraz sodu i wapnia w ziemniakach w ciągu ostatniego dwudziestolecia w Polsce.

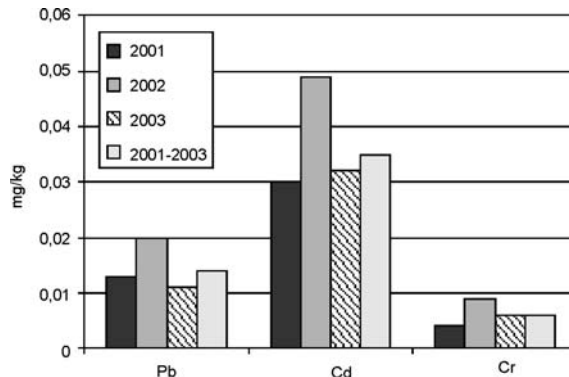
Badanie skutków interakcji zachodzących pomiędzy metalami w ziemniakach przeprowadzono przy wykorzystaniu przedstawionych wyżej wyników oznaczania zawartości metali w próbkach pobranych z upraw gruntowych w siedmiu województwach w ciągu trzech kolejnych sezonów wegetacyjnych. Można więc przyjąć, że materiał ten był dostatecznie różnorodny, aby można było poszukiwać interakcji specyficznych dla danego rodzaju rośliny, niezależnie od wpływów środowiskowych na jej skład mineralny.

Tabela III  
Zawartości metali w ziemniakach (mg/kg) w latach 2001–2003

Table III  
Metal contents in potatoes (mg/kg) in 2001–2003

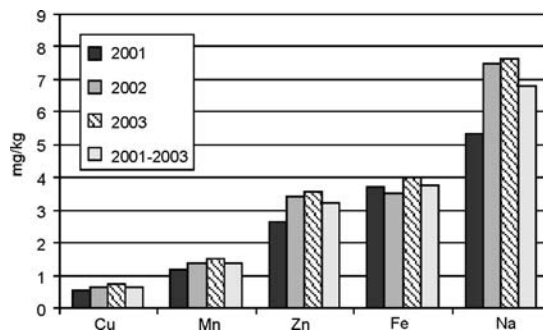
Parametr	Zawartość metali w mg/kg											
	Pb	Cd	Hg	Zn	Cu	Fe	Mn	Cr	Ca	Mg	Na	K
Min	0,001	0,005	0,00001	1,66	0,27	1,79	0,64	<0,001	11,2	111	2,06	2743
Max	0,082	0,117	0,00066	5,71	1,38	6,91	5,29	0,024	70,2	271	14,70	10594
średnia	0,014	0,035	0,00008	3,21	0,64	3,77	1,35	0,006	29,4	187	6,82	4891
mediana	0,010	0,032	0,00005	3,17	0,58	3,67	1,18	0,005	27,2	189	6,37	4220
SD	0,013	0,019	0,00009	0,75	0,24	0,87	0,66	0,005	11,0	40	2,76	1853
SD%	91	53	103	23	37	23	49	84	37	21	40	38
90 perc.	0,032	0,056	0,00017	4,24	0,98	4,82	2,10	0,013	44,5	236	10,74	8087
najcz.	0,008	0,031	0,00004	2,76	0,83	3,25	1,14	0,001	24,5	217	4,16	4716

n = 129



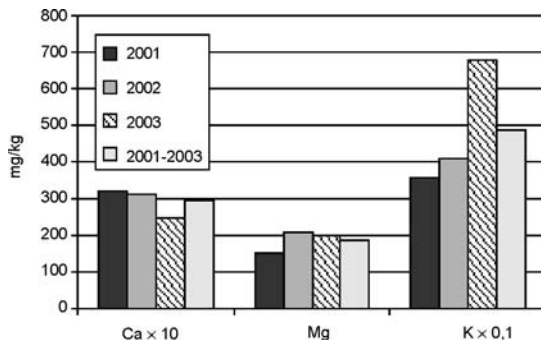
Ryc. 1. Średnie zawartości ołowiu, kadmu i chromu w ziemniakach w kolejnych latach badań i średnia z lat 2001–2003.

Fig. 1. Mean contents of lead, cadmium and chromium in potatoes in 2001–2003.



Ryc. 2. Średnie zawartości miedzi, manganu, cynku, żelaza i sodu w ziemniakach w kolejnych latach badań i średnia zawartość 2001–2003.

Fig. 2. Mean contents of copper, manganese, zinc, iron and sodium in potatoes in 2001–2003.



Ryc. 3. Średnie zawartości wapnia ( $\times 10$ ), magnezu i potasu ( $\times 0,1$ ) w ziemniakach w kolejnych latach badań i średnia zawartość 2001–2003.

Fig. 3. Mean contents of calcium ( $\times 10$ ), magnesium and potassium ( $\times 0,1$ ) 2001–2003.

Tabela IV

Średnie zawartości metali w próbkach ziemniaków pobranych w różnych województwach i latach

Table IV

Mean metal contents in potato samples from various provinces of Poland in different years

Województwo/rok	Średnia zawartość metali w mg/kg												
	n	Pb	Cd	Hg	Zn	Cu	Fe	Mn	Cr	Ca	Mg	Na	K
Mazowieckie 2001	23	0,004	0,010	0,00002	1,66	0,29	2,30	0,68	0,001	11,2	121	3,2	2743
Mazowieckie 2002	19	0,013	0,043	0,00008	3,44	0,61	3,39	1,44	0,005	30,1	198	7,2	4020
Mazowieckie 2003	21	0,011	0,032	0,00006	3,73	0,67	4,06	1,89	0,005	22,1	203	7,8	7637
Kujawsko-pom. 2001	6	0,013	0,023	0,00022	2,33	0,51	3,37	0,97	0,005	27,5	155	3,88	3647
Lubelskie 2001	14	0,013	0,031	0,00013	2,51	0,59	4,26	1,09	0,002	36,3	137	6,07	3606
Wielkopolskie 2002	14	0,007	0,040	0,00005	3,33	0,59	3,91	1,21	0,006	30,0	225	8,09	4299
Małopolskie 2002	8	0,045	0,056	0,00004	3,45	0,89	3,08	1,41	0,011	37,7	196	7,08	3886
Podlaskie 2003	11	0,008	0,030	0,00003	3,12	0,66	4,11	1,20	0,004	29,3	201	8,92	4601
Świętokrzyskie 2003	13	0,013	0,035	0,00003	3,70	0,81	4,14	1,21	0,008	25,1	200	6,51	7359
Cały zbiór	129	0,014	0,035	0,00008	3,21	0,64	3,77	1,35	0,006	29,4	187	6,82	4891

Jako miarę interakcji zachodzących w badanym materiale roślinnym, synergizmu lub antagonizmu przyjęto wystąpienie korelacji dodatnich lub ujemnych pomiędzy zawartością poszczególnych pierwiastków w badanym materiale roślinnym. Analiza korelacji prostych wykonana wstępnie, odrębnie dla wszystkich zbiorów oznaczeń metali w próbkach ziemniaków zależnie od roku czy regionu pobrania próbek wykazała istnienie współzależności pomiędzy poziomem zawartości niektórych pierwiastków w ziemniakach. Jednak z uwagi na stosunkowo małą liczbę danych w każdym zbiorze, ostateczną ocenę występowania współzależności postanowiono przedstawić na przykładzie analizy całego zbioru danych pomiarowych. W tym celu przeprowadzono analizę korelacji cząstkowych, czyli miar bezpośrednich zależności między parami zmiennych z pominięciem wpływu wszystkich pozostałych zmiennych. W tab. VI przedstawiono występujące korelacje (współczynniki korelacji istotnie różne od zera) pomiędzy zawartościami metali w badanych ziemniakach. Uzyskane wyniki wskazały występowanie zarówno synergizmu (korelacje dodatnie) jak i antagonizmu (korelacje ujemne) pomiędzy metalami.

Istotne dodatnie współzależności w ziemniakach wystąpiły pomiędzy niektórymi pierwiastkami śladowymi (kadm i cynkiem, kadm i miedzią, cynkiem i miedzią oraz cynkiem i manganem) jak i pomiędzy pierwiastkami śladowymi i makroelementami (cynkiem i magnezem, miedzią i potasem, żelazem i wapniem oraz żelazem i potasem), a ujemne pomiędzy kadm i potasem, rtęcią i potasem, manganem i wapniem oraz wapniem i potasem.

Tabela V  
Zawartości metali w ziemniakach wg różnych autorów

Table V  
Content of metals in potatoes according to different authors

Pb	Cd	Hg	Zn	Cu	Fe	Mn	Cr	Ca	Mg	Na	K	Piśmiennictwo
0,014	0,035	0,0008	3,21	0,64	3,77	1,35	0,006	29	187	6,82	4891	ta praca
–	–	–	–	–	7,0	–	–	80	140	–	–	17
–	–	–	3,5	1,0	–	1,8	0,023	–	–	70	5570	18
0,08	0,035	0,005	3,5	1,0	–	–	0,04	–	–	–	–	19
–	–	–	3,3	1,0	5,0	1,8	–	40	230	70	4430	20
0,033	0,13	–	3,10	1,27	–	–	–	–	–	–	–	21
–	0,02	–	2,7	0,6	6,6	1,9	–	–	–	–	–	22
0,06	0,021	0,0001	3,51	0,79	–	–	–	–	–	–	–	23
0,04	0,025	0,0004	1,17	0,27	–	–	–	–	–	–	–	24

– Brak danych.

Tabela VI  
Stwierdzone korelacje dodatnie (+) i ujemne (–)  
pomiędzy zawartością poszczególnych metali w ziemniakach

Table VI  
Positive (+) and negative (–) correlation between different metals found in potatoes

Pierwiastki	Korelacja	Pierwiastki	Korelacja	Pierwiastki	Korelacja
Cd : Zn	+	Zn : Cu	+	Fe : Ca	+
Cd : Cu	+	Zn : Mn	+	Fe : K	+
Cd : K	–	Zn : Mg	+	Mn : Ca	–
Hg : K	–	Cu : K	+	Ca : K	–

Tabela VII  
Wpływ wzrostu zawartości makroelementów (Ca, Mg, Na i K) na kierunek zmian  
zawartości ołowiu, kadmu i rtęci w ziemniakach (analiza korelacji kanonicznych)

Table VII  
Impact of increased content of macroelements (Ca, Mg, Na, and K)  
on trends in variations of Pb, Cd and Hg levels in potatoes

Makroelementy	Pierwiastki śladowe		
	Pb	Cd	Hg
Ca ↑, Mg, Na, K = constans	↑	↔	↔
Mg ↑, Ca, Na, K = constans	↓	↑	↓
Na ↑, Ca, Mg, K = constans	↓	↑	↓
K ↑, Ca, Mg, Na = constans	↑	↓	↓

Wbrew oczekiwaniom nie stwierdzono, z nielicznymi wyjątkami, korelacji zwłaszcza ujemnych, pomiędzy makroelementami a metalami ciężkimi, groźnymi dla zdrowia (Pb, Cd i Hg). Jednak wykorzystanie bardziej złożonych metod statystycznych (analiza korelacji kanonicznych) pozwoliło na orientacyjne wskazanie zmian zawartości ołowiu, kadmu oraz rtęci w ziemniakach, powodowanych zmianami zawartości w nich jednego z czterech makroelementów, przy założeniu niezmienności pozostałych trzech. W tab. VII pokazany jest orientacyjnie wpływ wzrostu zawartości makroelementów na zawartość ołowiu, kadmu i rtęci w ziemniakach oraz różne skutki zachodzących interakcji pomiędzy metalami. Analiza kanoniczna potwierdziła ujemną zależność pomiędzy kadmem i potasem oraz rtęcią i potasem, ale nie wykazała spodziewanego potwierdzenia antagonistycznego oddziaływania makroelementów z pierwiastkami śladowymi, a zwłaszcza wpływu wzrostu zawartości wapnia i magnezu na obniżenie zawartości kadmu w bulwach ziemniaków. Wzrostowi zawartości wapnia towarzyszy

zwiększenie zawartości ołowiu, a zawartości kadmu i rtęci pozostają na stałym poziomie. Zwiększaniu zawartości magnezu w ziemniakach towarzyszy spadek zawartości ołowiu i rtęci oraz wzrost zawartości kadmu. Podobnie jest w przypadku wzrostu zawartości sodu.

#### WNIOSKI

1. Występuje dodatnia współzależność (synergizm) pomiędzy niektórymi pierwiastkami śladowymi w ziemniakach; nie stwierdzono antagonizmu pomiędzy badanymi pierwiastkami śladowymi.

2. Występuje dodatnia współzależność (synergizm) pomiędzy niektórymi pierwiastkami śladowymi i niektórymi makroelementami, w tym m.in. pomiędzy ołowiem a wapniem oraz potasem, a także pomiędzy kadmem a magnezem oraz sodem.

3. Występuje ujemna współzależność (antagonizm) pomiędzy zawartością niektórych pierwiastków śladowych i makroelementów, kadmem i potasem, ołowiem a magnezem i sodem, rtęcią a magnezem, sodem i potasem, a także pomiędzy manganem i wapniem oraz wapniem i potasem.

B. Szteke, R. Jędrzejczak, W. Ręczajska

#### RELATIONSHIPS BETWEEN MACROELEMENT AND MICROELEMENT CONTENTS IN POTATOES

#### Summary

The preliminary research has been undertaken to study interactions between various elements in potatoes growing in natural field conditions. Content of 8 microelements (cadmium, chromium, copper, iron, lead, manganese, mercury, zinc), and 4 major elements (sodium, calcium, magnesium, potassium) in potatoes tubers were investigated. To have the results independent of influence of environmental factors, the samples were collected during three successive vegetative periods (2001–2003) from 129 commercial potato plantations in seven regions of Poland. The concentrations of metals in the samples were determined by different AAS techniques (ZETAAS, FAAS, FES and amalgamation flameless atomic absorption spectrometer, AMA). The results were evaluated using statistical analysis methods that involved simple, partial and canonical correlation. They have indicated some relationships between elements in plants, particularly positive correlation (synergism) between Cd and Zn, Cd and Cu, Zn and Cu, Zn and Mn, Zn and Mg, Fe and Ca as well as Fe and K, and also negative correlation (antagonism) between Cd and K, Hg and K, Mn and Ca as well as between Ca and K. However, the results failed to confirm unequivocally the expected negative correlation between the macroelements and toxic metals (Pb, Cd and Hg). Results of canonical correlation analysis confirmed the antagonistic effect of increased K level in potatoes on the contents of Cd and Hg, and showed that increased Ca levels in potatoes are accompanied by higher Pb content, while Cd and Hg remain at the same level. Increased Mg content in the potatoes is accompanied by a reduction in Pb and Hg, and an increase in Cd content. The same is true about increased Na level. Results of this study point to a decrease in mean Pb, Hg, Cr, and also Na and Ca content in potatoes during recent 20 years in Poland.

## PIŚMIENNICTWO

1. *Kabata-Pendias A., Pendias H.*: Biogeochemia pierwiastków śladowych. Wyd. Naukowe PWN, Warszawa 1999. – 2. *Berger S.*: Rola witamin i pierwiastków śladowych w żywieniu człowieka. Mat. Konf. Nauk. nt.: „Witaminy i mikroelementy w żywieniu człowieka – biodostępność i stan odżywienia. Wyd. SGGW, 1998; 15-28. – 3. *Brzozowska A., Roszkowski W.*: Znaczenie biodostępności składników odżywczych dla żywienia człowieka – obecne i przyszłe kierunki badań. Mat. Konf. Nauk. „Witaminy i mikroelementy w żywieniu człowieka – biodostępność i stan odżywienia. Wyd. SGGW, 1998; 29-35. – 4. *Nielson K.K., Mahoney A.W., Rogers V.C.*: X-ray fluorescence and atomic absorption spectrometry measurement in foods. J. Agric. Food Chem., 1988; 36: 1211-1216. – 5. *Wojciechowska-Mazurek M., Karłowski K., Starska K.*: Ocena zawartości ołowiu w wybranych grupach produktów spożywczych. Zeszyty Naukowe Komitetu PAN „Człowiek i środowisko”, 1998; 21: 339-351. – 6. *Dybczyński R.*: Materiały odniesienia i ich rola w zapewnieniu jakości w nieorganicznej analizie śladowej. W: Problemy jakości nieorganicznej analizy śladowej w badaniach środowiska przyrodniczego. Red.: Kabata-Pendias A., Szteke B., Wyd. 2, ŻAK, Warszawa, 1998; 41-78. – 7. *Lorek E., Barczak M., Królik K.*: Zmiany składu chemicznego wybranych rynkowych produktów w województwie katowickim. Roczn. PZH, 1994; 45: 73-79. – 8. *Wiaźbińska J., Puczel U., Majewska E.*: Zawartość magnezu, wapnia i szkodliwych metali ciężkich w owocach bzu czarnego. Biuletyn Magnezologiczny, 1999; 4(1): 207-209. – 9. *Szteke B., Jędrzejczak R., Niepłoch J., Tych W.*: Influence of the environmental factors on cadmium content in strawberry fruit. Fruit Science Report, 1989; 16: 1-6. – 10. *Szteke B., Ręcajska W., Jędrzejczak R.*: Zależność pomiędzy zawartością miedzi a zawartością innych pierwiastków śladowych w wybranych owocach jagodowych (maliny, truskawki). PAN. Kom. Czł. i Środ. ZN., 1996; 14: 189-191.

11. *Szteke B., Jędrzejczak R.*: Miedź w marchwi z upraw towarowych. PAN. Kom. Czł. i Środ. ZN., 1996; 14: 184-188. – 12. *Jędrzejczak R., Szteke B.*: Ołów w glebie i malinach – badania środowiskowe. PAN. Kom. Czł. i Środ. ZN., 1998; 21: 295-302. – 13. Roczn. Stat. 2004. – 14. Praca zbiorowa. Chemia Żywności. Skład, przemiany i właściwości żywności. red. E. Sikorskiego, WNT, Warszawa, 2000; 45. – 15. *Jędrzejczak R., Ręcajska W., Szteke B.*: Weryfikacja metod oznaczania pierwiastków w żywności pochodzenia roślinnego. Pr. Inst. Lab. Bad. Przem.Spoż., 2000; 55: 152-174. – 16. *Ręcajska W., Jędrzejczak R., Szteke B.*: Zastosowanie techniki ZETAAS do oznaczania zawartości kadmu w żywności. PAN. Kom. Czł. i Środ. ZN., 2000; 26: 497-504. – 17. *Piekarska J., Łoś-Kuczera M.*: Skład i wartość odżywcza produktów spożywczych, PZWL, Warszawa, 1983; 211 s. – 18. *Łoś-Kuczera M., Piekarska J.*: Skład i wartość odżywcza produktów spożywczych Cz. II -VII, PZWL, Warszawa, 1988; 496 s. – 19. *Marzec Z., Kunachowicz H., Iwanow K., Rutkowska U.*: Tabele zawartości pierwiastków śladowych w produktach spożywczych. IŻŻ, Warszawa, 1992; 123 s. – 20. *Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K.*: Tabele wartości odżywczej produktów spożywczych. Wyd. Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa, 1998; 694 s.

21. *Orzeł D., Figurska-Ciura D., Styczyńska M., Bronkowska M., Żechałko-Czajkowska A.*: Ocena zanieczyszczenia metalami ciężkimi produktów żywnościowych z rejonu oddziaływania Huty Miedzi „Głogów”. Cz. II, Bromat. Chem. Toksykol., 2004; 37: 317-322. – 22. *Hajslova J., Schulzova V., Slanina P., Janne K., Hellenas K.E., Andersson Ch.*: Quality of organically and conventionally grown potatoes: four-year study of micronutrients, metals, secondary metabolites, enzymatic browning and organoleptic properties. Food Addit. Contam. 2005; 22(6): 514-534. – 23. Raport z monitoringu jakości gleb, roślin, produktów rolniczych i spożywczych w 2000 r. Praca zbiorowa red. W. Michna, B. Szteke, MRiRW, Warszawa 2001. – 24. Raport z badań monitoringowych jakości gleb, roślin, produktów rolniczych i spożywczych w 2001, Praca zbiorowa red. W. Michna, B. Szteke, MRiRW, Warszawa, 2002.

Adres: 02-532 Warszawa, ul. Rakowiecka 36.

*Barbara Kusznerewicz, Lidia Wolska,  
Agnieszka Bartoszek<sup>1)</sup>, Jacek Namieśnik*

**METODY OZNACZANIA *IN VITRO* WŁAŚCIWOŚCI  
PRZECIWUTLENIAJĄCYCH PRÓBEK ŻYWNOŚCI.  
Cz. I.<sup>\*)</sup>**

Katedra Chemii Analitycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej  
Kierownik: prof. dr hab. inż. *J. Namieśnik*

<sup>1)</sup> Katedra Technologii Leków i Biochemii Wydziału Chemicznego  
Politechniki Gdańskiej  
Kierownik: prof. dr hab. inż. *J. Mazerski*

**Hasła kluczowe:** przeciwutleniacze, mechanizm typu SET, metody oznaczania, zdolność przeciwutleniająca.

**Key words:** antioxidants, SET reaction mechanisms, assays, antioxidant capacity.

Prowadzone badania epidemiologiczne dostarczają wciąż nowych dowodów wskazujących na ciągłe powiększanie się grupy ludzi o podwyższonym ryzyku zachorowania na choroby cywilizacyjne np. miażdżycę, cukrzycę, choroby ośrodkowego układu nerwowego, układu pokarmowego czy też nowotwory. Wiele danych sugeruje, że występowanie tych chorób może być rezultatem stresu oksydacyjnego prowadzącego do różnorodnych zmian w ludzkim organizmie, wywołanych działaniem tzw. reaktywnych form tlenu (RFT).

Organizm broni się przed RFT wykorzystując kilka systemów enzymatycznych (dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza, peroksydaza glutationowa, etc.) oraz endogenne przeciwutleniacze. Tę naturalną ochronę wspomagać mogą również przeciwutleniacze pochodzenia egzogenne dostarczane w codziennej diecie. Badania zarówno eksperymentalne, kliniczne, jak i obserwacje stanu zdrowia grup ludności potwierdzają korzystne działanie diety bogatej w owoce i warzywa w prewencji chorób cywilizacyjnych ściśle związanych ze stresem oksydacyjnym takich, jak: wieńcowa choroba serca czy choroby nowotworowe. Dlatego też przeciwutleniacze jako czynnik profilaktyczny stały się ostatnio głównym tematem zainteresowań wielu ośrodków badawczych. Z powodu złożonej matrycy produktów żywnościowych rozdzielnym i indywidualnym oznaczeniem każdego przeciwutleniacza jest procesem zarówno bardzo kosztownym, na ogół niewydajnym lub wręcz często niemożliwym do przeprowadzenia ze względu na występowanie synergicznych interakcji pomiędzy różnymi przeciwutleniaczami obecnymi w żywności. Z tego względu pojawiło się zapotrzebowanie na szybkie testy umożliwiające pomiar całkowitej zawartości przeciwutleniaczy, czy też ogólnej siły przeciwutleniającej produktów żywnościowych, a w szczególności świeżych warzyw i owoców stanowiących główne źródło naturalnych przeciwutleniaczy w diecie. Metody takie stanowią niezwykle ważne narzędzie do monitorowania na szeroką skalę poziomu przeciwutleniaczy m.in. w różnych typach warzyw i owoców w celu oceny odmiany oraz wpływu stopnia dojrzałości, sposobu uprawy czy warunków przechowywania i transportu na zawartość tych cennych substancji.

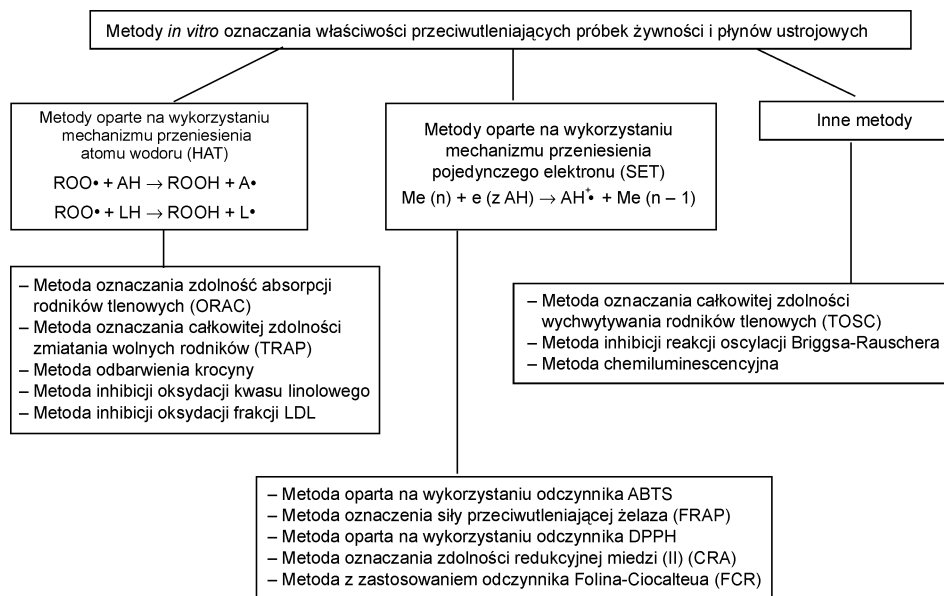
<sup>\*)</sup> Praca została wykonana w ramach projektu 2P06T08526, finansowanego przez KBN.

