

*Orzeł Dagmara, Bronkowska Monika, Styczyńska Marzena,
Gryszkin Artur¹⁾, Biernat Jadwiga*

WPLYW SKROBI OPORNEJ RS4 W DIETACH O ZRÓŻNICOWANEJ ZAWARTOŚCI BIAŁKA NA ABSORPCJĘ POZORNĄ WAPNIA U SZCZURÓW WISTAR*)

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

¹⁾ Zakład Technologii Węglowodanów Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu
Kierownik: dr hab. inż. *T. Zięba*

Badano wpływ skrobi opornych dodawanych do diet doświadczalnych o zróżnicowanej zawartości białka na absorpcję pozorną wapnia u szczurów szczepu Wistar. Zwierzęta (8 grup samców n = 64) karmiono 8 rodzajami diet: 4 kontrolnymi z różną zawartością białka i wapnia oraz 4 dietami zmodyfikowanymi, zawierającymi 10% dodatek preparatu skrobi opornej RS4. W grupie zwierząt karmionej dietą niskowapniową z 10% dodatkiem skrobi opornej RS4 stwierdzono statystycznie istotnie wyższą o 26% absorpcję pozorną wapnia w porównaniu do grupy zwierząt, karmionych dietą zbilansowaną oraz