Mechanizmy reakcji wykorzystywane w metodach pomiaru zdolności przeciwutleniających

Przeciwutleniacze charakteryzuje zdolność do dezaktywacji rodników w oparciu o dwa podstawowe mechanizmy reakcji: mechanizm przeniesienia pojedynczego elektronu tzw. SET (ang. *single electron transfer*) oraz mechanizm przeniesienia atomu wodoru tzw. HAT (ang. *hydrogen atom transfer*). Oba te mechanizmy mogą też występować równolegle, natomiast dominujący mechanizm w systemie będzie zależał od właściwości przeciwutleniacza, rozpuszczalności, współczynnika podziału oraz układu stosowanych rozpuszczalników (1). Głównymi jednak czynnikami determinującymi mechanizm reakcji oraz efektywność działania przeciwutleniaczy są wartość energii dysocjacji wiązania (ang. *bond dissociation energy* – BDE) oraz wartość potencjału jonizacji (ang. *ionisation potential* – IP).

Na ryc. 1 przedstawiono podział metod ze względu na wykorzystywany mechanizm reakcji służących do oznaczania *in vitro* właściwości przeciwutleniających próbek żywności, płynów ustrojowych lub czystych substancji.

W pracy przedstawiono najczęściej wykorzystywane metody oznaczania zdolności przeciwutleniających próbek żywności opartych na mechanizmie reakcji typu SET.



Ryc. 1. Klasyfikacja metod oznaczania *in vitro* właściwości przeciwutleniających próbek żywności, płynów ustrojowych lub czystych substancji (2).

Fig. 1. In vitro antioxidant capacity assays (2).

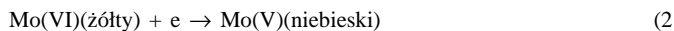
#### Metody oparte na wykorzystaniu mechanizmu typu SET

Charakterystyczną cechą tych metod jest skład mieszaniny reakcyjnej, którą stanowią głównie dwa składniki: przeciwutleniacz i utleniacz zmieniający barwę wskutek redukcji. Przeniesienie elektronu z przeciwutleniacza na utleniacz powoduje zmianę zabarwienia próbki w sposób proporcjonalny do stężenia przeciwutleniacza. Punkt końcowy reakcji zostaje osiągnięty w momencie ustabilizowania się barwy. Uzyskane wyniki przelicza się najczęściej na równoważniki Troloxu (ang. *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) TEAC. Trolox jest to syntetyczna substancja wzorcowa będąca hydrofilową pochodną witaminy E wykazująca silną aktywność przeciwutleniającą (ryc. 2).

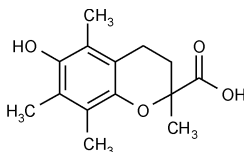
#### Metoda z zastosowaniem odczynnika Folina-Ciocalteua (FCR)

Metodę FCR po raz pierwszy zastosowano w 1927 r. do oznaczenia tyrozyny w białkach (3). Poddano wówczas utlenieniu próbkę za pomocą wolframanu molibdenu uzyskując barwny produkt z maksimum absorpcji i przy dł. fali 745–750 nm (1, 2).





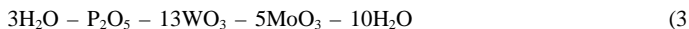
Dlatego też metoda FCR przez wiele lat używana była nie tyle do oznaczenia całkowitej zdolności przeciwutleniającej, co do oznaczenia całkowitej zawartości związków fenolowych w naturalnych produktach. Jednak w wielu publikacjach opisywano zastosowanie kilku metod opartych na mechanizmie reakcji SET obok metody FCR (FRAP, ABTS itd.) i bardzo często stwierdzono statystycznie wysoce istotną korelację pomiędzy zawartością fenoli, a aktywnością przeciwutleniającą analizowanej próbki.



Ryc. 2. Struktura Troloxu (kwas 6-hydroksy-2,5,7,8 tetrametylochromano-2-karboxylowy).

Fig. 2. Structure of Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic Acid).

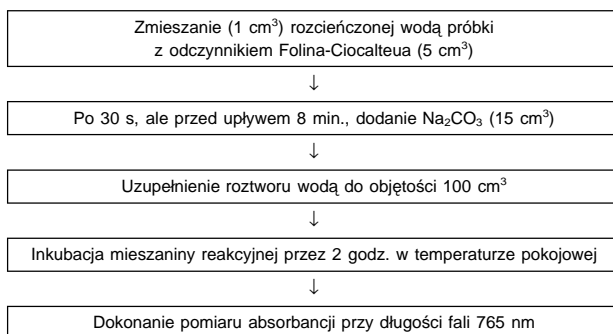
Stwierdzono (4), że za pomocą odczynnika heteropolianionu molibdeno-wolframiano-fosforanowego (3) fenole mogą być redukowane w sposób bardziej selektywny tworząc produkty reakcji o maksimum absorpcji przy dł. fali równej 765 nm.



Na podstawie danych literaturowych można stwierdzić, że brak standaryzacji tej metody (odmienne stężenia reagentów, różny czas dodawania poszczególnych składników oraz inkubacji, zastosowanie różnych wzorców odniesienia) prowadzić może do dużej rozbieżności przedstawianych wyników. Toteż w celu otrzymania pewnych wyników oznaczeń zaproponowano obowiązkowe etapy postępowania i warunki reakcji:

- właściwy stosunek objętościowy substancji alkalicznych i odczynnika Folina-Ciocalteua;
- optymalny czas reakcji i temperatura dla otrzymania właściwej barwy próbki;
- monitorowanie gęstości optycznej przy 765 nm;
- użycie kwasu galusowego jako wzorca odniesienia dla fenoli.

Na ryc. 3 przedstawiono schemat zaproponowanego postępowania analitycznego.



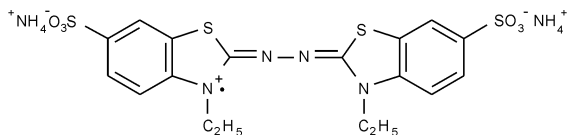
Ryc. 3. Tok postępowania i warunki prowadzenia reakcji zapewniające zminimalizowanie zmienności i eliminację błędnych wyników w przypadku stosowania metody FCR

Fig. 3. Procedure and reaction conditions of FCR assay ensures minimisation or elimination of errors.

Ze względu na łatwość wykonania metoda FCR może być wykorzystywana do wstępnej charakterystyki i standaryzacji próbek roślinnych pod warunkiem, że zapewniona jest stałość warunków reakcji. Natomiast trudną do wyeliminowania wadą jest to, że z odczynnikami Folina-Ciocalteu reagują liczne substancje naturalne towarzyszące związkom fenolowym takie, jak: cukry, aminy aromatyczne, ditlenek siarki, kwas askorbinowy, kwasy organiczne, Fe(II) i wiele innych.

#### Metoda oparta na wykorzystaniu odczynnika ABTS

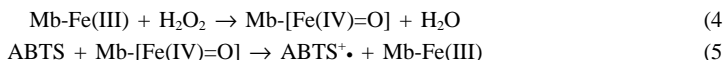
Metoda ta po raz pierwszy została opisana w 1993 r. (5). W pierwotnej wersji polegała na inkubacji związku ABTS [2,2'-azynobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian)] z metmioglobina pełniącą rolę peroksydazy (pseudoperoxydaza) i nadtlakiem wodoru w celu wytworzenia stosunkowo stabilnego kationorodnika ABTS (ryc. 4).



Ryc. 4. Struktura kationorodnika ABTS<sup>•+</sup> [2,2'-azynobis(3etylobenzotiazolino-6-sulfonian)].

Fig. 4. Structure of ABTS<sup>•+</sup> radical cation [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)].

Obecność przeciwutleniaczy w roztworze powoduje redukcję barwnego kationorodnika, co wiąże się z zanikaniem niebieskozielonej barwy roztworu, a spadek jej intensywności jest proporcjonalny do zawartości przeciwutleniaczy. Schematy wspomnianych reakcji podano poniżej (4, 5):



gdzie:

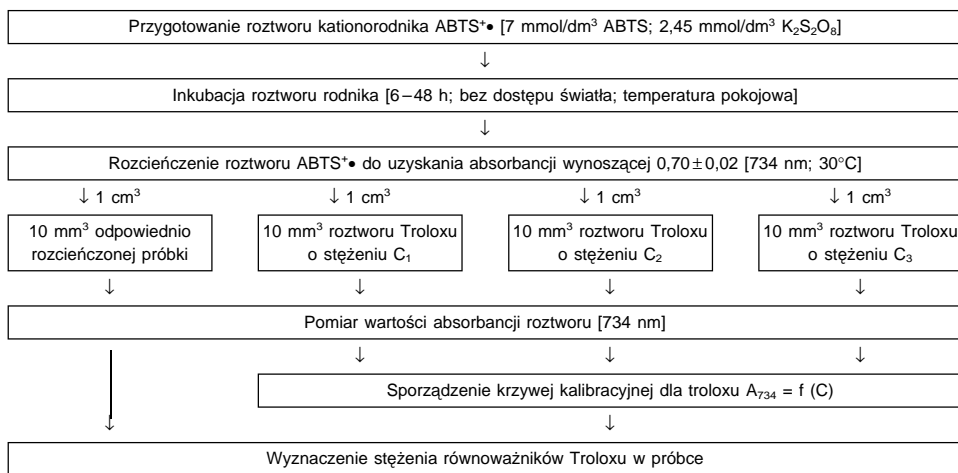
Mb-Fe(III)-metmioglobina; Mb-[Fe(IV)=O]-ferylomioglobina;  
ABTS – (2,2'-azynobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian).

Metoda ta umożliwia pomiar zarówno całkowitej aktywności przeciwutleniającej próbek czystych substancji, jak i całkowitej zdolności przeciwutleniającej próbek żywności czy płynów ustrojowych. Zazwyczaj zawartość przeciwutleniaczy w analizowanych próbkach wyrażana jest jako liczba równoważników Troloxu na jednostkę objętości bądź masy próbki (TEAC).

Metoda ta jest jednak krytykowana głównie z tego powodu, że kolejność dodawania poszczególnych reagentów wpływać może na wynik pomiaru. Przeciwutleniacz może bowiem reagować z czynnikiem utleniającym (np. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), co w konsekwencji unieczynnia ten drugi, obniżając wydajność tworzenia rodnika ABTS i tym samym prowadzi do przeszacowania zdolności przeciwutleniającej próbki (6). Wada ta, skłoniła badaczy do poszukiwania bardziej optymalnych warunków prowadzenia reakcji. Stwierdzono, że zyskałaby ona szersze zastosowanie pod warunkiem możliwości generacji stabilnej formy wolnego rodnika przed pomiarem. W ulepszonej wersji metody, testowana próbka jest dodawana już po wygenerowaniu określonej ilości kationorodnika ABTS<sup>•+</sup>, co minimalizuje interferencję składników badanej próbki z utleniaczami podczas powstawania rodników. Tworzenie się kationorodnika ABTS uzyskiwano zarówno na drodze reakcji chemicznych np. z ditlenkiem manganu (7), związkiem ABAP (8) oraz nadsiarczanem potasu (9) lub też wykorzystując reakcje enzymatyczne np. z metmioglobina (5), hemoglobina czy peroksydazą chrzanową (10, 11). Według najnowszych doniesień literaturowych najczęściej używana jest odmiana metody wykorzystująca nadsiarczan potasu do wytworzenia kationorodnika. Dodatek przeciwutleniacza do roztworu redukuje wytworzony wcześniej kationorodnik ABTS, w stopniu zależnym od czasu trwania reakcji, stężenia przeciwutleniacza oraz jego aktywności. Jednocześnie, w celu sporządzenia krzywej kalibracji równolegle prowadzi się pomiar absorbancji próbek zawierających odpowiednie stężenia substancji wzorcowej, najczęściej Troloxu (0–15 μmol/dm<sup>3</sup>) i na tej podstawie wyznacza się zdolność przeciwutleniającą próbki wyrażoną w równoważnikach Troloxu.

Na ryc. 5 przedstawiono schemat postępowania wykorzystywany podczas pomiaru zdolności przeciwutleniającej próbki z wykorzystaniem metody ABTS.

Ze względu na prostotę wykonania, metoda z wykorzystaniem odczynnika ABTS jest rutynowo stosowana w wielu laboratoriach zajmujących się oznaczaniem właściwości przeciwutleniających próbek zarówno hydrofobowych i hydrofilowych przeciwutleniaczy, czystych substancji oraz ekstraktów żywnościowych. Jej zaletą, jest duża szybkość reakcji kationorodnika ABTS z przeciwutleniaczami, typowo w ciągu ok. 30 min. oraz rozpuszczalność ABTS<sup>•+</sup> zarówno w wodnych, jak i organicznych rozpuszczalnikach.

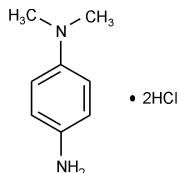


Ryc. 5. Schemat postępowania wykorzystywany podczas pomiaru zdolności przeciwutleniającej próbki za pomocą metody ABTS (9).

Fig. 5. Scheme of ABTS assay procedure (9).

#### Metoda oparta na zastosowaniu odczynnika DMPD

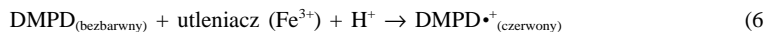
Podobne podejście, jak w metodzie z użyciem ABTS zostało wykorzystane w metodzie gdzie jako źródło rodników zastosowano dichlorowoderek dimetylo-p-fenylenodiaminy (DMPD) (ryc. 6).



Ryc. 6. Struktura chemiczna związku DMPD (dichlorowoderek dimetylo-p-fenylenodiaminy).

Fig. 6. Chemical structure of DMPD (dimethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride).

W wodnym roztworze w kwaśnym środowisku i w obecności utleniaczy DMPD może tworzyć stabilny barwny kationorodnik DMPD<sup>•+</sup> o maksimum absorbancji przy dł. fali równej 505 nm. Przewodniacze działające na kationorodnik powodują odbarwienie roztworu w sposób proporcjonalny do ich zawartości. Schematy tych reakcji można przedstawić za pomocą równań (6, 7):



Badania, w których poddano testom trzy rodzaje utleniaczy (nadtlenek wodoru, ABAP,  $\text{FeCl}_3$ ) wykazały, że wybór roztworu utleniacza oraz stosunek pomiędzy stężeniem DMPD oraz stężeniem składnika utleniającego jest decydujący dla otrzymania stabilnej formy rodnika (12). Najlepsze rezultaty uzyskano stosując chlorek żelaza jako utleniacz, gdzie przy końcowym stęż.  $0,1 \text{ mmol/dm}^3$  otrzymano roztwór rodnika o stabilnej przez co najmniej godzinę barwie. Dodatkowo, zastosowanie chlorku żelaza jako utleniacza gwarantuje wysoką powtarzalność wyników oraz stosunkowo niski koszt oznaczeń. Z kolei wysoką czułość pomiarów oraz optymalny zakres inhibicji gwarantuje zastosowanie roztworu chromoforu o wyjściowej wartości absorbancji w zakresie  $0,8 - 1,0$  przy dł. fali równej  $505 \text{ nm}$ . Wartość ta możliwa jest do osiągnięcia przy wyjściowym stężeniu DMPD równym  $1 \text{ mmol/dm}^3$ . Wyższe stężenie DMPD nie powoduje wzrostu natężenia barwy roztworu, a może być przyczyną zafałszowań wyników spowodowanych problemami z odbarwieniem roztworu. Optymalne wyniki uzyskano w przypadku stosowaniu odczynników DMPD i  $\text{Fe}^{3+}$  w stosunku molowym 10:1.

Tak, jak w przypadku wcześniej omawianych metod, najczęściej zdolność przeciwutleniająca analizowanych próbek ilościowo wyraża się jako stężenie równoważników Troloxu w próbce, a wyznacza ją na podstawie krzywej kalibracyjnej  $f(C_{\text{Trolox}}) = \text{AE}$  gdzie wartość AE oblicza się z równania:

$$\text{AE}_{505}(\%) = (1 - A_f/A_0) \times 100 \quad (8)$$

gdzie:

$A_0$  – absorbancja wyjściowego roztworu kationorodnika;

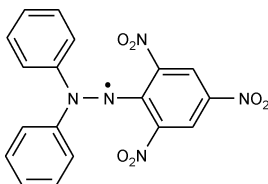
$A_f$  – absorbancja mierzona po 10 min. od dodania przeciwutleniacza;

AE – procentowa zawartość kationorodnika zredukowanego po 10 min. od momentu dodania przeciwutleniacza.

Metoda z użyciem DMPD uznawana jest za odpowiednią do monitorowania na szeroką skalę właściwości przeciwutleniających wodnych ekstraktów próbek żywności. Główną jej zaletą jest to, że opiera się ona na redukcji kationorodników w ustalonym czasie, a nie na szybkości redukcji. Pozwala to, uniknąć problemów związanych z monitorowaniem przebiegu czasu odbarwienia roztworu reakcyjnego, co często stanowi trudność w innych metodach.

Metoda oparta na wykorzystaniu odczynnika DPPH

Związek DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl) (ryc. 7) jest jednym z kilku stabilnych i komercyjnie dostępnych rodników azowych. Roztwory tego związku mają barwę purpurową z maksimum absorbancji przy dł. fali  $515 \text{ nm}$ .



Ryc. 7. Struktura chemiczna rodnika DPPH (2,2-difenylo-1 pikrylohydrazyl).

Fig. 7. Chemical structure of DPPH radical (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

W trakcie reakcji redukcji pod wpływem aktywności przeciwutleniaczy barwa roztworu zanika; postęp reakcji można monitorować spektrofotometrycznie przy dł. fali równej  $515 \text{ nm}$ . Procentową zawartość pozostałego (niezredukowanego) rodnika DPPH przelicza się na podstawie wzoru (9):

$$\% \text{DPPH}_{\text{rem}} = 100 \times [\text{DPPH}]_{\text{rem}} / [\text{DPPH}]_{\text{T=0}} \quad (9)$$

gdzie:

$\% \text{DPPH}_{\text{rem}}$  – procentowa zawartość pozostałego niezredukowanego rodnika;

$[\text{DPPH}]_{\text{T=0}}$  – wyjściowa wartość absorbancji roztworu;

$[\text{DPPH}]_{\text{rem}}$  – wartość absorbancji roztworu po dodaniu przeciwutleniacza.

Wartość  $DPPH_{rem}$  jest odwrotnie proporcjonalna do stężenia przeciwutleniacza w próbce. Stężenie przeciwutleniacza powodujące spadek początkowego stężenia rodnika DPPH o 50% nosi nazwę parametru  $EC_{50}$ . Natomiast okres czasu potrzebny na redukcję wartości początkowego stężenia rodnika DPPH o 50% wyznaczany jest graficznie z krzywej kinetyki reakcji i określany jest jako parametr  $T_{EC50}$ . W celu wyrażenia aktywności przeciwutleniającej poszczególnych substancji stosuje się kolejny parametr, tzw. sprawność przeciwrodnikową (ang. *antiradical efficiency*) – AE (13), który wyznacza się na podstawie wzoru (10):

$$AE + (1/EC_{50})T_{EC50} \quad (10)$$

gdzie:

AE – sprawność przeciwrodnikowa;

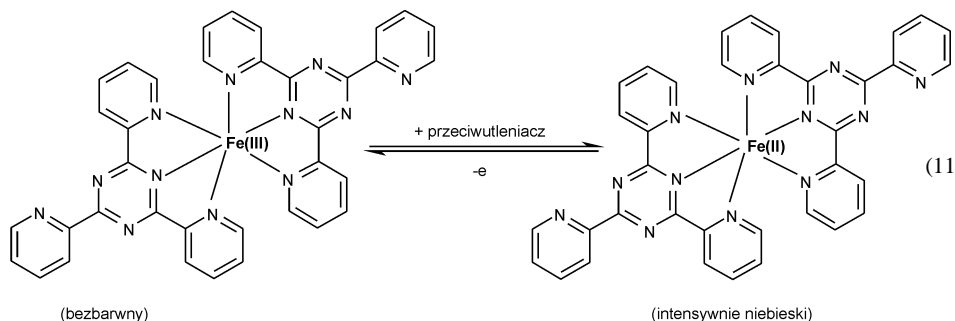
$E_{50}$  – stężenie przeciwutleniacza powodujące spadek początkowego stężenia rodnika o 50%;

$T_{EC50}$  – okres czasu potrzebny na redukcję wartości początkowego stężenia rodnika o 50%.

Metoda oparta na wykorzystaniu odczynnika DPPH jest technicznie dosyć prosta, jednak posiada pewne wady ograniczające jej zastosowanie. Właściwości samego azowego rodnika DPPH znacznie się różnią od wykazywanych przez rodniki o wysokiej reaktywności, np. powstające wskutek peroksydacji lipidów. Wiele związków należących do grupy przeciwutleniaczy, które zazwyczaj szybko reagują z rodnikiem nadtlenkowym, może reagować o wiele wolniej lub nawet być obojętnymi wobec rodnika DPPH.

Metoda oznaczania zdolności redukowania jonów żelaza (ferric ion reducing antioxidant parameter – FRAP)

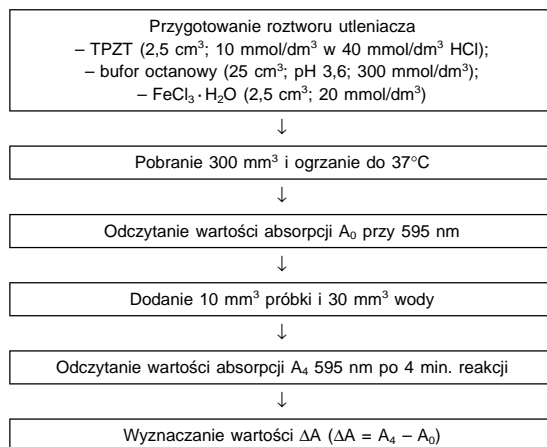
Metoda FRAP była wykorzystywana przede wszystkim w celu oznaczania siły redukcyjnej płynów ustrojowych (14, 15). Ostatnio została ona również przystosowana do badań nad przeciwutleniaczami pochodzenia roślinnego (16, 17, 18, 19, 20). Zasada metody opiera się na redukcji związku TPTZ (kompleks żalazowo-2,4,6-tripirydylo-S-triazyny) pod wpływem działania przeciwutleniacza do intensywnie niebieskiego produktu odznaczającego się maksimum absorpcji przy dł. fali 595 nm [11] (14, 15).



Ilościowo zdolność przeciwutleniającą próbki oznacza się na podstawie porównania wartości zmiany absorpcji  $\Delta A$  analizowanej próbki z wartością  $\Delta A$  wyznaczoną dla roztworu wzorcowego Fe(II). Wyznaczona wartość  $\Delta A$  próbki jest wprost proporcjonalna do stężenia przeciwutleniacza. Ogólnie przyjęto, że jednostka FRAP określa zdolność redukcji 1 mola żelaza(III) do żelaza(II).

Na ryc. 8 przedstawiono schemat postępowania w celu oznaczenia zdolności przeciwutleniającej próbki za pomocą metody FRAP (2).

Reakcja, która jest podstawą metody FRAP może służyć do wykrywania substancji odznaczających się potencjałem redoks mniejszym niż 0,7 V (potencjał redoks  $Fe^{3+} - TPZT = 0,7$  V), dlatego też metoda ta, może być używana jako metoda przesiewowa w oznaczeniach zdolności przeciwutleniającej komórek i tkanek. Metoda FRAP pokazuje jednak zdolność badanej próbki do redukcji jonu żelazowego, co może nie odzwierciedlać rzeczywistej aktywności przeciwutleniającej tej próbki. Jej zaletą jest natomiast prostota wykonania, szybki przebieg, niski koszt i to, że nie wymaga zastosowania specjalistycznego sprzętu.

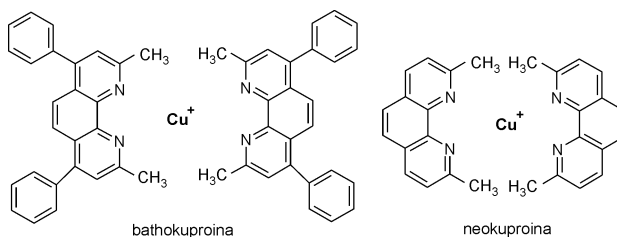


Ryc. 8. Schemat postępowania wykorzystywany podczas pomiaru zdolności przeciwutleniającej próbki za pomocą metody FRAP.

Fig. 8. Scheme of FRAP assay.

#### Metoda oznaczania zdolności redukowania miedzi(II) (Copper Reduction Assay – CRA)

Metoda CRA została niedawno przedstawiona przez firmy Bioxytech AOP-490 (21) i CUPRAC (22). Zasada metody opiera się na pomiarze wartości absorpcji barwnego kompleksu miedzi Cu(I) powstałego na skutek redukcji kompleksu Cu(II) pod wpływem działania przeciwutleniaczy obecnych w próbce. Można ją uznać za wariant metody FRAP wykorzystujący jony miedzi zamiast żelaza. W przypadku metody Bioxytech AOP-4990 związek o nazwie bathokuproina (2,9-dimetylo-4,7-difenylo-1,10-fenantrolina) tworzy pomarańczowy kompleks z miedzią(I) w stosunku molowym 2:1 będący chromoforem z maksimum absorpcji przy dł. fali równej 490 nm (ryc. 10). W przypadku metody firmy CUPRAC stosuje się pokrewny związek neokuproinę (2,9-dimetylo-1,10-fenantrolina) tworzący pomarańczowo-żółty kompleks z Cu(I) z maksimum absorpcji przy dł. fali równej 450 nm (ryc. 9).



Ryc. 9. Struktury dwóch odczynników najczęściej używanych w metodzie CRA.

Fig. 9. Structures of bathocuproina and neocuproina used in CRA.

Z reguły kompleksy fenantroliny z miedzią odznaczają się bardzo ograniczoną rozpuszczalnością w wodzie, dlatego mieszanina reakcyjna powinna zawierać rozpuszczalniki organiczne (np. etanol o stęż. 95%).

Ilościowo zdolność przeciwutleniającą analizowanej próbki podaje się jako stężenie równoważników kwasu moczowego w próbce. W tym celu należy sporządzić wykres zależności absorpcji wspomnianego kompleksu z miedzią(I) dla różnych stężeń kwasu moczowego, który w zakresie stężeń tego ostatniego wynoszącym 0,05 do 2 mmol/dm<sup>3</sup> ma przebieg prostoliniowy.

Wyniki oznaczeń uzyskane za pomocą metody CRA wykorzystującej odczynnik bathokuproinę są porównywalne z wynikami uzyskiwanymi dla niektórych polifenoli badanych z wykorzystaniem metody ABTS. Jednak w przypadku metody FRAP uzyskiwane wartości są zazwyczaj niższe. Wynika to z faktu, że miedź zawarta w kompleksie z fenantroliną posiada niższy niż żelazo potencjał redoks. Sprzyja to jednak poprawie selektywności, bowiem cukry i kwas cytrynowy zazwyczaj stanowiące interferenty w metodzie FRAP nie są utleniane w przypadku stosowania metody CRA. Kolejną zaletą metody CRA w stosunku do metody FRAP jest możliwość oznaczenia wszystkich klas przeciwutleniaczy włączając w to także tiole. Kinetyka reakcji redukcji kompleksu miedzi jest również szybsza niż kompleksu żelaza. Niestety i w tym przypadku nie sposób uniknąć problemów wynikających ze złożoności matrycy analizowanych próbek organicznych oraz określenia optymalnego czasu reakcji dla poszczególnych przeciwutleniaczy.

Podsumowanie dotyczące metod opartych zarówno na wykorzystaniu mechanizmu SET jak i HAT zostanie przedstawione w części II opracowania.

Wykaz użytych skrótów i akronimów: ABAP – 2,2'-azo-bis-amidynopropan, (ang. *2,2'-azo-bis-amidinopropane*); ABTS – 2,2'-azynobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulofonian), (ang. *2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)*); AE – sprawność przeciwrodnikowa, (ang. *antiradical efficiency*); BDE – energia dysocjacji wiązania, (ang. *bond dissociation energy*); CRA – metoda oznaczania zdolności redukcyjnej miedzi(II), (ang. *copper reduction assay*); DMPD – dihydrochlorek dimetylo-p-fenylendiaminy, (ang. *dimethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride*); DPPH – 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl, (ang. *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*); FCR – metoda z zastosowaniem odczynnika Folin-Ciocalteu, (ang. *Folin-Ciocalteu reagent*); FRAP – metoda oznaczania zdolności redukcjonowania jonów żelaza, (ang. *ferric ion reducing antioxidant parameter*); HAT – mechanizm przeniesienia atomu wodoru, (ang. *hydrogen atom transfer*); IP – potencjał jonizacji, (ang. *ionisation potential*); RFT – reaktywne formy tlenu, (ang. *reactive oxygen species*); SET – mechanizm przeniesienia pojedynczego elektronu, (ang. *single electron transfer*); TEAC – metoda oznaczenia zdolności przeciwutleniającej równoważników Troloxu, (ang. *Trolox equivalent antioxidant capacity*); TPTZ – kompleks żelazowo-2,4,6-tripirydylo-s-triazyny, (ang. *ferric 2,4,6-tripyridyl-s-triazine*).

B. Kuszczewicz, L. Wolska, A. Bartoszek, J. Namieśnik

#### METHODS FOR *IN VITRO* DETERMINATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF FOODSTUFF SAMPLES. PART I.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Wright J.S., Johnson E.R., DiLabio G.A.: Predicting the activity of phenolic antioxidants: Theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants. *J. Am. Chem. Soc.*, 2001; 123: 1173-1183. – 2. Huang D., Ou B., Prior R.L.: The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *J. Agric. Food Chem.*, 2005; 53: 1841-1856. – 3. Folin O.: Tyrosine and tryptophan determinations in proteins. *J. Biol. Chem.*, 1927; 73: 672-649. – 4. Singleton V.L., Rossi J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1965; 16: 144-158. – 5. Miller N.J., Diplock A.T., Rice-Evans C., Davies M.J., Gopinathan V., Milner A.: A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin. Sci.*, 1993; 84: 407-412. – 6. Strube M., Haenen G.R.M.M., Van den Berg H., Bast A.: Pitfalls in a method for assessment of total antioxidant capacity. *Free Radical Res.*, 1997; 26: 515-521. – 7. Miller N.J., Sampson J., Candeias L.P., Bramley P.M., Rice-Evans C.A.: Antioxidant activities of carotens and xanthophylls. *FEBS Lett.*, 1996; 384: 240-242. – 8. Van den Berg R., Haenen G.R.M.M., Van den Berg H., Bast A.: Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chem.*, 1999; 66: 511-517. – 9. Pellegrini R.N., Proteggente A., Pannala A., Yang M.,

*Rice-Evans C.*: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.*, 1999; 26: 1231-1237. – 10. *Cano A., Alcaraz O., Acosta M., Arnao M. B.*: On-line antioxidant activity determination: comparison of hydrophilic and lipophilic antioxidant activity using the ABTS<sup>•+</sup> assay. *Redox Report.*, 2002; 7: 103-109.

11. *Arnao M.B., Cano A., Hernandez-Ruiz J., Garcia-Canovas F., Acosta M.*: Inhibition by L-ascorbic acid and other antioxidants of the 2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) oxidation catalyzed by peroxidase: a new approach for determining total antioxidant status of foods. *Anal. Biochem.*, 1996; 35: 255-261. – 12. *Fogliano V., Verde V., Randazzo G., Ritieni A.*: Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *J. Agric. Food Chem.*, 1999; 47: 1035-1040. – 13. *Jimenez-Escrig A., Jimenez-Jimenez I., Sanchez-Moreno C., Saura-Calixto F.*: Evaluation of free radical scavenging of dietary carotenoids by the stable radical 2,2-diohenyl-1-picrylhydrazyl. *J. Sci. Food Agric.*, 2000; 80: 1686-1690. – 14. *Benzie I.F. F.*: An automated, specific, spectrophotometric method for measuring ascorbic acid in plasma (EFTSA). *Clin. Biochem.*, 1996; 111-116. – 15. *Benzie I.F. F., Strain J.J.*: The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Anal Biochem.*, 1996; 239: 70-76. – 16. *Pellegrini N., Serafini M., Colombi B., Del Rio D., Salvatore S., Bianchi M., Brighenti F.*: Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J. Nutr.*, 2003; 133: 2812-2819. – 17. *Benzie I.F.F., Szeto Y.T.*: Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem.*, 1999; 47: 633-636. – 18. *Ou B., Huang D., Hampsch-Woodill M., Flanagan J., Deemer E.*: Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *J. Agric. Food Chem.*, 2002; 50: 3122-3128. – 19. *Gil M.I.*: Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J. Agric. Food Chem.*, 2000; 48: 4581-4589. – 20. *Proteggente A.R., Pannala A.S., Paganga G., Van Buren L., Evans C.A.*: The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free Radical Res.*, 2002; 36: 217-233. – 21. *Oxis International I.*: Antioxidant markers. AOP-490 assay, 2002. – 22. *Apak R., Guclu K.G., Ozyurek M., Karademir S.E.*: Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamin C and E, using their cupric iron reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *J. Agric. Food Chem.*, 2004; 52: 7970-7981.

Adres: 80-952 Gdańsk, ul. Narutowicza 11/12.



*Barbara Kusznerewicz, Lidia Wolska,  
Agnieszka Bartoszek<sup>1)</sup>, Jacek Namieśnik*

**METODY OZNACZANIA *IN VITRO* WŁAŚCIWOŚCI  
PRZECIWUTLENIAJĄCYCH PRÓBEK ŻYWNOŚCI.  
Cz. II.<sup>\*)</sup>**

Katedra Chemii Analitycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej

Kierownik: prof. dr hab. inż. *J. Namieśnik*

<sup>1)</sup> Katedra Technologii Leków i Biochemii Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej

Kierownik: prof. dr hab. inż. *J. Mazerski*

**Hasła kluczowe:** przeciwutleniacze, mechanizm typu HAT, metody oznaczania, zdolność przeciwutleniająca.

**Key words:** antioxidants, assays, HAT reaction mechanisms, antioxidant capacity.

Naturalne produkty spożywcze głównie owoce i warzywa zawierają wiele różnych związków chemicznych zdolnych do reakcji z utleniaczami i wolnymi rodnikami działając profilaktycznie w chorobach związanych ze stresem oksydacyjnym. Związki te, określa się mianem przeciwutleniaczy, a ich możliwość reagowania w wymiarze ilościowym nazywa się zdolnością przeciwutleniającą (AOC, ang. *antioxidant capacity*). Większość metod umożliwiających oszacowanie parametru AOC próbek żywności opiera się na dwóch podstawowych mechanizmach reakcji: mechanizmie przeniesienia pojedynczego elektronu tzw. SET (ang. *single electron transfer*) oraz mechanizmie przeniesienia atomu wodoru tzw. HAT (ang. *hydrogen atom transfer*). W cz. I opracowania przedstawiono przegląd popularnych metod opartych na wykorzystaniu mechanizmu reakcji typu SET, w cz. II omówione będą metody wykorzystujące mechanizm HAT.

**Metody oparte na wykorzystaniu mechanizmu reakcji przeniesienia atomu wodoru – HAT**

Większość metod opartych na wykorzystaniu mechanizmu HAT polega na reakcji, w której przeciwutleniacz i utleniany substrat (najczęściej sonda molekularna) konkuruje z rodnikiem nadtlenkowym termicznie generowanym poprzez rozkład składnika azowego. Zasada pomiaru polega na monitorowaniu kinetyki konkurencyjnych reakcji wygaszania wolnych rodników poprzez oddanie atomu wodoru. Natomiast w sposób ilościowy zdolność przeciwutleniającą analizowanej próbki wyznacza się na podstawie krzywych kinetyki reakcji.

**Metoda oznaczania zdolność absorpcji rodników tlenowych (oxygen radical absorbance capacity – ORAC)**

Metoda ta, została opracowana w latach osiemdziesiątych do pomiaru aktywności przeciwutleniaczy hydrofilowych. Polega on na pomiarze spadku fluorescencji spowodowanego przez uszkodzenie chemiczne tzw. sondy molekularnej wywołane działaniem wolnych rodników. Sonda molekularna z postaci fluorescencyjnej reagując z termicznie generowanymi rodnikami nadtlenkowymi (źródło AAPH) przechodzi w produkt pozbawiony właściwości fluorescencyjnych. Zanik fluorescencji sondy molekularnej przebiega wg reakcji kinetycznej zerowego rzędu (liniowa w czasie) natomiast obecność

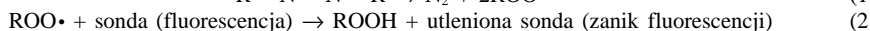
<sup>\*)</sup> Praca została wykonana w ramach projektu 2P06T08526, finansowanego przez KBN.

przeciwutleniacza w roztworze reakcyjnym powoduje wydłużenie czasu indukcji (ang. *lag time*) i/lub spadek stałej szybkości reakcji.

W przypadku pierwotnej wersji tej metody (1) jako sondę fluorescencyjną stosowano białko o nazwie B-fikoerytryna (B-PE) wyizolowane z purpurowej algi *Porphyridium cruentum*. Niestety użycie B-PE wiązało się z wieloma ograniczeniami:

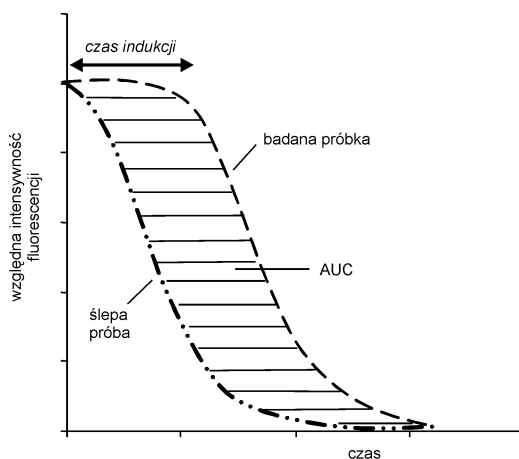
- białko B-PE może reagować z rodnikami nadtlenkowymi na wiele sposobów, co prowadzi do niepewności wyników;
- B-PE traci właściwości fluorescencyjne pod wpływem światła;
- polifenole, w szczególności proantocyjanidyny, wiążą białko B-PE wskutek niespecyficznych oddziaływań fizyko-chemicznych.

Aktualnie preferowane są w metodzie ORAC substancje fluorescencyjne o bardziej stabilnym i mniej reaktywnym charakterze: fluoresceina – FL (3',6'-dihydroksypiro[izobenzofuran-1[3H],9'[9H]-ksanten]-3-on) lub dichlorofluoresceina – H<sub>2</sub>DCF-dA (dioctan 2',7'-dichlorodihydrofluoresceiny) (2).



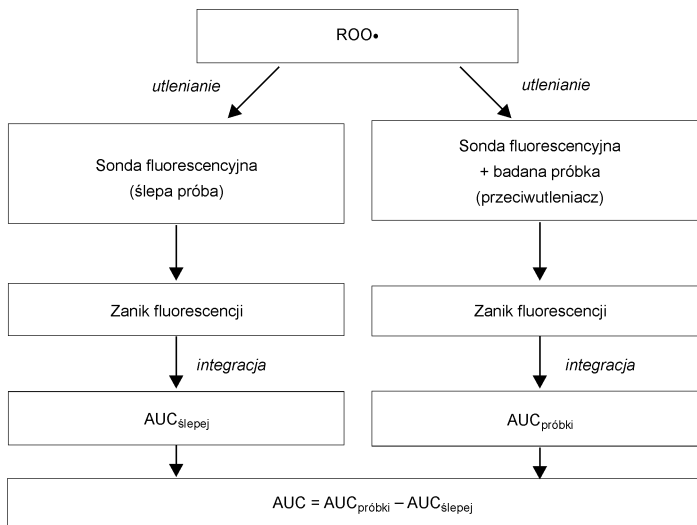
Tradycyjne metody oznaczania zdolności przeciwutleniających uwzględniają podczas pomiarów jedynie czas opóźnienia reakcji często zaniedbując efekt aktywności przeciwutleniacza rozpościerający się poza wczesny etap utleniania (3, 4). W celu uniknięcia niedoszacowania aktywności przeciwutleniaczy i dla uwzględnienia potencjalnego efektu wtórnych produktów przeciwutleniaczy w przypadku metody ORAC reakcję monitoruje się przez dłuższy okres czasu (powyżej 30 min.).

Wyznaczenia aktywności przeciwutleniającej dokonuje się w wyniku integracji pola powierzchni oznaczonego jako AUC, pomiędzy krzywymi fluorescencji dla próbki badanej i ślepej próby (ryc. 1). Jak to wynika z krzywych przedstawionych na ryc. 1 wyznaczona wartość uwzględnia nie tylko czas indukcji, ale też okres inicjacji i całkowity okres inhibicji reakcji. Jednocześnie w celu wykreślenia krzywej kalibracyjnej wartość AUC wyznacza się również dla pięciu różnych stężeń wzorcowego przeciwutleniacza (Trolox w stężeniach z zakresu 6,25–50 μmol/dm<sup>3</sup>). Na podstawie równania krzywej kalibracyjnej, która może być zależnością liniową bądź kwadratową ( $y = a + bx$  lub  $y = a + bx + cx^2$ ; gdzie  $y$  – stężenie Troloxu [μmol/dm<sup>3</sup>];  $x$  – pole powierzchni pod krzywą fluorescencji czyli wartość AUC<sub>próbki</sub> – AUC<sub>ślepej</sub>) wyznacza się zdolność przeciwutleniającą próbki wyrażaną jako liczbę mikromoli równoważników Troloxu na jednostkę masy lub objętości analizowanej próbki – ryc. 2.



Ryc. 1. Krzywe kinetyki reakcji rodników z sondą fluorescencyjną z dodatkiem (próbka badana) i bez dodatku przeciwutleniacza (ślepa próbka).

Fig. 1. Kinetic curves of reaction of radicals with a fluorescent probe in the presence or absence of an antioxidant.



Ryc. 2. Schematyczne przedstawienie zasady metody ORAC.

Fig. 2. Scheme of ORAC assay.

W niektórych gałęziach przemysłu żywnościowego metoda ORAC w wersji z fluoresceiną została przyjęta za metodę rutynową szczególnie ze względu na to, że może być ona bez trudu automatyzowana a wynik oznaczeń jest umieszczany na etykietach różnych produktów (5, 6). Po raz pierwszy zostało to zrealizowane w laboratorium COBAS FARA II (7).

Metoda oznaczania całkowitej zdolności wychwytywania wolnych rodników (total radical trapping antioxidant parameter – TRAP)

Metodę TRAP zaproponowano po raz pierwszy w połowie lat osiemdziesiątych do oznaczania całkowitej zdolności przeciwutleniającej surowicy (8). Zasada tej metody opiera się na pomiarze spadku fluorescencji sondy molekularnej w postaci białka R-fikoerytryny (R-PE) ( $\lambda_{\text{ex}} = 495 \text{ nm}$  i  $\lambda_{\text{em}} = 575 \text{ nm}$ ) spowodowanego działaniem rodników nadtlenkowych generowanych wskutek termicznego rozkładu już wspomnianego związku azowego AAPH. Dodatek przeciwutleniaczy do mieszaniny reakcyjnej powoduje opóźnienie procesu zanikania fluorescencji roztworu proporcjonalnie do ich potencjału antyoksydacyjnego. Przeciwutleniacze posiadające zdolność przerywania łańcucha reakcji wolnorodnikowych reagują ok. 100 razy szybciej z rodnikami niż sonda R-PE. W momencie zakończenia okresu indukcji reakcji czyli w chwili całkowitego przereagowania aktywnych przeciwutleniaczy, białko R-PE zaczyna być utleniane i obserwuje się stopniowy spadek fluorescencji mieszaniny reakcyjnej. Ilościowe oznaczenie zdolności przeciwutleniającej analizowanej próbki polega na wyznaczeniu podczas reakcji utleniania czasu indukcji początkowo dla badanej próbki, a następnie po ok. 30–40 min. dla znanej ilości Troloxu (ryc. 3).

W praktyce polega to na dodaniu znanej ilości Troloxu podczas przebiegającej reakcji w momencie gdy wartość fluorescencji białka R-PE spadnie do 50% początkowej wartości. Moment ponownego osiągnięcia liniowej zależności zaniku fluorescencji w czasie sygnalizuje koniec reakcji. Wartość zdolności przeciwutleniającej analizowanej próbki otrzymuje się przez porównanie czasu indukcji próbki i Troloxu wykorzystując równanie:

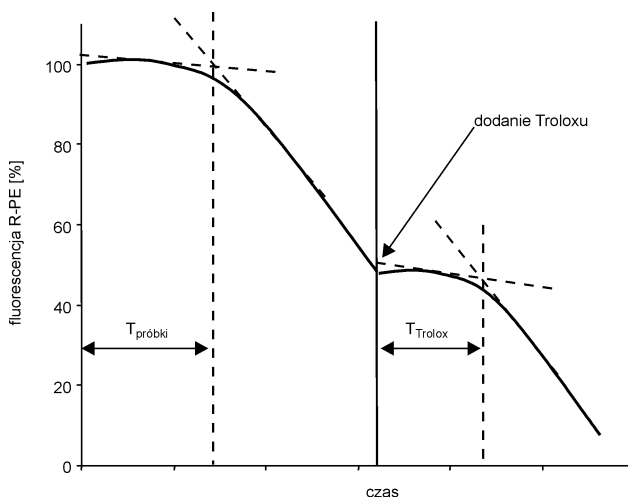
$$C_{\text{Trolox}}/T_{\text{Trolox}} = X/T_{\text{próbki}} \quad (5)$$

gdzie:

$C_{\text{Trolox}}$  – stężenie dodanego podczas reakcji Troloxu;  $T_{\text{Trolox}}$  – czas indukcji dla Troloxu;  $X$  – zdolność przeciwutleniająca próbki;  $T_{\text{próbki}}$  – czas indukcji dla próbki badanej.

Mnożąc obliczoną z równania wartość  $X$  przez 2, czyli przez współczynnik stechiometryczny Troloxu, oraz odpowiednio przez współczynnik rozcieńczenia pobranej do analizy próbki otrzymuje się wartość stężenia wyrażoną jako stężenie Troloxu ( $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ ), określającą liczbę mikromoli rodników nadtlenkowych wychwytywanych przez  $1 \text{ dm}^3$  próbki.

Metoda TRAP została opracowana i jest najczęściej wykorzystywana głównie w celu oszacowania całkowitej zdolności przeciwutleniającej surowicy bądź osocza. Umożliwia ona bowiem oznaczanie m.in. aktywności nieenzymatycznych przeciwutleniaczy takich, jak: glutation, kwas askorbinowy,  $\alpha$ -tokoferol i  $\beta$ -karoten występujących w płynach ustrojowych.



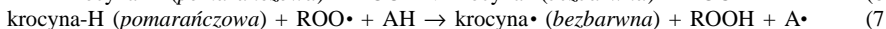
Ryc. 3. Przykładowy wykres kinetyki reakcji utleniania białka R-PE inicjowanego przez AAPH w obecności próbki przeciwutleniacza przed i po dodaniu Troloxu.

Fig. 3. Kinetics of R-PE oxidation initiated by AAPH in the presence of antioxidant before and after Trolox addition.

#### Metoda odbarwienia krocyny (Crocina Bleaching Assay)

Związki z grupy karotenoidów na ogół ulegają odbarwieniu na skutek autooksydacji lub utlenienia pod wpływem działania światła, wysokiej temperatury lub też rodników nadtlenkowych. Jak to wcześniej wspomniano, działanie wolnych rodników można ograniczyć lub mu zapobiec za pomocą przeciwutleniaczy wykazujących zdolność do przekazywania atomu wodoru powodującą dezaktywację rodnika. Na zjawisku tym opiera się metoda odbarwienia krocyny umożliwiająca określenie właściwości przeciwutleniających analizowanej próbki.

Krocyna jest to naturalnie występująca w krokusach pochodna karotenoidowa, która ulega odbarwieniu wyłącznie wskutek utleniania rodnikowego. Metoda ta, podobnie jak metoda TRAP wykorzystuje procedurę opartą na konkurencyjnych kinetykach reakcji opisywanych za pomocą poniższych równań [6, 7]:



gdzie:

$\text{ROO}\cdot$  jest rodnikiem uzyskanym wskutek termicznego rozkładu związków AAPH lub ABAP.

Pierwszym etapem jest przygotowanie buforu fosforanowego zawierającego krocynę i odpowiednią liczbę analizowanej próbki przeciwutleniaczy. Reakcję rodnikową inicjuje się dodatkiem związku AAPH lub ABAP, a jej postęp zarówno dla próbki z dodatkiem, jak i bez dodatku przeciwutleniacza

monitoruje się z reguły przez 10 min. spektrofotometrycznie przy dł. fali 443 nm. Według równań kinetyk konkurencyjnych reakcji, szybkość reakcji odbarwienia krocyny wywołana rodnikami nadtlenkowymi ( $V_0$ ) maleje w obecności przeciwutleniacza i przybiera nową wartość ( $V$ ) opisywaną za pomocą równania [8] (9):

$$V = V_0 \times \frac{k_c[C]}{k_c[C] + k_a[A]} \quad (8)$$

przy czym:  $V_0 = k_1 \times [\text{ROO}\cdot] \times [C]$

$k_c = k_1 \times [\text{ROO}\cdot]$

$k_a = k_2 \times [\text{ROO}\cdot]$

gdzie:

$[\text{ROO}\cdot]$  – stężenie rodników nadtlenkowych;  $V_0$  – szybkość reakcji krocyny z rodnikami  $\text{ROO}\cdot$ ;  $k_1$  – stała szybkości reakcji krocyny z rodnikami  $\text{ROO}\cdot$ ;  $k_2$  – stała szybkości reakcji rodników  $\text{ROO}\cdot$  z przeciwutleniaczem;  $[C]$  – stężenie krocyny;  $[A]$  – stężenie przeciwutleniacza.

Po przekształceniu otrzymuje się równanie o następującej postaci:

$$\frac{V_0}{V} = \frac{k_c[C] + k_a[A]}{k_c[C]} = 1 + \frac{k_a}{k_c} \times \frac{[A]}{[C]} \quad (9)$$

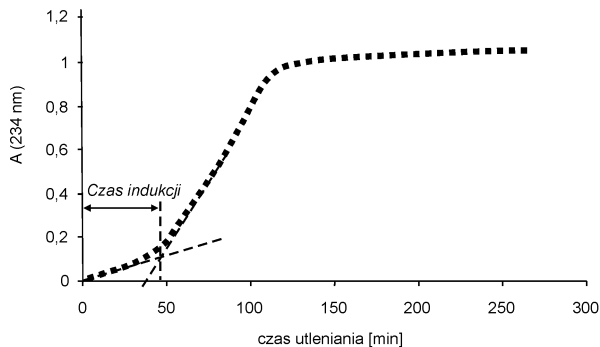
Wykres zależności  $[A]/[C]$  w funkcji  $V_0/V$  jest linią prostą o współczynniku nachylenia  $k_a/k_c$  określającym względną zdolność przeciwutleniacza do wychwytywania rodników nadtlenkowych. Poprzez podzielenie wartości  $k_a/k_c$  przeciwutleniacza przez wartość  $k_a/k_c$  wyznaczoną dla wzorcowego przeciwutleniacza zwykle Troloxu, otrzymuje się wartość opisująca zdolność przeciwutleniającą badanej próbki wyrażoną jako równoważniki Troloxu.

Opisana metoda posiada kilka ograniczeń co do zastosowania jej w badaniach próbek żywności. Wartość stałej reakcji pomiędzy rodnikiem  $\text{ROO}\cdot$  i związkami fitochemicznymi może być różna, a ponadto dla niektórych z nich wartości stałych reakcji są porównywalne do stałej reakcji krocyny. Ograniczeniem jest również możliwość absorbowania światła wykazywana często przez barwniki żywnościowe przy tej samej długości fali jak krocyna. Kolejną trudnością jest to, że krocyna nie jest związkiem komercyjnie dostępnym, a otrzymanie jej wiąże się z dodatkowym etapem ekstrakcji, co ogranicza zastosowanie tej metody jako procedury ilościowej w warunkach przemysłowych.

#### Metoda oznaczenia zdolności inhibicji utleniania lipidów

Zasada metody polega na oznaczeniu aktywności przeciwutleniającej próbki na podstawie oszacowania zdolności znajdujących się w niej przeciwutleniaczy do inhibicji procesu tworzenia się produktów peroksydacji modelowych lipidów frakcji LDL cholesterolu lub kwasu linolowego. Reakcja utleniania może być zainicjowana dodatkiem roztworu  $\text{Cu(II)}$  lub związku azowego np. AAPH, ABAP. Jej przebieg monitorowany jest spektrofotometrycznie przy dł. fali 234 nm. Obserwując zmiany wartości absorpcji podczas reakcji można dostrzec trzy etapy, tj. fazę indukcji, fazę propagacji oraz fazę terminacji reakcji tworzenia sprzężonych dienów. Podczas fazy indukcji kwas linolowy lub wielonienasycone kwasy tłuszczowe frakcji LDL są ochraniające przed utlenianiem przez lipofilowe przeciwutleniacze obecne w badanej próbce. Po ich przereagowaniu, proces peroksydacji przechodzi w fazę łańcuchowej reakcji propagacji. Wartość parametru czasu indukcji reakcji jest odwrotnie proporcjonalna do stężenia przeciwutleniacza i wyznaczana jest z krzywej zależności wartości absorpcji w funkcji czasu (ryc. 4).

W literaturze można spotkać różne modyfikacje omawianej metody opartej na pomiarze produktów utleniania lipidów. Różnice polegają m. in. na odmiennym sposobie detekcji produktów utleniania czyli sprzężonych dienów. Oprócz spektrofotometru UV/VIS stosowane są również chromatografy cieczowe (10) bądź gazowe (11). Wartość aktywności przeciwutleniającej próbki najczęściej podawana jest jako parametr  $\text{EC}_{50}$ , czyli stężenie przeciwutleniacza powodujące spadek początkowego stężenia oznaczanego produktu utleniania o 50%.



Ryc. 4. Przykładowy wykres kinetyki reakcji utleniania frakcji LDL przez rodniki AAPH w trakcie oznaczania zdolności badanej próbki do inhibicji utleniania lipidów.

Fig. 4. Kinetics of LDL oxidation by AAPH radicals in the presence of antioxidants.

#### INNE METODY

Metoda oznaczania całkowitej zdolności wychwytywania rodników tlenowych (Total Oxidant Scavenging Capacity – TOSC)

Metoda ta umożliwia ilościowe oznaczenie zdolności przeciwutleniającej próbki w stosunku do trzech silnych utleniaczy takich, jak: rodniki hydroksylowe, rodniki nadtlenkowe i nadtlenoazotynowe generowane poprzez termiczną homolizę związku ABAP. Substratem w tej metodzie jest kwas  $\alpha$ -keto- $\gamma$ -metioloobutanowy (KMBA) utleniany do etylenu. Okres czasu tworzenia etylenu śledzony jest za pomocą analizy fazy nadpowierzchniowej w celu reakcyjnej przy użyciu chromatografu gazowego. Zdolność przeciwutleniająca próbki oznaczana jest jako zdolność obecnych w niej przeciwutleniaczy do inhibicji procesu tworzenia się etylenu w porównaniu do próbki kontrolnej nie zawierającej przeciwutleniacza (12).

W przypadku metody TOSC za najlepsze określenie miary zdolności przeciwutleniającej uznano powierzchnię pod krzywą kinetyki reakcji (zależność wartości pola powierzchni piku etylenu w funkcji czasu). Jest to tzw. parametr TOSC, a wyznacza się go na podstawie równania:

$$TOSC = 100 - \left( \int SA / \int CA \times 100 \right) \quad (10)$$

gdzie:

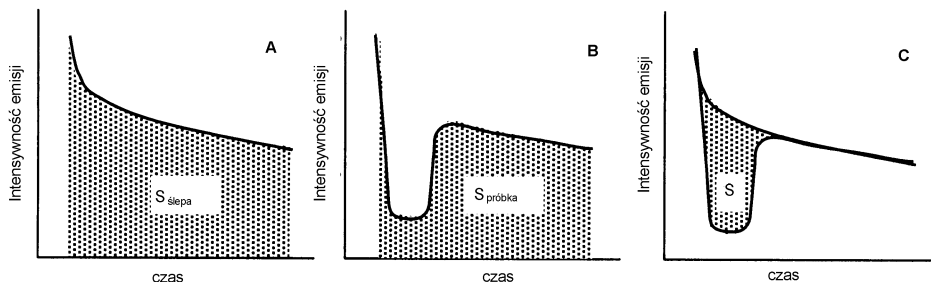
$\int SA$  – pole powierzchni pod krzywą kinetyki reakcji tworzenia etylenu w obecności próbki;  $\int CA$  – pole powierzchni pod krzywą kinetyki reakcji kontrolnej tworzenia etylenu.

Niewątpliwą zaletą tej metody jest to, że umożliwia ona ilościowe oznaczenie zdolności przeciwutleniającej próbki wobec aż trzech różnych utleniaczy należących zarówno do reaktywnych form tlenu, jak i reaktywnych form azotu.

#### Metoda chemiluminescencyjna (CL)

Metoda chemiluminescencyjna opiera się na wytworzeniu z odpowiedniego znacznika wzbudzonych form emitujących chemiluminescencję w wyniku reakcji z tlenowymi rodnikami. Każdy związek, który ma zdolność reagowania z rodnikami tlenowymi będzie hamować wytwarzanie promieniowania. W metodzie tej rodnikami tlenowymi są rodniki nadtlenkowe generowane z nadtlenku wodoru działaniem peroksydazy chrzanowej (13) lub heminy (chlorowodorek hemu) (14) jako katalizatorów. Najczęściej stosowanym w tej metodzie znacznikiem zdolnym do reakcji z utleniaczami i zamieniania ich słabej emisji na emisję intensywną, długotrwałą i stabilną jest luminol (15). Popularne są również takie znaczniki, jak lucygenina czy bioluminescencyjne białka, jak Pholasin izolowany z mięczaków morskich *Pholas dactylus* (15, 16).

Ilościowo zdolność przeciwutleniającą próbki wyznacza się na podstawie porównania kinetyki reakcji bez dodatku przeciwutleniacza czyli bez tłumienia chemiluminescencji oraz z dodatkiem substancji o właściwościach przeciwutleniających powodującą spadek tej emisji (14) – ryc. 5.



Ryc. 5. Sposób wyznaczania wartości tłumienia chemiluminescencji po dodaniu próbki przeciwutleniacza na podstawie kinetyki reakcji zachodzących podczas zastosowania metody CL. (A – krzywa kinetyki reakcji w podstawowych warunkach; B – krzywa kinetyki reakcji z dodatkiem przeciwutleniacza; C – sposób wyznaczania zakresu tłumienia emisji  $S = S_{\text{ślepa}} - S_{\text{próbka}}$ ).

Fig. 5. Suppression of light emission by addition of the antioxidant.

(A – light emission kinetics of system in standard conditions; B – light emission kinetics of the system in A with addition of antioxidant; C – determination of the suppression area  $S = S_{\text{blank}} - S_{\text{sample}}$ ).

Pole powierzchni pod krzywą kinetyki reakcji zachodzącej w roztworze nie zawierającym przeciwutleniacza reprezentuje całkowitą ilość reaktywnych form tlenu obecnych w medium reakcyjnym powodujących emisję światła przez znacznik ( $S_{\text{ślepa}}$ ) (ryc. 6). Składniki posiadające zdolność wyłapywania rodników tlenowych obniżają ich stężenie tym samym powodując spadek chemiluminescencji. Różnica pomiędzy polem powierzchni wyznaczonym bez składnika przeciwutleniającego ( $S_{\text{ślepa}}$ ) i w obecności składnika przeciwutleniającego ( $S_{\text{próbka}}$ ) jest miarą ilości reaktywnych form tlenu zneutralizowanych przez przeciwutleniacz. Jej wartość ( $S$ ) jest proporcjonalna do stężenia przeciwutleniacza dodanego do roztworu, a zatem wykres zależności wartości ( $S$ ) w funkcji stężenia przeciwutleniacza ma przebieg prostoliniowy. Zdolność przeciwutleniającą próbki wyznacza się przez porównanie kąta nachylenia tej prostej ( $\alpha_p$ ) i kąta nachylenia prostej wzorcowej sporządzonej np. dla Troloxu ( $\alpha_T$ ) (uwzględniając fakt, że jedna cząsteczka Troloxu jest zdolna do wyłapania dwóch rodników) ze wzoru [11]:

$$n_p = \frac{\alpha_p}{\alpha_T} \times 2 \quad (11)$$

gdzie:

$n_p$  – ilość rodników wychwytywanych przez jedną cząsteczkę przeciwutleniacza;  $\alpha_p$  – kąt nachylenia prostej zależności wartości tłumienia emisji światła od stężenia przeciwutleniacza;  $\alpha_T$  – kąt nachylenia prostej zależności wartości tłumienia emisji światła od stężenia Troloxu.

Chemiluminescencję charakteryzuje bardzo niska intensywność emisji od kilkudziesięciu do kilku tysięcy impulsów na sekundę w odróżnieniu od fluorescencji gdzie intensywność emisji sięga milionów impulsów na sekundę. Z tego powodu detekcja chemiluminescencji wymaga zastosowania specjalnych urządzeń pomiarowych. Dzięki nim, metoda CL może być dostatecznie czuła dla oznaczeń aktywności antyoksydantów trudnych do oznaczenia innymi metodami o niższym poziomie detekcji.

## PODSUMOWANIE

Wybór metody oznaczania właściwości przeciwutleniających próbek żywności musi być podyktowany rodzajem przeciwutleniaczy, których obecności w danym produkcie można oczekiwać. Metody

oparte na wykorzystaniu mechanizmu HAT są bardziej preferowane w badaniach przeciwutleniaczy lipofilowych ze względu na występujące podczas tych reakcji rodniki nadtlenkowe, które najczęściej biorą udział w oksydacji lipidów w żywności czy systemach biologicznych. W przypadku innych produktów spożywczych ważniejsze może być wykorzystanie innych źródeł rodników takich, jak: hydroksylowe, nadtlenkowe i nadazotynowe, ponieważ wykazują one aktywność w komórkach i tkankach zarówno roślin, jak i zwierząt i powinny być usuwane. Oddziaływanie przeciwutleniaczy również nie jest jednakowe wobec różnych rodzajów rodników. Toteż żadna z metod nie może być uważana za metodę oznaczania całkowitej zdolności przeciwutleniającej, nawet jeżeli możliwe jest jej zastosowanie zarówno w wodnym jak i lipofilowym środowisku.

Inną ważną przesłanką jest związek metody z systemami biologicznymi. Stwierdzono, że metodami, które odzwierciedlają najwierniej procesy obserwowane w układach biologicznych są metody ORAC, TRAP i oksydacji LDL (17). Zdolność przeciwutleniająca oznaczana *in vitro* za pomocą tych metod może w pewnym stopniu określać aktywność *in vivo* tych przeciwutleniaczy.

Następnym etapem jest decyzja co do warunków pomiarowych i ich ilościowej interpretacji: wybór punktu eksperymentalnego metody oraz sposób ilościowego oznaczenia analitów mają poważny wpływ na dokładność oszacowania zdolności przeciwutleniającej próbki. W metodach opartych na odbarwieniu punktem eksperymentalnym jest ustalony czas trwania reakcji bądź stopień inhibicji zaniku barwy. Natomiast w metodach opartych na śledzeniu kinetyki reakcji takich, jak ORAC, ilościowe oznaczenie zdolności przeciwutleniającej próbki oparte jest na wyznaczeniu pola powierzchni pod krzywą reakcji (AUC). To ostatnie podejście umożliwia uwzględnienie w otrzymanym wyniku, podczas pojedynczego pomiaru, zarówno aktywności przeciwutleniacza jak i czasu jego działania wobec reaktywnych form tlenu i jest z tego względu uznawane za dostarczające bardziej miarodajnych wyników.

W celu ujednoczenia warunków oraz umożliwienia rutynowego zastosowania metod oznaczania zdolności przeciwutleniającej składników żywności przez różne ośrodki badawcze pojawiła się potrzeba ich standaryzacji i walidacji. Główne powody niepowodzeń dotychczas podjętych prób walidacji wynikały zazwyczaj z (17):

- problemów związanych z optymalizacją warunków przeprowadzania testu;
- szerokiego spektrum związków przeciwutleniających występujących w żywności;
- dużej rozbieżności stężeń poszczególnych substancji w badanych próbkach żywności;
- problemów z identyfikacją bądź kontrolą substancji interferujących.

Często też w badaniach niedocenione były problemy wynikające z braku jednorodności próbek, niskiej wydajności ekstrakcji przeciwutleniaczy z matrycy żywnościowej, wyboru odpowiedniego punktu eksperymentalnego i braku odpowiedniej procedury kontroli jakości wyników. Walidacja tego typu metod niewątpliwie wymaga przede wszystkim wykorzystania następujących operacji i czynności:

- opisu rodzajów substancji interferujących oraz sposobu ich identyfikacji i eliminacji,
- opracowania procedur przygotowania próbki w szczególności krytycznego dla metody etapu ekstrakcji,
- opisu warunków przechowywania próbek,
- szczegółowych opisów procedur analitycznych,
- procedury statystycznej obróbki danych.

#### Wykaz użytych skrótów i akronimów

AAPH – 2,2'-azobis(2-amidyno-propan), (ang. *2,2'-azobis-amidinopropane dihydrochloride*); ABAP – 2,2'-azo-bis-amidynopropan, (ang. *2,2'-azo-bis-amidinopropane*); AOC – zdolność przeciwutleniająca, (ang. *antioxidant capacity*); AUC – pole powierzchni pod krzywą, (ang. *area under curve*); B-PE-B-fikoerytryna (ang. *phicoerytrin*); CL – metoda chemiluminescencyjna (ang. *chemiluminescence*); FL – fluoresceina (ang. *fluorescein*); CRA – metoda oznaczania zdolności redukcyjnej miedzi(II), (ang. *copper reduction assay*); FRAP – metoda oznaczania zdolności redukcji jonów żelaza, (ang. *ferric ion reducing antioxidant parameter*); HAT – mechanizm przeniesienia atomu wodoru, (ang. *hydrogen atom transfer*); KMBA – kwas  $\alpha$ -keto- $\gamma$ -metiobutanowy, (ang.  *$\alpha$ -keto- $\gamma$ -methiobutyric acid*); LDL – lipoproteiny o niskiej gęstości, (ang. *low-density lipoprotein*); ORAC – metoda oznaczania zdolność absorpcji rodników tlenowych, (ang. *oxygen radical absorbance capacity*); TOSC – metoda oznaczania całkowitej zdolności wyłapywania rodników tlenowych, (ang. *total oxidant scavenging capacity*); TRAP – metoda oznaczania całkowitej zdolności wychwytywania wolnych rodników, (ang. *total radical trapping antioxidant parameter*).



Tabela I  
Porównanie najczęściej stosowanych metod oznaczania zdolności przeciwtleniającej próbek żywności i płynów ustrojowych  
Tabela I  
A comparison of the most popular methods for assaying the antioxidant activity of foodstuff and systemic fluid samples

Metoda	Mechanizm	Sposób ilościowego oznaczenia	Zalety	Wady
ORAC	HAT	AUC (pole powierzchni pod krzywą)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- prosta do zastosowania;</li> <li>- posiada biologiczne odniesienie;</li> <li>- umożliwia oznaczenie lipofilowych i hydrofilowych przeciwtleniaczy;</li> <li>- może być bez trudu automatyzowana.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- zastosowanie sprzętu drogiego i często niedostępnego rutynowo w laboratoriach analitycznych.</li> </ul>
TRAP	HAT	EC <sub>50</sub> , czas indukcji	<ul style="list-style-type: none"> <li>- posiada biologiczne odniesienie;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- skomplikowana do przeprowadzenia;</li> <li>- wymaga specjalistycznego sprzętu;</li> <li>- umożliwia oznaczenia tylko przeciwtleniaczy hydrofilowych.</li> </ul>
FRAP	SET	Stopień inhibicji	<ul style="list-style-type: none"> <li>- prosta do zastosowania;</li> <li>- nie wymaga zastosowania specjalistycznego sprzętu.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- nie posiada biologicznego odniesienia;</li> <li>- umożliwia oznaczenia tylko przeciwtleniaczy hydrofilowych.</li> </ul>
CRA	SET	Stopień inhibicji	<ul style="list-style-type: none"> <li>- prosta do zastosowania;</li> <li>- nie wymaga zastosowania specjalistycznego sprzętu.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- umożliwia oznaczenia tylko przeciwtleniaczy hydrofilowych.</li> </ul>
ABTS	SET	Stopień inhibicji	<ul style="list-style-type: none"> <li>- prosta do zastosowania;</li> <li>- nie wymaga zastosowania specjalistycznego sprzętu;</li> <li>- umożliwia oznaczenie lipofilowych i hydrofilowych przeciwtleniaczy.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- nie posiada biologicznego odniesienia;</li> </ul>
DPPH	SET	Stopień inhibicji	<ul style="list-style-type: none"> <li>- prosta do zastosowania;</li> <li>- nie wymaga zastosowania specjalistycznego sprzętu.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- nie posiada biologicznego odniesienia;</li> <li>- umożliwia oznaczenia tylko hydrofilowych przeciwtleniaczy.</li> </ul>
TOSC	HAT	AUC (pole powierzchni pod krzywą)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- posiada biologiczne odniesienie.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- skomplikowana do przeprowadzenia;</li> <li>- wymaga specjalistycznego sprzętu;</li> <li>- umożliwia oznaczenia tylko przeciwtleniaczy hydrofilowych.</li> </ul>
Oksydacja LDL	HAT	Czas indukcji	<ul style="list-style-type: none"> <li>- nie wymaga zastosowania specjalistycznego sprzętu;</li> <li>- posiada biologiczne odniesienie.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- skomplikowana do przeprowadzenia;</li> <li>- umożliwia oznaczenia tylko lipofilowych przeciwtleniaczy.</li> </ul>

B. Kuszniereicz, L. Wolska, A. Bartoszek, J. Namieśnik

METHODS FOR *IN VITRO* DETERMINATION OF THE ANTIOXIDANT  
ACTIVITY OF FOODSTUFF SAMPLES. PART II.

PIŚMIENNICTWO

1. *Cao G., Alessio H.M., Cutler R.G.*: Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Biol. Med.*, 1993; 14: 303-311. – 2. *Ishige K., Shubert D., Sagara Y.*: Flavonoids protect neuronal cells from oxidant stress by three distinct mechanism. *Free Radical Biol. Med.*, 2001; 30: 433-446. – 3. *Hussain S.P., Hofseth L.J., Harris C.C.*: Radical causes of cancer. *Nature Rev. Cancer*, 2003; 3: 276-285. – 4. *Niki E.*: Antioxidant activity: are we measuring it correctly? *Nutrition*, 2002; 18: 524-525. – 5. *Bank G., Schauss A.*: Antioxidant testing: an ORAC update. *Nutraceuticals World* 2004; <http://www.nutraceuticalsworld.com/March042.htm>. – 6. *Wright T.*: Antioxidants update. *Nutraceuticals World* 2004; <http://www.nutraceuticalsworld.com/March041.htm>. – 7. *Cao G., Verdon C.P., Wu A.H., Wang H., Prior R.L.*: Automated assay of oxygen radical absorbance capacity with the COBAS FARA II. *Clin. Chem.*, 1995; 41: 1738-1744. – 8. *Wayner D.D.M., Burton G.W., Ingold K.U., Locke S.J.*: Quantitative measurement of the total peroxyl radical-trapping antioxidant capability of human plasma by controlled peroxidation-the important contribution made by plasma proteins. *FEBS Lett.* 1985; 187: 33-37. – 9. *Tubaro F., Ghiselli A., Rapuzzi P., Maiorino M., Ursini F.*: Analysis of plasma antioxidant capacity by competition kinetics. *Free Radical Biol. Med.*, 1998; 24: 1228-1234. – 10. *Handelman G.J., Cao G., Walter M.F., Nightingale Z.D., Paul G.L., Prior R.L., Blumberg J.B.*: Antioxidant capacity of oat (*Avena sativa L.*) extracts. Inhibition of low-density lipoprotein oxidation and oxygen radical absorbance capacity. *J. Agric. Food Chem.*, 1999; 47: 4888-4893.

11. *Meyer A.S., Yi O.S., Pearson D.A., Waterhouse A.L., Frankel E.N.*: Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes (*Vitis vinifera*). *J. Agric. Food Chem.*, 1997; 45: 1638-1643. – 12. *Winston G.W., Regoli F., Dugas A.J., Fong J.H., Blanchard K.A.*: A rapid gas chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and biological fluids. *Free Radical Biol. Med.*, 1998; 24: 480-493. – 13. *Whitehead T.P., Thorpe G.H.G., Maxwell S.R.J.*: Enhanced chemiluminescent assay for antioxidant capacity in biological fluids. *Anal. Chim. Acta.*, 1992; 266: 265-277. – 14. *Bastos E.L., Romoff P., Eckert C.R., Baader W.J.*: Evaluation of antiradical capacity by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-hemin-induced luminol chemiluminescence. *J. Agric. Food Chem.*, 2003; 51: 7481-7488. – 15. *Roberts P.A., Knight J., Campbell A.K.*: PholasinR: A new bioluminescent indicator for cell activation. *Biochem. Soc. Trans.*, 1985; 13: 3. – 16. *Reichl S., Vocks A., Petkovic M., Schiller J., Arnhold J.*: The photoprotein PholasinR as a luminescence substrate for detection of superoxide anion radicals and myeloperoxidase activity in stimulated neutrophils. *Free Radical Res.*, 2001; 35: 723. – 17. *Chu Y.F., Sun J., Wu X., Liu R.H.*: Antioxidant and antiproliferative activities of common vegetables. *J. Agric. Food Chem.*, 2002; 50: 6910-6916.

Adres: 80-952 Gdańsk, ul. Narutowicza 11/12.

*Justyna Stefanowicz-Hajduk, Adam Hajduk<sup>1)</sup>,  
J. Renata Ochocka, Jacek Sein Anand<sup>1)</sup>*

## ZATRUCIA ROŚLINAMI WYŻSZYMI WYSTĘPUJĄCYMI W POLSCE

Katedra i Zakład Biologii i Botaniki Farmaceutycznej  
Akademii Medycznej w Gdańsku  
Kierownik: prof. dr hab. *J. R. Ochocka*

<sup>1)</sup> I Klinika Chorób Wewnętrznych i Ostrych Zatruc  
Akademii Medycznej w Gdańsku  
Kierownik: prof. dr hab. med. *Z. Chodorowski*

Hasła kluczowe: ostre intoksykacje, rośliny trujące.  
Key words: acute intoxication, toxic plants.

W Polsce znanych jest ok. 300 gatunków roślin mogących stanowić ryzyko ostrej intoksykacji, z czego ponad 50 może spowodować poważne zagrożenie dla zdrowia i życia ludzi ze skutkiem śmiertelnym włącznie (1). Głównymi związkami odpowiadającymi za toksyczne działanie roślin są zawarte w nich alkaloidy, niektóre glikozydy, olejki eteryczne oraz żywice (1).

Każda roślina, nawet taka, która nie jest zaliczana do gatunków trujących, może spowodować ostre zatrucie objawiające się mniej lub bardziej nasilonymi dolegliwościami najczęściej ze strony przewodu pokarmowego. Gatunki trujące wykazują jednak znacznie silniejsze działanie, uszkadzające narządy takie jak serce, nerki, płuca, wątroba czy centralny układ nerwowy (1, 2).

Zatrucia roślinami stanowią znikomy procent wszystkich ostrych intoksykacji odnotowywanych corocznie wśród pacjentów leczonych w regionalnych ośrodkach toksykologii klinicznej (1, 2, 3, 4). Przypadki obserwowane u osób dorosłych są najczęściej wynikiem pomyłek roślin jadalnych z trującymi, bądź też stosowania ich w celach samobójczych. Bardzo rzadko dochodzi też do wykorzystania roślin trujących w celach kryminalnych (1, 5, 6, 7).

Według rejestru Krajowego Centrum Informacji Toksykologicznej z 1999 r. do dziewięciu ośrodków ostrych zatruc na terenie kraju przyjęto w sumie 137 chorych zatrutych roślinami oraz 409 chorych zatrutych grzybami. Stanowiło to odpowiednio 0,7% oraz 2,1% wszystkich przypadków ostrych intoksykacji (8). Podobne dane uzyskano w trakcie analizy przyczyn ostrych zatruc w innych ośrodkach toksykologicznych na świecie (2, 3, 4). Znacznie większy procent zatruc roślinami wyższymi obserwuje się wśród dzieci i młodzieży (9, 10). Według *Jarczewskiej* i *Kruszewskiej* przypadkowe zatrucia roślinami hodowanymi w domu lub ogrodzie są stosunkowo częstą przyczyną ostrych intoksykacji u najmłodszych (9). *Szkolnicka* i współpr. ocenili, że odsetek informacji dotyczących ostrych zatruc roślinami u najmłodszych, udzielanych przez Krakowski Ośrodek Informacji Toksykologicznych sięgał 5,5%, zaś w badaniach autorów hinduskich nawet 9,4% przypadków (10, 11).

Dzieci do pierwszego roku życia najczęściej ulegają przypadkowym zatruciom roślinami hodowanymi w domu, w tym przede wszystkim difenbachią, oleandrem i filodendronem. Zatrucia dzieci w wieku od pierwszego do szóstego roku życia są spowodowane spożyciem w większości przypadków roślin ogrodowych, takich jak bukszpan, złotokap, bielun dziedzierzawa, lulek czarny, konwalia majowa, blekot oraz innych roślin, których owocem jest jagoda (2, 9, 12, 13, 14). Wśród dzieci w wieku szkolnym pojawiają się także pierwsze zatrucia o charakterze samobójczym oraz ostre intoksykacje roślinami przyjmowanymi w celach odurzania się (bielun dziedzierzawa, tytoń, lulek czarny) (1, 2, 12, 13, 14, 15).

### Objawy kliniczne ostrych zatruc roślinami wyższymi

Ostre intoksykacje roślinami wyższymi są stosunkowo trudne do rozpoznania podczas rutynowego badania lekarskiego (1). Dodatkowo stosunkowo rzadkie występowanie zatruc roślinami, nawet w wyspecjalizowanych oddziałach toksykologicznych powoduje, że większość lekarzy nie posiada dostatecznej wiedzy oraz doświadczenia na temat diagnostyki i terapii tego typu intoksykacji.

Objawy kliniczne ostrych zatruc roślinami wyższymi są zwykle niecharakterystyczne i można jedynie z pewnym prawdopodobieństwem wskazać na gatunki roślin, które mogły spowodować daną intoksykację. W tab. I przedstawiono najbardziej popularne rośliny wyższe oraz objawy kliniczne związane z ich ostrym zatruciem.

### Postępowanie przedlekarskie

W przypadku ostrych intoksykacji roślinami wyższymi postępowanie przedlekarskie opiera się przede wszystkim na jak najszybszym sprowokowaniu wymiotów, podaniu zawiesiny węgla aktywowanego w dawce 15–30 g u dzieci oraz 30–100 g u osób dorosłych, a także zastosowaniu środków przeczyszczających. Każdą ostrą intoksykację należy skonsultować z regionalnym ośrodkiem ostrych zatruc celem ustalenia dalszego planu leczenia (1, 9, 16, 17, 18). Poniżej przedstawiono podstawowe informacje na temat intoksykacji wybranymi roślinami wyższymi. Dobór przedstawionych poniżej gatunków wynikał m.in. z dużej częstości ostrych intoksykacji (bieluń dziedzierzawa, difenbachia), rzadkości opisywanych w literaturze objawów klinicznych (bylica piołun, kokoryczka wielokwiatowa) oraz znacznej toksyczności przy spożyciu nawet nieznacznej ich ilości (cis pospolity, rącznik zwyczajny).

### Charakterystyka wybranych roślin trujących

Bieluń dziedzierzawa (*Datura stramonium* L., syn. *Datura spinosa*) zwany również bieluniem podwórzowym, denderą, diabelskim zielem, dendrakiem lub pindyrną – jest rośliną roczną dorastającą do 1 m, należąca do rodziny psiankowatych (*Solanaceae*). Pochodzi z Ameryki Środkowej i jako dziczka występuje w Europie oraz Azji Mniejszej. W Polsce pospolita jest na nizinach, rzadka natomiast w niższych położeniach górskich. Można ją często spotkać w miejscach ruderalnych, ogrodach, polach, w maku i na rumowiskach. Jej łodyga jest widlasto rozgałęziona, naga lub delikatnie omszona. Liście są zatokowo ząbkowane, a kwiaty występują w rozwidleniach łodygi lub na jej szczycie. Korona kwiatów jest biała, charakterystycznie długonerkowa, w górze zaś lejkowato rozszerzona. Roślina kwitnie od lipca do sierpnia, w późniejszym okresie wykształca czarne, brodawkowate nasiona. W lecznictwie mają zastosowanie liść bielunia (*Folium Stramonii*) oraz nasienie (*Semen Stramonii*). Surowce zawierają przede wszystkim alkaloidy tropanowe, w tym hioscyjaminę, atropinę, skopolaminę, apoatropinę, beladoninę, kuskohygrinę, a ponadto garbniki i flawonoidy (5, 19, 20, 21). Z punktu widzenia toksykologicznego cała roślina uznawana jest za trującą, a ostre intoksykacje zdarzają się najczęściej u małych dzieci, które przypadkowo żują i połykają nasiona lub liście i młodzieży, która wykorzystuje nasiona w celu odurzania się (6). W literaturze opisano także intoksykacje za pośrednictwem mięsa zwierząt, które spożywały liście bielunia (zwłaszcza opornych na działanie atropiny królików), a także zatrucia pokarmowe poprzez przypadkowe zanieczyszczenie zbożami tej rośliny (16). Dolegliwości pojawiają się po ok. 20–30 min. od spożycia rośliny i dominują wśród nich objawy zespołu cholinolitycznego, takie jak poszerzenie źrenic i brak reakcji na światło, suchość błon śluzowych i skóry, zaczerwienienie twarzy, hipertermia, tachykardia i wzrost ciśnienia tętniczego. Dodatkowo może dochodzić do zaburzeń neurologicznych (pobudzenie psychoruchowe, halucynacje wzrokowe), zaburzeń świadomości, zatrzymania moczu i perystaltyki jelit, drgawek oraz zaburzeń oddechu (1, 2, 12, 16, 17).

Cis pospolity (*Taxus baccata* L.) jest chronionym iglastym drzewem lub krzewem zimozielonym należącym do rodziny *Taxaceae* (cisowate). Występuje w Europie, północnej Afryce, na Kaukazie oraz Zakaukaziu. W Polsce jest rzadki i w stanie dzikim występuje w lasach Sudetów, Karpat, Pomorza, Śląska oraz Wyżyny Małopolskiej. Często jest natomiast sadzony w parkach i ogrodach. Roślina dorasta do 15 m wysokości w przypadku formy drzewiastej oraz 4 m w przypadku krzewu. Kora jest szarawiniowa, igły zaostrome, miękkie, od spodu jaśniejsze. Cis pospolity kwitnie od kwietnia do maja, a następnie wykształca nasiona otoczone mięsistą, czerwoną, kubkowatą osnówką, która nie jest częścią trującej rośliny. W swojej korze, igłach i gałązkach zawiera diterpeny (bakatynę i jej pochodne, które można półsyntetycznie przekształcić w paklitaksel – taksol) oraz alkaloidy (efedrynę, taksynę – będącą mieszaniną alkaloidów), biflawony oraz karotenoidy i pochodne floroglucyny (5, 19, 21, 22).

Tabela I  
Zespoły objawów zatrucia wybranymi roślinami wyższymi

Table I  
Symptoms of poisoning by selected plant species

Zespoły objawów zatrucia		Czynnik toksyczny	Przykłady gatunków roślin wyższych odpowiedzialnych za powyższe objawy
działanie na układ nerwowy	zespół cholinolityczny	hioscyjamina, skopolamina, atropina, apoatropina, beladonina, kuskohygryna	<i>Datura stramonium</i>
		hioscyjamina, atropina, skopolamina, kuskohygryna, apoatropina	<i>Hyoscyamus niger</i>
		atropina, hioscyjamina, apoatropina, skopolamina, beladonina, kuskohygryna	<i>Atropa belladonna</i>
	działanie drgawkotwórcze	cykutoksyna, cykutowol	<i>Cicuta virosa</i>
		buksyna, buksenina	<i>Buxus sempervirens</i>
		$\beta$ -tujon, felandren	<i>Artemisia absinthium</i>
		$\beta$ -tujon, kamfora	<i>Tanacetum vulgare</i>
	działanie pobudzające, a następnie porażające centralny układ nerwowy	solanina	<i>Solanum tuberosum</i>
		solasonina, solamargina, solasodyna	<i>Solanum nigrum</i>
		tomatyna	<i>Solanum lycopersicum</i>
	obwodowe zaburzenia neurologiczne oraz porażenie układu oddechowego	nikotyna	<i>Nicotiana tabacum</i>
		etuzyna, etuzanol A i B, koniina	<i>Aethusa cynapium</i>
		koniina, gamma-koniceina	<i>Conium maculatum</i>
		cytyzyna	<i>Laburnum anagyroides</i>
		sparteina	<i>Sarothamnus scoparius</i>
akonityna		<i>Aconitum napellus</i>	
działanie drażniące	działanie drażniące na śluzówkę i skórę	nierozpuszczalne sole wapniowe w postaci rafidów	<i>Dieffenbachia sp.</i>
			<i>Philodendron sp.</i>
			<i>Caladium bicolor</i>
	działanie drażniące na przewód pokarmowy	saponiny	<i>Polygonatum multiflorum</i>
		antrazwiązki	<i>Rhamnus catharticus</i>
		ledol	<i>Ledum palustre</i>
działanie hepatotoksyczne		alkaloidy pirolizydynowe pochodne retronecyny	<i>Senecio vulgaris</i>
		olejek eteryczny – pulegon	<i>Mentha pulegium</i>
działanie nefrotoksyczne		szczawian potasu, kwas szczawiowy	<i>Rumex acetosa</i>
działanie na układ krążenia	purpureaglikozydy A i B, digitoksyna		<i>Digitalis purpurea</i>
	lanatozydy A, B, C, D, E, digitoksyna, acetyldigitoksyna, acetyldigitoksyna		<i>Digitalis lanata</i>
	digitoksyna, digoksyna, acetyldigitoksyna, lanatozyd A		<i>Digitalis grandiflora</i>
	konwalatoksyna, konwalozyd, konwalatoksol, konwalaryna, konwalamaryna		<i>Convallaria majalis</i>
	oleandryna		<i>Nerium oleander</i>
	taksyna		<i>Taxus baccata</i>
uszkodzenia wielonarządowe oraz działanie alergogenne, dermatotoksyczne	toksalbumina – rycyna		<i>Ricinus communis</i>
	toksalbumina – robina		<i>Robinia pseudacacia</i>
	toksalbumina – abryna		<i>Abrus precatorius</i>

Cis pospolity ze względu na zawartość taksyny jest bardzo niebezpieczny nie tylko dla ludzi, ale również dla zwierząt (23). Do zatruc najczęściej dochodzi przypadkowo, choć zdarzają się zatrucia samobójcze i kryminalne (24, 25). Taksyna wywołuje objawy żołądkowo-jelitowe (wymioty, biegunkę, bóle kolkowe), depresję ośrodkowego układu nerwowego oraz układu oddechowego (do bezdechu włącznie). Wskutek zatrucia dochodzi również do zaburzeń rytmu serca (częstoskurcz komorowy, migotanie komór) oraz zmian w jego układzie przewodzenia (bloki przedsionkowo-komorowe I, II i III stopnia). W ciężkich zatruciach cisem, które są stosunkowo rzadkie, obserwuje się także spadek ciśnienia tętniczego krwi, drgawki, śpiączkę i bezdech (1). *Krenzelok* i współpr. oceniając ponad 7000 przypadków ostrych zatruc cisem wśród dzieci stwierdzili zaledwie 4 przypadki ciężkiego zatrucia, z których żaden nie był zakończony zgonem (26).

Kokoryczka wielokwiatowa (*Polygonatum multiflorum* (L.) All., syn. *Convallaria multiflora*) jest rośliną wieloletnią należącą do rodziny konwaliowatych – *Convallariaceae*. Występuje powszechnie w Europie, wschodniej Azji, Himalajach, Syberii oraz Ameryce Północnej. W Polsce jest pospolita na całym obszarze kraju jako roślina lasów liściastych (bukowo-grabowych) oraz zarośli i lasów nadrzecznych (za wyjątkiem terenów położonych powyżej 600 m n.p.m). *Polygonatum multiflorum* jest rośliną trwałą, sięgającą niekiedy do 1 m wysokości (zazwyczaj 30–80 cm). Na obłej łodydze osadzone są jajowatoeliptyczne liście, do 15 cm długie, gładkie, zwężające się u podstawy i malejące w stronę szczytu łodygi. W ich nasadzie rozwijają się w maju zwisające, najczęściej dwu- lub trójkwiatowe grona. Okwiat jest biały, a owocem jest jagoda o zabarwieniu niebieskoczarnym oraz mdławosłodkim smaku. Roślina kwitnie od maja do czerwca (27, 28). Surowcem wykorzystywanym czasami w lecznictwie ludowym jest kłącze z korzeniami (*Radix Polygonati*) zbierane wiosną lub jesienią. W swoim składzie zawiera saponiny steroidowe pochodne diosgeniny, flawonoidy (pochodne apigeniny oraz rutynę i kwercytenę), kwas azetyldyno-2-karboksylowy, kwas L- $\alpha,\gamma$ -diaminomlekowy, antrazwiązki monomeryczne (reine i franguloemodynę), sole mineralne oraz śluzu (29, 30, 31, 32, 33). Spożycie w większych ilościach kłączy kokoryczki wraz z korzeniami powoduje nudności, wymioty, bóle brzucha, biegunkę oraz zaburzenia pracy nerek (21, 22). Opisano także przejściowe zaburzenia widzenia oraz halucynacje (5). Jagody, których spożycie może powodować zaburzenia rytmu pracy serca, mogą być mylone z owocami borówki czernicy (*Vaccinium myrtillus*).

Bylica piołun, piołun (*Artemisia absinthium* L.) jest to roślina wieloletnia należąca do *Asteraceae* (astrowatych). Występuje w Europie, Ameryce Północnej, Azji i Afryce. W Polsce jest pospolita na całym obszarze kraju jako chwast. Głównymi siedliskami bylicy są miedze, przydroża, leśne polany i nieużytki. Posiada mocny, aromatyczny zapach i niezmiernie gorzki smak. Łodygę ma prostą, w górze gałęzistą, szaro filcowatą. Liście z wierzchu są białawe, a spodem zielonawe. Kwiatostanem jest ulistniona wiecha. Koszyczki ma dość drobne, zwisające i prawie kuliste. Kwiaty jasnożółte, rurkowate. Roślina dorasta do metra wysokości, kwitnie w lipcu oraz sierpniu (19, 22). W lecznictwie znalazło zastosowanie ziele bylicy (*Herba Absinthii*) zebrane przed całkowitym rozwojem kwiatów i wysuszone w warunkach naturalnych. Surowiec zawiera gorzkie laktony seskwiterpenowe (gorycze), laktony typu pelanolidów – arabsynę, artabinę, olejek eteryczny – z  $\beta$ -tujonem, estry tujolu, chamazulen, bisabolen, kadinen, felandren, ponadto flawonoidy oraz garbniki (21). Obecnie ostre zatrucia bylicą są bardzo rzadkie i najczęściej przypadkowe, choć dawniej występowały znacznie częściej, gdyż wykorzystywano ją do celów poronnych oraz z powodu zwyczajowego picia absyntu (Francja, Szwajcaria). Cała roślina jest trująca, a toksyczne działanie wynika głównie z zawartości  $\beta$ -tujonu i felandrenu. W ostrych intoksykacjach obserwuje się podrażnienie błony śluzowej przewodu pokarmowego, a także bóle i zawroty głowy, osłabienie, drżenia mięśniowe i drgawki. W ciężkich zatruciach dochodzi do głębokich zaburzeń świadomości, wstrząsu kardiogenego, zaburzeń oddychania i w rezultacie zgonu (1, 16, 17). W postępowaniu przedlekarskim nie należy podawać mleka ani tłuszczów (także oleju rycynowego), ponieważ może to nasilać toksyczne działanie olejku eterycznego (1, 16).

Difenbachia (*Dieffenbachia* sp.) zaliczana jest do rodziny *Araceae* (obrazkowate). Do tego rodzaju należy ok. 20 gatunków pochodzących z Ameryki Południowej. Mieszańce należące do rodzaju *Dieffenbachia* wytworzono krzyżując ze sobą różne rośliny pochodzące z tropikalnych lasów deszczowych. Difenbachie mają duże, szerokie liście o charakterystycznym wzorze. Do niedawna można je było uprawiać tylko w szklarniach, jednak nowe odmiany cieszą się ogromnym zainteresowaniem i są hodowane w mieszkaniach jako rośliny ozdobne (5). Difenbachia może dorastać do metra wysokości i jest rośliną światłolubną. Kwiatostan difenbachii, typowy dla *Araceae*, jest niezbyt okazały, cienki, z zielonkawą pochwą (tylko starsze odmiany niekiedy wydają kwiaty). Zatruciom ulegają głównie dzieci (2, 34). Trującą częścią rośliny są liście oraz łodygi zawierające sok, w którym znajduje się szczawian wapnia (w postaci rafidów), wykazujący bardzo silne działanie drażniące na błonę śluzową przewodu

pokarmowego i skórę. Rafidy uważane są za główny czynnik toksyczny, choć brane są pod uwagę także inne, takie jak: enzymy proteolityczne, histamina, bradykinina, alkaloidy i saponiny (17). Podczas żucia rośliny już po kilku minutach pojawia się uczucie pieczenia, przekrwienie i obrzęk śluzówek jamy ustnej, warg i języka. Czasami obrzęk jest na tyle duży, że utrudnia mówienie, przełykanie i oddychanie. Stan podrażnienia i obrzęku może utrzymywać się przez wiele dni. Plantatorzy hiszpańscy w Ameryce używali tej rośliny do karania niewolników, zmuszając ich do żucia kawałka łądygi (16). W przypadku połknięcia części rośliny występują bóle brzucha oraz klatki piersiowej wskutek podrażnienia błony śluzowej przełyku i żołądka. Po kontakcie ze skórą może dojść do zaczerwienienia, bólu, pieczenia oraz pojawienia się pęcherzy (17). Jednakże w analizie *Mrvosa* i wspólr. na 188 przypadków zatruc wśród dzieci jedynie 2,1% miało lekkie objawy intoksykacji (34). Działanie drażniące szczawianu wapnia występuje również przy intoksykacji kaladium i filodendronem. W postępowaniu przedlekarskim należy płukać jamę ustną zimną wodą, podać kostki lodu do ssania oraz zastosować środki miejscowo znieczulające. Poparzoną skórę należy zmyć letnią wodą z mydłem. Oczy przepłukiwać dużą ilością letniej wody (35).

Rącznik zwyczajny (*Ricinus communis* L.) – nazywany rycynusem lub kleszczowiną jest gatunkiem z rodziny *Euphorbiaceae* (wilczomleczone). W warunkach środkowoeuropejskich jest rośliną jednoroczną, w Europie Południowej kilkuletnim krzewem, zaś w rejonach tropikalnych występuje jako drzewo trwałe (do 13 m wysokości). Liście rącznika są czerwone, dłoniasto wcinane, długoogonkowe. Na szczycie łądygi znajduje się wiecha kwiatów. Owocem jest kolczasta torebka z trzema błyszczącymi, marmurkowatymi nasionami przypominającymi fasolę. Znaczenie lecznicze mają nasiona rącznika – *Semen Ricini*. Służą one do otrzymywania oleju rącznikowego zwanego rycyną, który zawiera mieszaninę triglicerydów kwasu rycynolowego, stearynowego, linolowego oraz palmitynowego. Czynnikiem toksycznym jest tu toksalbumina (lektyna) – rycyna, którą eliminuje się z otrzymanego oleju poprzez gotowanie z wodą. Natomiast nasiona jako surowiec zawierają oprócz oleju tłustego oraz rycyny również alkaloid rycyninę, enzymy i śluzę. Olej rącznikowy jest stosowany w medycynie głównie jako środek przeczyszczający (21, 22, 36). Z powodu powszechności występowania i łatwości pozyskiwania oraz wielkiej toksyczności rycyna może być wykorzystywana w aktach terrorystycznych (37, 38). Już ok. 5 – 10 ug/kg związku podanego dożylnie lub domięśniowo może spowodować zgon (39). Spożycie przez dziecko jednego, zaś przez osobę dorosłą kilku nasion tej rośliny może okazać się śmiertelne. W pierwszej fazie zatrucia, dochodzi do uszkodzenia przewodu pokarmowego, które może objawiać się bólem i pieczeniem gardła, nudnościami, wymiotami oraz biegunką. W późniejszym okresie pojawiają się cechy uszkodzenia wątroby i nerek, zaburzenia krzepnięcia krwi, kaszel i duszność, drżenia mięśniowe oraz spadek ciśnienia tętniczego krwi. W końcowej fazie chory umiera we wstrząsie wśród objawów niewydolności wielonarządowej (37, 40, 41, 42). Również bardzo ciężkie zatrucia wywołują mogą rośliny zawierające inne toksalbuminy: modli groszek różańcowy zawierający w nasionach abrynę oraz robinia akacja (nasiona, kora, liście) zawierająca robinę.

Wszystkie wymienione toksalbuminy: rycyna, abryna, robinia mają charakter alergenów antygenowych i mogą powodować uczulenia (zarówno przez kontakt skórny, jak i inhalację) oraz groźne napady dychawicy oskrzelowej.

J. Stefanowicz-Hajduk, A. Hajduk, J. Ochocka, J. Anand

#### POISONINGS BY HIGHER PLANTS GROWING IN POLAND

#### PIŚMIENNICTWO

1. Burda P.R.: Zatrucia ostre grzybami i roślinami wyższymi. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 1998. – 2. Jaspersen-Schib R., Theus L., Guirguis-Oeschger M., Gossweiler B., Meier-Abt P.J.: Serious plant poisonings in Switzerland 1966–1994. Case analysis from the Swiss Toxicology Information Center. Schweiz. Med. Wochenschr., 1996; 126: 1085-1098. – 3. Oztekin-Mat A.: Plant poisoning cases in Turkey. Ann. Pharm. Fr., 1994; 52: 260-265. – 4. Lamminpaa A., Kinon M.: Plant poisonings in children. Hum. Exp. Toxicol., 1996; 15: 245-249. – 5. Altmann H.: Rośliny trujące i zwierzęta jadowite. Oficyna Wydawnicza Multico, Warszawa, 1993. – 6. Greene G.S., Patterson S.G., Warner E.: Ingestion of Angel's trumpet: An increasingly common source of toxicity. South. Med. J., 1996; 89: 365-369. – 7. Betz P., Janzen J., Roider G., Penning R.: Psychopathologic manifestations of

oral administration of endemic nightshade plants. Arch Kriminol., 1991; 188: 175-182. – 8. Krajowe Centrum Informacji Toksykologicznej w Łodzi: Przyczyny Ostrych Zatruc w Polsce w roku 1999. Ostre Zatrucia Informacja Ekspresowa, 2001; 1: 14-20. – 9. *Jaraczewska W., Kruszewska S.*: Zatrucia w domu i otoczeniu. Zapobieganie i pomoc przedlekarska. Ostre Zatrucia Informacja Ekspresowa, 2003; 2: 1-14. – 10. *Szkolnicka B., Mikrus M., Morawska J., Satora L., Targosz D.*: Children toxic exposure in 2004 – telephone poison information service. Przegl. Lek., 2005; 62: 564-567.

11. *Buch N.A., Achmed K., Sethi A.S.*: Poisoning in children. Indian Pediatr., 1991; 28: 521-524. – 12. *Guharoy S.R., Barajas M.*: Atropine intoxication from the ingestion and smoking of Jimson Weed (*Datura stramonium*). Vet. Hum. Toxicol., 1991; 33: 588-589. – 13. *Manriquez O., Varas J., Rios J.C., Concha F., Paris E.*: Analysis of 156 cases of plant intoxication received in the Toxicologic Information Center at Catholic University of Chile. Vet. Hum. Toxicol., 2002; 44: 31-32. – 14. *Sands J.M., Sands R.*: Henbane chewing. Med. J. Aust., 1976; 2: 55-58. – 15. *Gupta S.K., Peshin S.S., Srivastava A., Kaleekal T.*: A study of childhood poisoning At National Poison Information Centre, All India Institute of Medical Science, New Delhi. J. Occup. Health., 2003; 45: 191-196. – 16. *Henneberg M., Skrzydlewska E.*: Zatrucia roślinami wyższymi i grzybami. Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa, 1984. – 17. MICROMEDEX(R) Healthcare Series, 2002. – 18. American Academy of Clinical Toxicology/European Association of Poisons Centres and Clinical Toxicologists: Position Statement: gastric lavage. J. Toxicol. Clin. Toxicol., 1997; 35: 711-719. – 19. *Mowszowicz J.*: Pospolite rośliny naczyniowe Polski. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 1977. – 20. *Tymrakiewicz W.*: Atlas chwastów. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa, 1976; 266-267.

21. *Strzelecka H., Kowalski J.*: Encyklopedia zielarstwa i ziołolecznictwa. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2000; 60-61. – 22. *Volk J., Stodola J.*: Rośliny lecznicze. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa, 1987. – 23. *Wilson C.R., Sauer J., Hooser S.B.*: Taxines: a review of the mechanism and toxicity of yew (*Taxus* spp.) alkaloids. Toxicol., 2001; 39: 175-185. – 24. *Willaert W., Claessens P., Vankelecom B., Vanderheyden M.*: Intoxication with *taxus baccata*: cardiac arrhythmias following yew leaves ingestion. Pacing Clin. Electrophysiol., 2002; 25: 511-512. – 25. *Wehner F., Gawatz O.*: Suicidal yew poisoning – from Caesar to today – or suicide instructions on the internet. Arch Kriminol., 2003; 211: 19-26. – 26. *Krenzelok E.P., Jacobsen T.D., Aronis J.*: Is the yew really poisonous to you? J. Toxicol. Clin. Toxicol., 1998; 36: 219-223. – 27. *Mack J., Krejča J.*: Atlas roślin leczniczych. Zakład Narodowy im. Ossolińskich, Wrocław, 1989. – 28. *Traczyk T.*: Rośliny lasu liściastego. Wydawnictwo Szkolne i Pedagogiczne, Warszawa, 1989; 102-103. – 29. *Bell E.A.*: „Uncommon” amino acids in plants. FEBS Lett., 1976; 64: 29-35. 30. *Harborne J.B.* i współpr.: Phytochemical dictionary: a handbook of bioactive compounds from plants. Taylor and Francis, London, 1999; 78-80.

31. *Janeczko Z.*: Ustalenie struktury komponent cukrowych saponozydów sterydowych z korzeni kokoryczki wielokwiatowej – *Polygonatum multiflorum* L. Acta Polon. Pharm., 1980; 37: 559-565. – 32. *Janeczko Z., Sendra J.*: Saponozydy sterydowe w *Polygonatum multiflorum* L. Acta Polon. Pharm. 1979; 36: 475-480. – 33. *Kohlmünzer S.*: Farmakognozja. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 1973; 347-349. – 34. *Mrvos R., Dean B.S., Krenzelok E.P.*: Philodendron/dieffenbachia ingestions: are they a problem? J. Toxicol. Clin. Toxicol., 1991; 29: 485-491. – 35. *Kruszewska S., Wiese M., Rzepecki J., Wiśniewski A.*: Symptomatologia kliniczna i leczenie zatruc wybranymi roślinami. Nowa Klinika, 2000; 7: 1164-1168. – 36. *Rutkowski L.*: Klucz do oznaczania roślin naczyniowych Polski Niżowej. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 1998; 288-289. – 37. *Audi J., Belson M., Patel M., Schier J., Osterloh J.*: Ricin poisoning: a comprehensive review. JAMA, 2005; 294: 2342-2351. – 38. *Doan L.G.*: Ricin: mechanism of toxicity, clinical manifestations, and vaccine development. A review. J Toxicol Clin Toxicol., 2004; 42: 201-208. – 39. *Bradberry S.M., Dickers K.J., Rice P., Griffiths G.D., Vale J.A.*: Ricin poisoning. Toxicol Rev., 2003; 22: 65-70. – 40. *Balint G.S.*: Ricin – 2004 Orv. Hetil., 2004; 145: 2379-2381.

41. *Palatnick W., Tenenbein M.*: Hepatotoxicity from castor bean ingestion in a child. J. Toxicol. Clin. Toxicol., 2000; 38: 67-69. – 42. *Challoner K.R., McCarron M.M.*: Castor bean intoxication. Ann. Emerg. Med., 1990; 19: 1177-1183.



*Iwona Sembratowicz, Katarzyna Ognik,  
Elżbieta Rusinek, Jerzy Truchliński*

## ZAWARTOŚĆ GARBNIKÓW ORAZ KWASU SZCZAWIOWEGO W WYBRANYCH ROŚLINACH LECZNICZYCH POZYSKIWANYCH Z DWÓCH OKRESÓW WEGETACYJNYCH

Katedra Biochemii i Toksykologii Akademii Rolniczej w Lublinie  
Kierownik: prof. dr hab. *J. Truchliński*

*Oznaczono zawartość garbników oraz kwasu szczawiowego w liściach roślin leczniczych (babki lancetowatej, brzozy brodawkowatej i pokrzywy zwyczajnej), pozyskanych z miejscowości Branica Radzyńska. Najwyższy poziom garbników w badanym materiale występował w liściu brzozy brodawkowatej, natomiast kwasu szczawiowego w ziele pokrzywy. We wszystkich badanych surowcach zawartość garbników i kwasu szczawiowego w okresie wegetacyjnym 2004 r. była wyższa niż w 2003 r.*

Hasła kluczowe: garbniki, kwas szczawiowy, rośliny lecznicze, okres wegetacyjny.  
Key words: tannins, oxalic acid, medicinal plants, vegetation period.

Działanie farmakologiczne ziół jest bardzo szerokie, przy czym surowców posiadających wyłącznie jeden kierunek działania praktycznie nie ma. Natomiast wiele roślin wykazuje podobne właściwości i można je stosować zamiennie. Okazuje się, że najlepsze efekty lecznicze uzyskuje się dzięki stosowaniu dokładnie opracowanych mieszanek ziołowych. Działanie takiego zespołu, polega na kumulacji aktywności ciał czynnych wszystkich elementów oraz substancji towarzyszących (1, 2, 3). Do ważnych właściwości roślin leczniczych wykorzystywanych często w medycynie człowieka, jak i weterynarii, wymienić należy właściwości bakteriobójcze, wzmacniające, przeciwzapalne i diuretyczne (4, 5, 6). Przy dającym się obecnie zauważyć renesansie ziołolecznictwa, zdaniem *Kuźnickiej* i *Dziak* (7) oraz *Rumińskiej* i *Ożarowskiego* (8) nie wystarcza już wiedza o specyficznym charakterze leczniczym określonej rośliny. Rozwój chemii w zakresie substancji pochodzenia roślinnego tzw. fitochemii, umożliwił identyfikację składników występujących w surowcach zielarskich, co przyczyniło się do pogrupowania tych składników wg ich znaczenia dla organizmu (9). Garbniki mają właściwości ściągające, odkażające, działają przeciwbiegunkowo, przeciwzapalnie oraz przeciwkrwotocznie. Stosowane jednak przez dłuższy czas, utrudniają wchłanianie witamin i soli mineralnych (10). Kwas szczawiowy i jego sole mogą być szkodliwe ze względu na fakt ich antyżywnościowego działania w stosunku do składników pożywienia, ale także wskutek ich toksyczności. Ze względu na stwierdzone negatywne jego właściwości, spożywanie nadmiernej ilości produktów

bogatych w szczawiany nie jest wskazane szczególnie w warunkach nieprawidłowego funkcjonowania wątroby, nerek, trzustki i gruczołów wydzielania wewnętrznego (11).

Z uwagi na coraz większe zainteresowanie fitoterapią oraz wykorzystaniem ziół w żywieniu ludzi i zwierząt gospodarskich w pracy postanowiono oznaczyć zawartości garbników oraz kwasu szczawiowego w popularnych surowcach zielarskich oraz porównanie poziomu w/w składników w roślinach pochodzących z dwóch okresów wegetacyjnych.

## MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły liście roślin leczniczych: babki lancetowatej, brzozy brodawkowej oraz pokrzywy zwyczajnej. Próbkę pozyskiwane były w miejscowości Branica Radzyńska, ze stanowiska znajdującego się na skraju lasu. Było ono oddalone od aglomeracji miejskiej ok. 9 km, a od szlaków komunikacyjnych ok. 1,5 km. Próbkę materiału roślinnego zbierano trzykrotnie w kilkudniowych odstępach. Babka lancetowata i pokrzywa zwyczajna pozyskane były w czerwcu, a brzoza brodawkowa na przełomie kwietnia i maja. Wyszuszony materiał roślinny (7) został wymieszany, a następnie dokładnie zmielony. Tak przygotowany surowiec poddany był analizom chemicznym (trzy powtórzenia dla każdej próbki).

Oznaczanie zawartości garbników w badanym materiale dokonano metodą miareczkowo-wagową (12). Jest ono oparte na tworzeniu nierozpuszczalnych garbnikanów z solami metali ciężkich, (np. Cu). Do wytrącania garbników stosuje się roztwór octanu miedziowego o stęż. 0,1 mol/dm<sup>3</sup>. Oznaczanie wykonuje się w dwóch fazach. Najpierw ustala się przez miareczkowanie nadmiar nie związanej przez garbniki miedzi, a następnie oznacza się wagowo wytrącone garbnikany (połączenia garbników z tlenkiem miedzi II). Zawartość analitu w próbce oblicza się przez odjęcie masy molowej nadmiaru niezwiązanej przez garbniki miedzi od całkowitej masy molowej miedzi dodanej (w postaci roztworu octanu miedzi o znanym stężeniu) do roztworu analitu przed odmiareczkowaniem wspomnianego nadmiaru titranta.

Oznaczanie zawartości kwasu szczawiowego polegało na strąceniu szczawianu wapnia za pomocą chlorku wapniowego, a następnie miareczkowaniu rozpuszczalnego osadu roztworem nadmanganianu potasu (13).

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Zawartość garbników w badanych surowcach zielarskich przedstawiono w tab. I. Jak wynika z danych zestawionych w tabeli średnia zawartość garbników w badanych surowcach mieściła się w granicach 7,60% s.m. (w ziele pokrzywy) do 10,4% s.m. (w liściach brzozy). Generalnie poziom garbników w roślinach pochodzących z 2004 r., (8,47% s.m.) był w porównaniu z rokiem 2003 (7,003% s.m.) wyższy. Największy wzrost zawartości garbników odnotowano w liściu babki, o ok. 33% (tab. I). Prawdopodobną przyczyną tego zróżnicowania były odmienne warunki pogodowe, jakie panowały w latach doświadczeń. Na ogół średnie miesięczne temperatury w 2004 r. były wyższe niż w 2003 r. Ważnym aspektem wpływającym na wegetację roślin było z pewnością zarejestrowanie opadów śniegu i zalegania pokrywy śnieżnej w kwietniu 2003. Podobną sytuację zaobserwowano odnośnie wilgotności i tak w 2004 r. była ona wyższa w poszczególnych miesiącach szczególnie w kwietniu (aż o 46%) (tab. III). Na istotny wpływ czynników klimatycznych na zawartość garbników i innych związków fenolowych w roślinach wskazują badania *Łabudy* i współpr. (10).

Zawartość kwasu szczawiowego w badanych surowcach była bardzo zróżnicowana, (tab. II). Najmniejszy poziom (COOH)<sub>2</sub> stwierdzono w liściu babki lancetowatej – 101 cm<sup>3</sup>/100 g, największy zaś w ziele pokrzywy (182 cm<sup>3</sup>/100 g). Porównując dane dotyczące zawartości kwasu szczawiowego w roślinach pochodzących z dwóch okresów wegetacyjnych zauważono, że w 2004 r. była ona średnio o 25% wyższa. Tendencja ta zaznaczyła się najwyraźniej w przypadku liści brzozy, w których odnotowano ponad 68% wzrost zawartości kwasu szczawiowego w porównaniu z rokiem 2003 (tab. II).

Tabela I

Zawartość garbników w materiale roślinnym pochodzącym z okresu wegetacyjnego 2003 i 2004

Table I

Tannins content in plant material harvested in 2003 and 2004 vegetation periods

Zawartość % garbników w materiale badawczym			
materiał badany	2003 r.	2004 r.	średnia ± SD
Ziele pokrzywy	7,27 ± 0,27	7,93 ± 0,29	7,60 ± 0,46
Liście babki	4,13 ± 0,50	6,17 ± 0,04	5,15 ± 1,44
Liście brzozy	9,61 ± 0,38	11,3 ± 0,29	10,4 ± 1,19
Średnia	7,003 ± 2,74	8,47 ± 2,60	

Tabela II

Zawartość rozpuszczalnego kwasu szczawiowego w materiale roślinnym pochodzącym z okresu wegetacyjnego 2003 i 2004

Table II

Soluble oxalic acid content in plant material harvested in 2003 and 2004 vegetation periods

Zawartość rozpuszczalnego kwasu szczawiowego (cm <sup>3</sup> /100 g)			
materiał badany	2003 r.	2004 r.	średnia ± MSD
Ziele pokrzywy	179 ± 8,18	185 ± 5,50	182 ± 4,24
Liście babki	77,9 ± 1,12	124 ± 9,84	101 ± 41,1
Liście brzozy	110 ± 10,5	187 ± 4,04	149 ± 54,4
Średnia	122 ± 51,6	165 ± 35,8	

Tabela III

Średnie wartości danych meteorologicznych z roku 2003 i 2004

Table III

Mean values of weather dates in 2003 and 2004

Dane meteorologiczne z 2003 r. (wartości średnie)			
miesiąc	temperatura średnia	wilgotność powietrza (%)	opady (mm)
kwiecień	8,59	25,9	0,01
maj	15,9	57,7	0,25
czerwiec	22,0	53,8	0,29
dane meteorologiczne z 2004 r. (wartości średnie)			
kwiecień	13,7	48,1	0,25
maj	20,4	59,2	0,24
czerwiec	19,4	60,4	0,11

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono prac wskazujących na istnienie związku pomiędzy zawartością kwasu szczawiowego w roślinach, a czynnikami pogodowo-klimatycznymi, jednak uzyskane wyniki sugerują, że powyższe czynniki mogły odegrać znaczącą rolę.

## WNIOSKI

1. Badane surowce zielarskie odznaczały się dość zróżnicowaną zawartością garbników. Najwyższy poziom tych związków odnotowano w liściu brzozy brodawkowatej. Zioła pochodzące z sezonu wegetacyjnego 2004 zawierały nieco więcej garbników w porównaniu z sezonem 2003.

2. Podobnie, jak w przypadku garbników zawartość kwasu szczawiowego w badanym materiale zależała od gatunku rośliny, jak i okresu badań. Najwyższy poziom kwasu szczawiowego odnotowano w ziele pokrzywy. We wszystkich badanych surowcach zawartość  $(\text{COOH})_2$  w okresie wegetacyjnym 2004 była wyższa niż w roku 2003, szczególnie w liściu brzozy.

3. Uzyskane wyniki wymagają weryfikacji w trakcie kolejnych badań obejmujących dłuższy okres doświadczalny i większą liczbę surowców zielarskich.

I. Sembratowicz, K. Ognik, E. Rusinek, J. Truchliński

TANNINS AND OXALIC ACID CONTENTS IN SELECTED MEDICINAL  
PLANTS HARVESTED IN TWO VEGETATION PERIODS

Summary

Contents of tannins and oxalic acid were determined in the following medicinal plants: narrow-leaved plantain, verrucose birch and common nettle. Material for study was harvested in two vegetation periods: in 2003 and 2004 in Branica Radzyńska. Samples were collected from sites at the forest edge. The highest tannins levels for both vegetation seasons were recorded in leaves of the birch. The highest oxalic acid contents were found in common nettle leaves. For all the studied herbs, tannins and oxalic acid contents were higher in 2004 than in 2003 vegetation period.

PIŚMIENNICTWO

1. *Anioł-Kwiatkowska J., Kwiatkowski S., Berdowski W.*: Rośliny lecznicze. Arkady. Warszawa, 1993.
2. *Wójcik S.*: Zioła dla zwierząt. Pasze przem., 1994; 6: 2-5.
3. *Lutowski J.*: Ziołolecznictwo na progu trzeciego tysiąclecia. Wiad. Ziel., 2000; 1: 1-4.
4. *Glinkowska G., Strzelecka H., Skopińska-Różewska E.*: Immunotropowe działanie roślin leczniczych. Post. Nauk Med., 1994; 7: 88-102.
5. *Gorecki P.*: Surowce zielarskie w lecznictwie, profilaktyce, kosmetyce i żywieniu. Annal. UMCS., s. EEE. 2001; 9: 36-39.
6. *Niemuska A.*: Fitoterapia weterynaryjna – możliwości zastosowania w codziennej praktyce lekarsko-weterynaryjnej. Mag. Wet., 1999; 61-62.
7. *Kuźnicka B., Dziak M.*: Zioła i ich zastosowanie. PZW, Warszawa 1987.
8. *Rumińska A., Ożarowski A.*: Leksykon roślin leczniczych. PWRiL, Warszawa 1990.
9. *Fritz Z., Grela E.*: Zioła.: Dodatki paszowe dla świń. PAN., 1995; 121-131.
10. *Łabuda H., Paliński R., Kuzyk K.*: Porównanie zawartości fenolokwasów i garbników w owocni fasoli. Ann. UMCS; s. EEE. 2001; 9: 143-149.
11. *Jamroz D.*: Żywnienie zwierząt i paszoznawstwo. PWN, Warszawa 2001.
12. *Cisowski W., Dembińska-Migas W., Gill S., Łuczkiwicz I.*: Analiza fitochemiczna. Wyd. AMG. Gdańsk 1995.
13. *Brzozowska A., Czerwińska D., Kozłowska K., Morawiec M., Pietruszka B., Sulkowska J., Wierzbicka E.*: Toksykologia żywności – przewodnik do ćwiczeń. Wyd. SGGW, Warszawa 1999.

Adres: 20-950 Lublin, ul. Akademicka 13.

*Halina Grajeta, Anna Prescha, Jadwiga Biernat*

ZAWARTOŚĆ MAGNEZU W OSOCZU KRWI  
I WYBRANYCH TKANKACH SZCZURÓW  
DOŚWIADCZALNYCH W ZALEŻNOŚCI  
OD ILOŚCI I RODZAJU TŁUSZCZU W DIECIE

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

*Badano wpływ ilości i rodzaju tłuszczu w diecie na zawartość magnezu w osoczu krwi i wybranych tkankach szczurów doświadczalnych. Stwierdzono, że na stężenie tego pierwiastka w osoczu krwi badanych zwierząt nie miały istotnego wpływu ani ilość ani rodzaj tłuszczu w diecie, natomiast na jego zawartość w tkankach istotny wpływ miała głównie ilość tłuszczu w diecie.*

Hasła kluczowe: magnez, tłuszcze pokarmowe, osocze krwi, wybrane tkanki, szczury.

Key words: magnesium, dietary fats, blood plasma, tissues, rats.

W organizmie dorosłego człowieka znajduje się ok. 24 g magnezu, z czego 60–65% występuje w kościach, 27% w mięśniach, 6–7% w innych tkankach miękkich i 1% płynach pozakomórkowych (1, 2). Niedobór tego pierwiastka może zaburzać funkcjonowanie organizmu oraz przyczyniać się do rozwoju wielu chorób, a zwłaszcza układu krążenia (3, 4).

Wchłanianie magnezu w przewodzie pokarmowym i jego wykorzystanie w organizmie mogą zmniejszać lub zwiększać inne składniki pokarmowe obecne w pożywieniu. Wchłanianie magnezu zmniejszają: szczawiany, fityniany, nierozpuszczalna frakcja błonnika pokarmowego oraz nadmierna ilość w diecie wapnia i fosforu, a stymulują: białko, witamina D, laktoza, rozpuszczalna frakcja błonnika pokarmowego oraz pre- i probiotyki (5, 6, 7). Jak sugeruje piśmiennictwo (1, 8, 9) wpływ tłuszczów pokarmowych na absorpcję magnezu w organizmie zależy od ich ilości w diecie oraz od rodzaju zawartych w nich kwasów tłuszczowych. Dieta wysokotłuszczowa oraz bogata w kwasy tłuszczowe nasycone może zmniejszać, natomiast bogata w kwasy tłuszczowe nienasycone – zwiększać jego wchłanianie w jelitach. Jednak wyniki badań przeprowadzonych na zwierzętach nad wpływem tłuszczu na absorpcję i retencję magnezu nie są zawsze jednoznaczne (10, 11, 12, 13).

Celem pracy było zbadanie wpływu ilości i rodzaju tłuszczu w diecie na zawartość magnezu w osoczu krwi oraz w wybranych tkankach szczurów doświadczalnych.

## MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na szczurach – samicach rasy Buffalo, o początkowej masie ciała 90–110 g. Zwierzęta podzielono na 6 grup po 10 szt. w każdej i umieszczono po 5 w klatkach metalowych w zwierzętarni z naturalnym oświetleniem, temp. ok. 22°C i wilgotnością ok. 60%. Przez 28 dni szczury karmiono dietami doświadczalnymi zawierającymi takie tłuszcze, jak: masło, olej słonecznikowy lub olej rybi w ilości 8% i 15%. Masło ekstra i olej słonecznikowy zakupiono, a olej rybi firmy Lysi otrzymano od Przedsiębiorstwa Produkcji Farmaceutycznej Hasco-Lek z Wrocławia. Szczegółowy skład diet przedstawiono w tab. I. W dietach tych, oznaczono zawartość magnezu metodą ASA w sposób opisany poniżej. Zwierzęta miały nieograniczony dostęp do paszy i wody. Przyrost masy ciała badanych szczurów kontrolowano raz w tygodniu, a spożycie paszy i wody co drugi dzień. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach.

Tabela I  
Skład diet doświadczalnych (g/kg)

Table I  
Composition of experimental diets (g/kg)

Składniki diet	Rodzaj i ilość tłuszczu w dietach					
	masło ekstra		olej słonecznikowy		olej rybi	
	8%	15%	8%	15%	8%	15%
Kazeina <sup>1</sup>	255	255	255	255	255	255
Masło ekstra <sup>2</sup>	97	182,9	–	–	–	–
Olej słonecznikowy	–	–	80	150	–	–
Olej rybi	–	–	–	–	80	150
Skrobia pszenna	100	100	100	100	100	100
Skrobia ziemniaczana	50	50	50	50	50	50
Sacharoza	437,7	351,8	454,82	384,82	454,7	384,7
Witaminy stałe <sup>3</sup>	5	5	5	5	5	5
Witaminy płynne <sup>3</sup> (cm <sup>3</sup> )	5	5	5	5	5	5
Mieszanka mineralna <sup>3</sup>	50	50	50	50	50	50
Witamina E <sup>4</sup> (cm <sup>3</sup> )	0,3	0,3	0,18	0,18	0,3	0,3

<sup>1</sup> – Kazeina o zawartości białka 78,4%;

<sup>2</sup> – masło o zawartości tłuszczu 82%;

<sup>3</sup> – skład mieszanek witaminowych i mineralnej przygotowano wg AIN-93 (14). Do diet z masłem przygotowano osobną mieszankę witamin płynnych, w której uwzględniono naturalną zawartość w maśle wit. A i D;

<sup>4</sup> – do diet z olejem słonecznikowym dodano mniej wit. E uwzględniając jej naturalną zawartość w tym oleju.

Po zakończeniu doświadczenia żywieniowego szczury usypiano bioketanem, pobierano krew z serca, a następnie wypreparowywano kości udowe z mięśniami oraz serce, nerki i wątrobę, które zamrażano w temp. –20°C. Krew pobraną do próbek z heparyną, wirowano i w otrzymanym osoczu oznaczano zawartość magnezu za pomocą metody spektrofotometrycznej przy użyciu testu Kalmagit firmy Biostystems. Dokładność metody sprawdzano na kontrolnej surowicy wołowej firmy Biosystems. Uzyskany średni odzysk magnezu w surowicy wynosił 102%. Zważone kości udowe (po oczyszczeniu z mięśni) oraz 1 g mięśni i narządów mineralizowano na mokro za pomocą stężonego kwasu azotowego w piecu mikrofalowym firmy Plazmatronika. W otrzymanym mineralizacie oznaczano zawartość magnezu metodą płomieniowej absorpcji atomowej za pomocą spektrometru firmy Perkin-Elmer model 3110. Dokładność metody sprawdzano na certyfikowanym materiale referencyjnym CRM NCS ZC 85005(T) (wątroba wołowa) oraz na SRM 1400 (popiół kostny). Uzyskany średni odzysk magnezu w wątrobie wynosił 97,6%, a w popiele kostnym 96,7%. Otrzymane w pracy wyniki opracowano statystycznie obliczając za pomocą programu komputerowego Statistica v 6.0 średnią arytmetyczną, odchylenie standardowe (SD) oraz istotność różnic pomiędzy poszczególnymi grupami testem *Tukeya*.

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Średnie spożycie paszy i przyrosty masy ciała badanych szczurów przedstawiono w tab. II, a wyniki oznaczeń zawartości magnezu w osoczu oraz w wybranych tkankach w tab. III.

Tabela II  
Spożycie paszy i przyrost masy ciała badanych szczurów (średnia  $\pm$ SD, n = 10)

Badany parametr	Rodzaj i ilość tłuszczu w dietach doświadczalnych					
	masło 8%	masło 15%	olej słonecznikowy 8%	olej słonecznikowy 15%	olej rybi 8%	olej rybi 15%
	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV	grupa V	grupa VI
Spożycie paszy (g/dzień)	33,0 $\pm$ 7,5	25,0 $\pm$ 9,4	25,5 $\pm$ 8,0	35,0 $\pm$ 6,7	27,7 $\pm$ 7,5	26,5 $\pm$ 5,3
Przyrost masy ciała (g)	10,0 $\pm$ 1,1	10,2 $\pm$ 1,1	9,6 $\pm$ 1,1	9,1 $\pm$ 1,2	9,2 $\pm$ 1,4	9,3 $\pm$ 1,4

Tabela III  
Wpływ diet doświadczalnych na zawartość magnezu w osoczu krwi oraz w wybranych tkankach badanych szczurów (średnia  $\pm$ SD, n = 10)

Table III  
Effect of experimental diets on magnesium content in blood plasma and in selected tissues of test rats (mean  $\pm$ SD, n = 10)

Badany parametr	Rodzaj i ilość tłuszczu w dietach doświadczalnych					
	masło 8%	olej słonecznikowy 8%	olej rybi 8%	masło 15%	olej słonecznikowy 15%	olej rybi 15%
	grupa I	grupa II	grupa III	grupa IV	grupa V	grupa VI
Osocze (mmol/dm <sup>3</sup> )	0,92 $\pm$ 0,17	0,83 $\pm$ 0,08	0,83 $\pm$ 0,14	0,78 $\pm$ 0,09	0,76 $\pm$ 0,09	0,84 $\pm$ 0,11
Kości (mg/g)	2,21 $\pm$ 0,18 <sup>c</sup>	2,21 $\pm$ 0,11 <sup>d</sup>	2,26 $\pm$ 0,25 <sup>e</sup>	1,97 $\pm$ 0,09 <sup>c</sup>	1,99 $\pm$ 0,13 <sup>d</sup>	1,99 $\pm$ 0,14 <sup>e</sup>
Mięśnie (mg/g)	0,28 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>	0,27 $\pm$ 0,02 <sup>d</sup>	0,27 $\pm$ 0,01 <sup>e</sup>	0,54 $\pm$ 0,06 <sup>c</sup>	0,51 $\pm$ 0,04 <sup>d</sup>	0,50 $\pm$ 0,04 <sup>e</sup>
Wątroba (mg/g)	0,19 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	0,19 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>	0,21 $\pm$ 0,05 <sup>e</sup>	0,28 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	0,28 $\pm$ 0,02 <sup>d</sup>	0,28 $\pm$ 0,02 <sup>e</sup>
Serca (mg/g)	0,19 $\pm$ 0,02 <sup>a,b,c</sup>	0,21 $\pm$ 0,01 <sup>a,d</sup>	0,22 $\pm$ 0,02 <sup>b,e</sup>	0,14 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	0,14 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>	0,15 $\pm$ 0,01 <sup>e</sup>
Nerki (mg/g)	0,18 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	0,19 $\pm$ 0,02 <sup>d</sup>	0,21 $\pm$ 0,01 <sup>e</sup>	0,21 $\pm$ 0,04 <sup>c,f</sup>	0,23 $\pm$ 0,02 <sup>d,g</sup>	0,26 $\pm$ 0,02 <sup>a,f,g</sup>

<sup>a</sup> – różnica istotna statystycznie pomiędzy grupami I a II,

<sup>b</sup> – różnica istotna statystycznie pomiędzy grupami I a III,

<sup>c</sup> – różnica istotna statystycznie pomiędzy grupami I a IV,

<sup>d</sup> – różnica istotna statystycznie pomiędzy grupami II a V,

<sup>e</sup> – różnica istotna statystycznie pomiędzy grupami III a VI,

<sup>f</sup> – różnica istotna statystycznie pomiędzy grupami IV a VI,

<sup>g</sup> – różnica istotna statystycznie pomiędzy grupami V a VI.

Indeks pisany czcionką podkreśloną oznacza różnice istotne przy  $p < 0,01$ , indeks pisany czcionką wytłuszczoną oznacza różnice istotne przy  $p < 0,05$ , w pozostałych przypadkach indeks oznacza różnice istotne przy  $p < 0,001$ .

W pracy badano wpływ ilości i rodzaju tłuszczu w diecie na zawartość magnezu w osoczu krwi i wybranych tkankach szczurów. Przeprowadzono doświadczenie żywieniowe, w którym szczury karmiono dietami zawierającymi takie tłuszcze, jak: masło, olej słonecznikowy lub olej rybi w ilości 8% i 15%. Tłuszcze te, różniły się składem kwasów tłuszczowych. Masło jest tłuszczem zwierzęcym zawierającym ponad 70% nasyconych kwasów tłuszczowych, wśród których dominuje kwas palmitynowy (C<sub>16:0</sub>) i mirystynowy (C<sub>14:0</sub>). Olej słonecznikowy jest tłuszczem roślinnym, w którym

dominują nienasycone kwasy tłuszczowe: linolowy ( $C_{18:2}$ ) i oleinowy ( $C_{18:1}$ ). Olej rybi odznacza się obecnością długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych – eikozapentaenowego (EPA) i dokozaheksaenowego (DHA). Szczegółowy skład kwasów tłuszczowych użytych w doświadczeniu tłuszczowym przedstawiono we wcześniejszej pracy własnej (15). Średnia, oznaczona zawartość magnezu w dietach wynosiła 0,065% i była o 30% wyższa od ilości zalecanej dla rosnących szczurów (14).

Średnie spożycie paszy oraz przyrosty masy ciała były zbliżone (nie różniły się statystycznie istotnie) we wszystkich grupach badanych szczurów (tab. II). Wynika z tego, że zarówno ilość, jak i rodzaj zastosowanych w dietach doświadczalnych tłuszczów miał podobny wpływ na wzrost badanych zwierząt.

Średnia zawartość magnezu w osoczu krwi badanych szczurów mieściła się w zakresie od 0,76 do 0,92 mmol/dm<sup>3</sup> (tab. III). Brak statystycznie istotnych różnic między poszczególnymi grupami zwierząt wskazuje, że wpływ ilości i rodzaju tłuszczu w dietach na stężenie tego pierwiastka w osoczu krwi badanych szczurów był podobny. Brak wpływu diety wysokotłuszczowej na zawartość magnezu w surowicy krwi szczurów obserwował również *Karczewski* (11), a rodzaju tłuszczu w diecie *Perez-Granados* i wspópr. (12). Stężenie tego pierwiastka we krwi jest regulowane hormonalnie i jedynie suplementacja diety magnezem przez dłuższy okres lub niewydolność nerek może prowadzić do hipermagnezemu (1). W przeprowadzonym doświadczeniu podaż tego pierwiastka w dietach była tylko przez stosunkowo krótki czas (28 dni) nieco wyższa od ilości zalecanej dla rosnących szczurów.

Z wszystkich badanych tkanek szczurów najwięcej magnezu, niezależnie od ilości i rodzaju tłuszczu w diecie, zawierały kości udowe (od 1,97 do 2,26 mg/g) i mięśnie (od 0,27 do 0,54 mg/g) (tab. III), czyli te tkanki, które najwięcej tego pierwiastka magazynują (2). Ilości magnezu w pozostałych tkankach były zbliżone i były następujące: wątroba 0,19–0,28 mg/g, serce 0,14–0,22 mg/g, nerki 0,18–0,26 mg/g (tab. III). Istotniejszy wpływ na zawartość tego pierwiastka w badanych tkankach szczurów miała ilość tłuszczu w diecie niż jego rodzaj. U zwierząt karmionych dietami z 15% zawartością tłuszczu ilość tego pierwiastka w mięśniach, wątrobie i nerkach była istotnie wyższa niż u karmionych dietami z 8% jego zawartością, w kości udowej i sercach natomiast – istotnie niższa (tab. III). Rodzaj tłuszczu w diecie nie miał istotnego wpływu na kumulację magnezu w badanych narządach (z wyjątkiem serca i nerek), ponieważ zawartości tego pierwiastka w tkankach szczurów karmionych dietą z masłem, olejem słonecznikowym i olejem rybnym nie różniły się istotnie, zarówno w grupach zwierząt karmionych dietami z 8%, jak i 15% zawartością tych tłuszczów (tab. III). Rodzaj tłuszczu w dietach badanych szczurów miał istotny wpływ na zawartość magnezu tylko w ich sercach i nerkach. W sercach zwierząt karmionych dietą z olejem rybnym ilość tego pierwiastka była istotnie wyższa niż u karmionych dietami z olejem słonecznikowym i masłem, ale tylko wtedy, kiedy zawartość tłuszczu w dietach wynosiła 8% (tab. III). W nerkach również ilość magnezu była istotnie wyższa u szczurów karmionych dietą z olejem rybnym niż u żywionych dietami z olejem słonecznikowym i masłem, ale z kolei tylko wtedy, kiedy zawartość tłuszczu w dietach wynosiła 15% (tab. III). Większa kumulacja magnezu w tkance mięśnia sercowego u szczurów karmionych dietą z olejem rybnym jest zjawiskiem pozytywnym, ponieważ zarówno ten pierwiastek, jak i olej mają korzystne działanie w chorobach układu krążenia.

Wpływ ilości i rodzaju tłuszczu w diecie na wchłanianie magnezu i jego zawartość w tkankach zwierząt doświadczalnych badali także inni autorzy (10, 11, 12, 13), którzy również nie uzyskali wyników potwierdzających tezę, że dieta wysokotłuszczowa oraz bogata w kwasy tłuszczowe nasycone może zmniejszać, a bogata w kwasy tłuszczowe nienasycone – zwiększać wchłanianie tego pierwiastka w jelitach. W badaniach tych stosowano diety z różną ilością tłuszczów (5%, 8%, 20%, 40%) oraz różne ich rodzaje, takie jak: masło (10), olej kukurydziany, słonecznikowy, palmowy, oliwę (12, 13) lub ich mieszanki np. tranu i masła (11). Stwierdzono, że rodzaj tłuszczu w dietach nie miał istotnego wpływu na wchłanianie magnezu ani na jego zawartość w tkankach zwierząt (12, 13), a wpływ diety bogatej w tłuszcz nie był jednoznaczny. W badaniu *Kaup*a i wspópr. (10) u młodych szczurów karmionych dietą wysokotłuszczową (20% tł.) obserwowano wyższą absorpcję tego pierwiastka i jednocześnie niższą jego zawartość w kościach i nerkach niż u karmionych dietą niskotłuszczową (5% tł.), oraz wyższą niż u dojrzałych zwierząt otrzymujących takie same diety. Autorzy sugerują, że istotny wpływ na wchłanianie magnezu może mieć także wiek zwierząt doświadczalnych. *Karczewski* (11) u szczurów karmionych dietą wysokotłuszczową (40% tł.) stwierdził wzrost kumulacji magnezu w wątrobie wraz z czasem trwania doświadczenia, jednak były to ilości istotnie niższe niż u zwierząt karmionych dietą niskotłuszczową.



## WNIOSKI

Podsumowując uzyskane w pracy wyniki można stwierdzić, że na stężenie magnezu w osoczu krwi badanych szczurów nie miały istotnego wpływu ani ilość ani rodzaj tłuszczu w diecie, a na zawartość tego pierwiastka w tkankach istotny wpływ miała głównie ilość tłuszczu w diecie. W mięśniach, wątrobie i nerkach większą kumulację magnezu stwierdzono u szczurów karmionych dietami z 15% zawartością tłuszczu, a w kości udowej i sercach u zwierząt karmionych dietami z 8% jego zawartością. Z badanych rodzajów tłuszczów zawartych w dietach jedynie olej rybi powodował u szczurów większą kumulację magnezu, ale tylko w sercach (przy 8% zawartości tego oleju w diecie) i nerkach (przy 15% jego zawartości w diecie).

H. Grajeta, A. Prescha, J. Biernat

MAGNESIUM CONTENT IN BLOOD PLASMA AND SELECTED TISSUES IN RATS  
DEPENDING ON QUANTITY AND TYPE OF FAT IN DIET

Summary

The aim of this study was to investigate the effect of quantity and type of fat in diet on magnesium content in blood plasma and in selected tissues of experimental rats. The study was carried out on female Buffalo rats, divided into 6 groups (n=10) and for 28 days fed diets with 8% or 15% butter, sunflower oil or fish oil, respectively. At the end of the experiment, the rats were anaesthetised with bioketane, blood was collected by heart puncture, and femoral bone and selected tissues were prepared. Magnesium content in the blood serum was determined using Biosystems Kalmagit test kit. Femoral bone and tissue magnesium content were determined by atomic absorption spectroscopy. The average magnesium content in blood serum of rats ranged from 0.76 to 0.92 mmol/l and no significant differences were observed between the groups of animals. Magnesium concentration in blood serum in rats did not depend on quantity or type of fat in the diet. The quantity of fat in diet had a more evident effect on magnesium content in tissues than the type of dietary fat. Higher magnesium quantities were found in muscles, liver and kidney of rats fed diet with 15% of fat, and in femoral bone and heart of rats fed diet with 8% fat. Among of tested types of dietary fat, only fish oil had a notable effect on magnesium content in tissues. Higher magnesium content was observed in rats fed diet with fish oil, but only in heart (diet with 8% fish oil) and kidney (diet with 15% fish oil).

PIŚMIENNICTWO

1. Ziemiański Ś. (red.): Normy żywienia człowieka. Fizjologiczne podstawy. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa, 2001; 349-362. – 2. Vormann J.: Magnesium: nutrition and metabolism. Mol. Asp. Med., 2003; 24: 27-37. – 3. Papierkowski A: Znaczenie magnezu w praktyce lekarskiej. Cz. I. Przyczyny i objawy zaburzeń gospodarki magnezowej. Med. Rodz., 2002; 1(17): 31-34. – 4. Kłosiewicz-Latoszek L.: Niedobór magnezu a choroby serca. Żyw. Człow. Metab., 1994; 20(4): 374-380. – 5. Brzozowska A.: Czynniki warunkujące wykorzystanie składników mineralnych z pożywienia. Ped. Współ. Gastroenerol. Hepatol. Żyw. Dziecka, 2001; 3(2): 135-138. – 6. Hardwick L.L., Lones M.R., Brautbar N., Lee D.B.N.: Magnesium absorption: mechanism and the influence of vitamin D, calcium and phosphate. J. Nutr., 1991; 121: 13-23. – 7. Scholz-Ahrens K.E., Schaafsma G., van den Heuvel E., Schrezenmeir J.: Effects of prebiotics on mineral metabolism. Am. J. Clin. Nutr., 2001; 73: 459S-464S. – 8. Durlach J.: Magnez w praktyce klinicznej. PZWL, Warszawa, 1991: 30-31. – 9. Jarosz A.: Żywienie a magnez. N. Klin. Ginekol., 1994; 1: 60-61. – 10. Kaup S.M., Behling A.R., Choquette L., Greger J.L.: Calcium and magnesium utilization in rats: effect of dietary butterfat and calcium and age. J. Nutr., 1990; 120: 266-273.

11. *Karczewski J.*: Wpływ diety wysokotłuszczowej i podtoksycznych dawek wanadu na stężenie magnezu w surowicy krwi oraz na zawartość tego pierwiastka w wątrobie. *Żyw. Człow. Metab.*, 1999; 26(2): 131-141. – 12. *Perez-Granados A.M., Vaquero M.P., Navarro M.P.*: Effects of diets containing oils from repeated frying on magnesium absorption. *J. Sci. Food Agric.*, 1999; 79: 699-706. – 13. *Milin C., Domitrovic R., Tota M., Giacometti J., Cuk M., Radosevic-Stasic B., Ciganj Z.*: Effect of olive oil – and corn oil-enriched diets on the tissue mineral content in mice. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2001; 82: 201-210. – 14. *Reeves P.G., Nielsen F.H., Fahey G.C.*: AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *J. Nutr.*, 1993; 123: 1939-1951. – 15. *Grajeta H., Prescha A., Biernat J.*: Wpływ rodzaju tłuszczu w diecie na zawartość wapnia w osoczu krwi i kości udowej u szczurów doświadczalnych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005; 38(2): 163-169.

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

*Izabela Zdrojewska, Madalina Tudorache<sup>1)</sup>, Jenny Emméus<sup>1)</sup>, Piotr Szefer*

## BIOSENSORY W ANALITYCE ŻYWNOŚCI ORAZ PRÓBEK ŚRODOWISKOWYCH – TECHNIKA ISLM, ZASTOSOWANIE W ANALITYCE HORMONÓW ORAZ PESTYCYDÓW

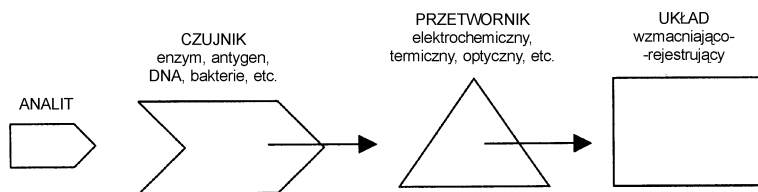
Katedra i Zakład Bromatologii Akademii Medycznej w Gdańsku  
Kierownik: prof. dr hab. P. Szefer

<sup>1)</sup> Division of Analytical Chemistry, Lund University, Sweden  
Head of Department: prof. *Jan Åke Jönsson*

Hasła kluczowe: biosensory, analityka żywności, monitoring środowiska.  
Key words: biosensors, food analysis, environmental monitoring.

Rozwój analityki i monitoringu środowiskowego przyczynił się do wzrostu znaczenia bioanalityki w ocenie stopnia zanieczyszczenia ekosystemów zarówno lądowych jak i wodnych. Związane jest to z coraz większym zapotrzebowaniem na metody szybkie, bardziej specyficzne od tradycyjnych technik analitycznych, które można stosować w układzie on-line (1, 2). Metody te dzięki wykorzystaniu biologicznej zasady działania są często bardzo selektywne, co pozwala zastosować je do bezpośredniego oznaczania zanieczyszczeń w złożonych matrycach, unikając tym samym złożonej operacji przygotowania próbek. Ponadto, biologiczna zasada ich działania czyni je bezpiecznymi w stosowaniu związanym z ochroną zdrowia ze względu na możliwość ograniczenia toksycznych odczynników chemicznych niezbędnych do przeprowadzenia analizy (2).

Dlatego też biosensory zaczynają odgrywać znaczącą rolę w ochronie środowiska oraz w przemyśle spożywczym pozwalając na otrzymanie szybkiej informacji o obecności zanieczyszczeń pochodzenia chemicznego i mikrobiologicznego (3). Biosensory są przyrządami, w których element pomiarowy w postaci materiału biologicznego reaguje na obecną w środowisku specyficzną substancję, wykorzystując podstawową cechę tego materiału jaką jest selektywność (ryc. 1). Przedrostek bio- odnosi się do czujnika (sensora), a nie do substancji oznaczanej, dlatego też zastosowanie biosensorów nie ogranicza się do analizowania wyłącznie związków biologicznych (4).



Ryc. 1. Schemat konfiguracji biosensora (4).

Fig. 1. Outline of biosensor configuration (4).

Znaczenie biosensorów w nowoczesnej analityce wciąż wzrasta. Jest to spowodowane powszechną „chemizacją” życia, każdego dnia narażeni jesteśmy na kontakt z substancjami powierzchniowo czynnymi (np. środki piorące), spalinami, lekami czy hormonami. Istnieją zatem podstawy do

prowadzenia badań nad poszukiwaniem oraz opracowaniem nowych zminiaturyzowanych narzędzi do detekcji związków toksycznych w żywności oraz w środowisku.

Biosensory służą do wykrywania oraz oznaczania zawartości związków toksycznych takich, jak PCBs, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (PAHs), dioksyny, fenole, metale ciężkie oraz pestycydy (1, 5). Prowadzone są również badania nad zastosowaniem tych narzędzi analitycznych w ilościowej detekcji antybiotyków (1), estronów i związków wywołujących zaburzenia funkcjonowania układu hormonalnego (EDCs) (5) takich, jak np. PBDE (związki polibromowane zmniejszające palność, szeroko stosowane do produkcji trudno zapalnych produktów codziennego użytku, tj. tkanin obciowych, mebli i sprzętów domowych oraz biurowych).

Cechy biosensorów takie jak łatwość w obsłudze, szybkość z jaką reagują oraz stabilność powodują, że mają one coraz większe zastosowanie w przemyśle spożywczym. Wykorzystywane są do detekcji substancji toksycznych, które powstają podczas nieprawidłowego przechowywania żywności. Należą do nich aminy biogenne (np. histamina, tyramina, kadaweryna) powstające wskutek niewłaściwego przechowywania ryb i owoców morza (1, 6, 7) oraz poliaminy (np. spermidyna), wytwarzane podczas dojrzewania owoców (morele, czereśnie) w różnych warunkach składowania (8). Biosensory odgrywają szczególną rolę w detekcji aflatoksyn (ziarna orzechów i zbóż, przyprawy) (6, 9) oraz innych niebezpiecznych patogenów. Zaletą tych narzędzi analitycznych jest również możliwość wykorzystania ich w kontroli jakości produktów spożywczych. Do najczęściej stosowanych należą te biosensory, których zasada działania oparta jest na monitorowaniu zawartości etanolu. Znajdują one zastosowanie w kontroli jakości napojów alkoholowych (1, 10) jak również warzyw (ziemniaki) i owoców (jabłka) podlegających procesowi fermentacji podczas nieprawidłowego ich magazynowania (6). Ponadto biosensory stosowane są często w przemyśle mleczarskim do oznaczania zawartości laktozy (1, 11) i tłuszczu w świeżym mleku (6), w przemyśle mięsnym do określenia stężenia kwasu mlekowego, którego zawartość jest wskaźnikiem jakości świeżego mięsa (6) oraz w oznaczaniu zawartości polifenoli w oliwie z oliwek, zielonej herbacie, ekstrakcie z winogron oraz w winie (1).

Nawet niewielka zawartość pestycydów i hormonów w żywności oraz w środowisku może spowodować poważne problemy zdrowotne. Progesteron jest uważany za substancję wysoce kancerogenną, niestety jest on również obecny w wodach powierzchniowych, które często stanowią naturalne zasoby wód pitnych (12). W Polsce i innych krajach europejskich za główną przyczynę obecności hormonów w środowisku oraz żywności uważa się wysoką chemizację rolnictwa, a przede wszystkim dodatek tych związków do pasz w celu efektywniejszego przyrostu masy ciała trzody chlewnej oraz drobiu. W lipcu 2002 r. Komisja Europejska odnotowała na obszarze jedenastu krajów ślady syntetycznego hormonu MPA w trzodzie chlewnej oraz produktach mięsnych. MPA jest hormonem syntetycznym (Medeoxy-Progesteron-Acetat); spożywany wraz z mięsem może powodować bezpłodność, a także wykazuje działanie kancerogenne. Wykazano, że hormon ten był składnikiem masy dodawanej do pasz, a także napojów wytwarzanych i sprzedawanych na unijnym rynku. Zatrucia wykryto we wszystkich państwach UE poza Grecją, Irlandią, Finlandią i Austrią (13).

W wielu światowych ośrodkach naukowych prowadzi się badania biomonitoringowe zawartości pestycydów nadal obecnych w środowisku naturalnym (14, 15, 16, 17, 18, 19).

Potencjalne niebezpieczeństwa dla człowieka i biosfery związane z zastosowaniem pestycydów są wielokierunkowe. Synergistyczne oddziaływanie pestycydów z innymi substancjami obecnymi w ekosystemie często prowadzi do wielokrotnienia ich toksyczności. Pomimo, że w większości krajów przemysłowych niektóre ze znanych pestycydów zostały w latach 70 wycofane z użycia to jednak są one nadal obecne w różnych skladowych środowiskowych, co może niekorzystnie wpływać na nasze zdrowie oraz komfort życia. Z najnowszych danych literaturowych wynika, że pięć najczęściej stosowanych pestycydów (w tym symazyna) wykazuje wysoce negatywny wpływ na poziom hormonów męskich (16). Dlatego też, istnieje potrzeba ciągłego monitoringu pestycydów występujących nawet w niewielkich stężeniach w środowisku przyrodniczym oraz żywności.

Ze względu na czułość i specyficzność wynikającą z oddziaływań pomiędzy antygenem a przeciwciałem, metody immunoenzymatyczne stały się szczególnie przydatne do oznaczania zawartości pestycydów oraz hormonów. Znalazły zastosowanie zarówno w analizie żywności np. ocenie jakości zdrowotnej soków owocowych (20, 21), wina (22), mleka i przetworów mięsnych (4, 21, 22), warzyw i owoców (1, 4), jak i monitoringu środowiska tj. w badaniach wód gruntowych i powierzchniowych (21, 22, 23, 24), wód morskich (21, 25), wód rzecznych (26, 27) czy też ścieków (28). Jeśli chodzi o progesteron to najczęściej jego zawartość oznaczano w mleku krowim (12, 29, 30) oraz we krwi (31).

Jedną z najnowszych metod analitycznych opartych na reakcjach immunologicznych jest ekstrakcja za pomocą unieruchomionych membran ciekłych – ImmunoSLM (ISLM). Zastosowanie metody ISLM pozwala na uproszczenie wielu procedur analitycznych związanych z przygotowaniem materiału badanego, a przede wszystkim umożliwia wydatne skrócenie czasu analizy (5, 32).

Odnosnie przeglądu różnych konfiguracji systemu ISLM, to limity detekcji dla poszczególnych analitów oznaczonych z ich wykorzystaniem zestawiono w tab. I.

ISLM-FFIA jest to system oparty na ekstrakcji ISLM skojarzonej on-line z fluorescencyjnym testem immunologicznym. Jest to półautomatyczny system w którym roztwór zawierający przeciwciała jest nastrzykiwany do akceptora tuż przed ekstrakcją, natomiast analit z antygenem (Ag) przepływa w sposób ciągły przez donor, co pozwala na jego dyfuzję z donora poprzez SLM do akceptora, gdzie jest wychwytywany przez przeciwciała (Ab). Po określonym czasie ekstrakcji, zawartość akceptora jest wymywana i mieszana on-line z fluorescencyjnym znacznikiem w celu wytworzenia kompleksów Ab-Ag\*, które z kolei są wykrywane przez detektor fluorescencyjny (32, 33).

Kolejną metodą jest  $\mu$ -ISLM z detekcją chemiluminescencyjną. Zasada działania tej metody jest oparta również na ekstrakcji ISLM (32, 33). Podstawą systemu  $\mu$ -ISLM jest zminiaturyzowany pojemnik zawierający membranę (SLM nasycona rozpuszczalnikiem organicznym) znajdujący się pomiędzy donorem i akceptorem. W tym systemie powierzchnia akceptora jest pokryta złotem, na powierzchni którego znajduje się pojedyncza warstwa związku zawierającego siarkę w celu unieruchomienia przeciwciał (Ab) (34).

Tabela I  
Przegląd systemów ISLM zastosowanych w celu oznaczenia wybranych pestycydów  
i hormonów w próbkach środowiskowych i żywności

Table I  
An overview of ISLM systems applied to determine selected hormones and pesticides  
in environmental and food samples

Analit	Metoda analityczna	Podłoże dla antygenów	Granica wykrywalności LOD (limit of detection) ( $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ )	Rodzaj próbki	Literatura
atrazyna	ISLM-FFIA	–	2	woda wodociągowa, rzeczna, sok pomarańczowy	32
2,4,6-TCP trichlorofenol	ISLM-FFIA	–	27,9	woda rzeczna	33
progesteron	<i>m</i> -ISLMA-P1	drobiny magnetyczne	$8,50 \times 10^{-9}$	ślina	36
symazyna	<i>m</i> -ISLMA-P1	drobiny magnetyczne	$2 \times 10^{-2}$	–	35
symazyna	<i>m</i> -ISLMA-P2	drobiny magnetyczne	$1,29 \times 10^{-5}$	woda rzeczna, sok owocowy	35
symazyna	$\mu$ -ISLMA	złoto	$1 \times 10^{-4}$	woda mineralna, sok pomarańczowy, mleko	34

Metoda *m*-ISLMA (z detekcją chemiluminescencyjną) jest wysoce czuła, polega na unieruchomieniu przeciwciał (Ab) na magnetycznych cząstkach (drobinach). Ich pozycja w fazie akceptorowej jest kontrolowana przez zmienne pole magnetyczne wytworzone przez napięcie przyłożone do dwóch elektromagnesów umieszczonych poniżej oraz powyżej kanału akceptorowego całego systemu (35). Ostatnio przeprowadzono badania nad zastosowaniem dwóch różnych procesów ekstrakcyjnych w celu oznaczenia pestycydów (35) oraz hormonów (36) w materiale badanym, a mianowicie: postępowanie 1 (*m*-ISLMA – P1) polegające na zachowaniu magnetycznych cząstek (drobin) z przeciwciałami w dolnej części akceptora podczas całego procesu analizy (36) oraz postępowanie 2 (*m*-ISLMA – P2) polegające na zachowaniu magnetycznych cząstek (drobin) z przeciwciałami w ciągłym rozproszeniu oraz ruchu podczas całego procesu analizy (35).

Pomimo wielu technicznych problemów uniemożliwiających szybką komercjalizację biosensorów takich, jak np. ograniczona trwałość (dotyczy w szczególności biosensorów, których zasada działania oparta jest na reakcjach pomiędzy związkami biologicznie aktywnymi – enzymy, przeciwciała) oraz ograniczenia związane technologią produkcji niezawodnych czujników, wciąż trwają próby realizacji projektów „lab-on-a-chip”. Projekt ten zakłada zintegrowane w jednej jednostce analitycznej wszystkich niezbędnych narzędzi analitycznych i metod w celu przeprowadzenia właściwej analizy. Badania prowadzone przez autorów niniejszej pracy nad połączeniem substancji biologicznie aktywnej (enzymy, antygeny/przeciwciała) z odpowiednio dobranym przetwornikiem (optycznym czy elektrochemicznym) wydają się być wysoce obiecujące. Przykładowo, technika ta pozwoliła na oznaczenie zawartości progesteronu w ślinie na poziomie femtogramowym tj.  $10^{-15}$  g/dm<sup>3</sup> (36), co stwarza możliwości detekcji ultraśladowych ilości niektórych analitów w próbkach środowiskowych oraz żywności. Planuje się zatem opracowanie nowych zminiaturyzowanych narzędzi bioanalitycznych – biocujników ( $\mu$ -biotools) do detekcji pestycydów oraz hormonów oznaczanych na bardzo niskim poziomie stężeń. Ich wprowadzenie jednak do praktyki przemysłowej, diagnostyki medycznej, weterynaryjnej czy ochrony środowiska wiąże się z koniecznością prowadzenia dalszych badań i pozostaje nadal sprawą dalszej przyszłości.

I. Zdrojewska, M. Tudorache, J. Emnéus, P. Szefer

BIOSENSORS IN ANALYSING FOODSTUFFS AND ENVIRONMENTAL SAMPLES:  
ISLM ASSAY USED FOR ANALYSING HORMONES AND PESTICIDES

PIŚMIENNICTWO

1. *Dornelles Mello L., Kubota L.T.*: Review of use of biosensors as analytical tools in the food and drink industries. *Food Chem.* 2002; 77: 237-256. – 2. *Wardencki W., Namieśnik J.*: Biomonitoring zanieczyszczeń środowiska. *Inżynieria i Ochrona Środowiska* 2001; 3-4: 301-322. – 3. *Scott A.O.* (Ed.): *Biosensors for Food Analysis*. The Royal Society of Chemistry, Londyn 1998. – 4. *Jędrychowski L., Leman J.*: Biotechnologiczne metody analizy żywności. *Biotechnologia żywności* (Red. Bednarski W., Reps A.). Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 2001; 10: 436-467. – 5. *Rodriguez-Mozaz S., López de Alda M., Marco M.P., Barceló D.*: Biosensors for environmental monitoring. A global perspective. *Talanta* 2005; 65: 291-297. – 6. *Velasco-Garcia M.N., Mottram T.*: Biosensor Technology Addressing Agricultural Problems. Review Paper. *Biosyst. Eng.* 2003; 84: 1-12. – 7. *Venugopal V.*: Biosensors in fish production and quality control. Review. *Biosens. Bioelectron.* 2002; 17: 147-157. – 8. *Esti M., Volpe G., Massignan L., Compagnone D., La Notte E., Palleschi G.*: Determination of amines in fresh and modified atmosphere packaged fruits using electrochemical biosensors. *J. Agr. Food Chem.* 1998; 46: 4233-4237. – 9. *Carlson M.A., Bargeron C.B., Benson D.C., Frase A.B., Phillips T.E., Velky J.T., Groopman J.D., Strickland P.T., Ko H.W.*: An automated, handheld biosensor for aflatoxin. *Biosens. Bioelectron.* 2000; 14: 847-848. – 10. *Boujtitia M., Hart J.P., Pittson R.*: Development of a disposable ethanol biosensor based on a chemically modified screen – printed electrode coated with alcohol oxidase for the analysis of beer. *Biosens. Bioelectron.* 2000; 15: 257-263. – 11. *Eshkenazi I., Maltz E., Zion B., Rishpon J.*: A three-cascaded-enzymes biosensor to determine lactose concentration in raw milk. *J. Dairy Sci.* 2000; 83: 1939-1945. – 12. *Tschmelak J., Proll G., Gauglitz G.*: Sub-nanogram per litre detection of the emerging contaminant progesterone with fully automated immunosensor based on evanescent field techniques. *Anal. Chim. Acta* 2004; 519: 143-146. – 13. <http://www.eko.org.pl>. – 14. *Abou-Arab A.A.K., Abou Donia M.A.*: Pesticides residues in some

- Egyptian spices and medical plants as affected by processing. *Food Chem.* 2001; 72: 439-445. – 15. *Asman Willem A.H., Jørgensen A., Bossi R., Vejrup Karl V., Mogensen B.B., Glasius M.*: Wet deposition of pesticides and nitrophenols at two sites in Denmark: measurements and contributions from regional sources. *Chemosphere* 2005; 59: 1023-1031. – 16. *Birkhøj M., Nellemann Ch., Jarfelt K., Jacobsen H., Andersen H.R., Dalgaard M., Vinggaard A.M.*: The combined antiandrogenic effects of five commonly used pesticides. *Toxicol. Appl. Pharm.* 2004; 201: 10-20. – 17. *Gryniewicz M., Polkowska Ż., Górecki T., Namieśnik J.*: Pesticides in precipitation in the Gdańsk Region, Poland. *Chemosphere* 2001; 43: 303-312. – 18. *Polkowska Ż., Kot A., Wiergowski M., Wolska L., Wołowska K., Namieśnik J.*: Organic pollutants in precipitation: determination of pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons in Gdańsk, Poland. *Atmos. Environ.* 2000; 34: 1233-1245. – 19. *Siwicki A.K., Studnicka M., Morand M., Glabski E., Bownik A., Terec-Majewska E.*: Effects of pesticides on the acute phase proteins in fishes: an experimental study. *Mar. Environ. Res.* 2000; 50: 465-472. – 20. *Abad A., Montoya A.*: Application of a monoclonal antibody-based ELISA to the determination of carbaryl in apple and grape juice. *Anal. Chim. Acta* 1995; 311: 365-370.
21. *Fránek M., Kolár V., Eremin S.A.*: Enzyme immunoassay for S-triazine herbicides and their application in environmental and food analysis. *Anal. Chim. Acta* 1995; 311: 349-346. – 22. *Ferguson B.S., Kelsey D.E., Fan T.S., Bushway R.J.*: Pesticide testing by enzyme immunoassay at trace levels in environmental and agriculture samples. *Sci. Tot. Environ.* 1993; 132: 415-428. – 23. *Marco M-P., Chiron S., Gascón J., Hammock B.D., Barceló D.*: Validation of two immunoassay method for environmental monitoring of carbaryl and 1-naphtol in ground water samples. *Anal. Chim. Acta* 1995; 311: 319-329. – 24. *Aga D.S., Thurman E.M., Pomes M.*: Determination of alachlor and its sulfonic acid metabolite in water by solid-phase extraction and enzyme-linked immunosorbent assay. *Anal. Chim. Acta* 1994; 66: 1495-1499. – 25. *Gascón J., Martínez E., Barceló D.*: Determination of atrazine and alachlor in natural waters by rapid-magnetic particle-based ELISA. Influence of common cross-reactants: deethylatrazine, deisopropylatrazine, simazine and metolachlor. *Anal. Chim. Acta* 1995; 311: 357-364. – 26. *Hall J.C., Wilson L.K., Chapman R.A.*: An immunoassay for metolachlor detection in river water and soil. *J. Environ. Sci. Health* 1992; B27: 523-544. – 27. *Meulenbergh E.P., Mulder W.H., Stoks P.G.*: Immunoassay for pesticides. *Environ. Sci. Technol.* 1995; 29: 553-561. – 28. *Castillo M., Oubina A., Barceló D.*: Evaluation of ELISA kits followed by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionisation-mass spectrometry for the determination of organic pollutants in industrial effluents. *Environ. Sci. Technol.* 1998; 32: 2180-2184. – 29. *Claycomb R.W., Delwiche M.J., Munro C.J., BonDurant R.H.*: Rapid enzyme immunoassay for measurement of bovine progesterone. *Biosens. Bioelectron.* 1998; 13: 1165-1171. – 30. *Gillis E.H., Gosling J.P., Sreenan J.M., Kane M.*: Development and validation of a biosensor – based immunoassay for progesterone in bovine milk. *J. Immunol. Method* 2002; 267: 131-138.
31. *Ehrentreich-Förster E., Scheller F.W., Bier F.F.*: Detection of progesterone in whole blood samples. *Biosens. Bioelectron.* 2003; 18: 375-380. – 32. *Tudorache M., Rak M., Wieczorek P., Jönsson J. Å. and Ennéus J.*: Immuno – SLM – a combined sample handling and analytical technique. *J. Immunol. Method* 2004; 284: 107-118. – 33. *Tudorache M., Ennéus J.*: Selective Immuno Supported Liquid Membrane (ISLM) extraction, enrichment and analysis of 2,4,6-Trochlorophenol. *J. Membr. Sci.* 2005; 256: 143-149. – 34. *Tudorache M., Ennéus J.*: A Micro-Immuno Supported Liquid Membrane Assay ( $\mu$ -ISLMA). *Biosens. Bioelectron.* 2005 – praca przyjęta do druku. – 35. *Tudorache M., Co M., Lifgren H. and Ennéus J.*: An Ultrasensitive Magnetic Particle-Based Immuno Supported Liquid Membrane Assay (*m*-ISLMA). *Anal. Chem.* 2005 – praca przyjęta do druku. – 36. *Tudorache M., Zdrojewska I. and Ennéus J.*: Evaluation of progesterone content in saliva using magnetic particle-based Immuno Supported Liquid Membrane Assay (*m*-ISLMA). *Biosens. Bioelectron.* 2006; 22: 241-246.

## REGULAMIN OGŁASZANIA PRAC

1. Kwartalnik Bromatologia i Chemia Toksykologiczna zamieszcza nie publikowane prace oryginalne i pogładowe, 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 stroną 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 stroną 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 ryciną 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 3

---

---

## TREŚĆ

J. Suliburska, G. Duda: Żywieniowe czynniki ryzyka rozwoju pierwotnego nadciśnienia tętniczego .....	205
A. Wojtczak, J. Skrętkowicz: Znaczenie diety w profilaktyce i terapii miażdżycy ..	211
A. Waluś, L. Wądołowska, R. Cichon, T. Długosz: Analiza zwyczajów żywieniowych młodzieży z Polski Północno-Wschodniej z zastosowaniem analizy czynnikowej ..	217
B. Smorczevska-Czupryńska, J. Ustymowicz-Farbiszewska, M. Kozłowska, J. Karczewski: Ocena wartości energetycznej, zawartości kwasów tłuszczowych, cholesterolu i błonnika w dietach młodzieży gimnazjalnej zamieszkałej na terenie woj. podlaskiego .....	223
E. Przysiężna, K. Banachowicz: Oszacowanie zawartości tłuszczu w dietach studentów .....	229
K. Markiewicz, H. Nowak-Polakowska, E. Markiewicz, R. Zadernowski, J.E. Bojarska, <u>R.E. Łojko</u> : Zawartość wybranych makro- i mikroelementów oraz pierwiastków toksycznych w owocach orzecha włoskiego .....	237
B. Szteke, R. Jędrzejczak, W. Ręczajska: Zależność pomiędzy zawartością makro i mikroelementów w ziemniakach .....	243
B. Kusznierevicz, L. Wolska, A. Bartoszek, J. Namieśnik: Metody oznaczania <i>in vitro</i> właściwości przeciwutleniających próbek żywności. Cz. I. ....	251
B. Kusznierevicz, L. Wolska, A. Bartoszek, J. Namieśnik: Metody oznaczania <i>in vitro</i> właściwości przeciwutleniających próbek żywności. Cz. II. ....	261
J. Stefanowicz-Hajduk, A. Hajduk, J.R. Ochocka, J. Sein Anand: Zatrucia roślinami wyższymi występującymi w Polsce .....	271
I. Sembratowicz, K. Ognik, E. Rusinek, J. Truchliński: Zawartość garbników oraz kwasu szczawiowego w wybranych roślinach leczniczych pozyskiwanych z dwóch okresów wegetacyjnych .....	277
H. Grajeta, A. Prescha, J. Biernat: Zawartość magnezu w osoczu krwi i wybranych tkankach szczurów doświadczalnych w zależności od ilości i rodzaju tłuszczu w diecie ..	281
I. Zdrojewska, M. Tudorache, J. Emneus, P. Szefer: Biosensory w analizie żywności oraz próbek środowiskowych – technika ISLM, zastosowanie w analizie hormonów oraz pestycydów .....	287

## CONTENS

J. Suliburska, G. Duda: The nutritional factors in the development of primary hypertension .....	205
A. Wojtczak, J. Skrętkowicz: The importance of diet in prevention and therapy of atherosclerosis .....	211
A. Waluś, L. Wądołowska, R. Cichon, T. Długosz: Analysis of eating habits of juvenile people from north-east Poland using factor analysis .....	217
B. Smorczevska-Czupryńska, J. Ustymowicz-Farbiszewska, M. Kozłowska, J. Karczewski: Assessment of energy value, content of fatty acids, cholesterol and fibre in the diets of gymnasium adolescents in podlasie province .....	223
E. Przysiężna, K. Banachowicz: Assessment of fat content in students diet .....	229
K. Markiewicz, H. Nowak-Polakowska, E. Markiewicz, R. Zadernowski, J.E. Bojarska, <span style="border: 1px solid black; padding: 0 2px;">R.E. Łojko</span> : Contents of selected macro- and microminerals and toxic elements in walnuts .....	237
B. Szteke, R. Jędrzejczak, W. Ręczajska: Relationships between macroelement and microelement contents in potatoes .....	243
B. Kusznierewicz, L. Wolska, A. Bartoszek, J. Namieśnik: Methods for <i>in vitro</i> determination of the antioxidant activity of foodstuff samples. Part. I. ....	251
B. Kusznierewicz, L. Wolska, A. Bartoszek, J. Namieśnik: Methods for <i>in vitro</i> determination of the antioxidant activity of foodstuff samples. Part. II. ....	261
J. Stefanowicz-Hajduk, A. Hajduk, J.R. Ochocka, J. Sein Anand: Poisonings by higher plants growing in Poland .....	271
I. Sembratowicz, K. Ognik, E. Rusinek, J. Truchliński: Tannins and oxalic acid contents in selected medicinal plants harvested in two vegetation periods .....	277
H. Grajeta, A. Prescha, J. Biernat: Magnesium content in blood plasma and selected tissues in rats depending on quantity and type of fat in diet .....	281
I. Zdrojewska, M. Tudorache, J. Emneus, P. Szefer: Biosensors in analysing foodstuffs and environmental samples: ISLM assay used for analysing hormones and pesticides .....	287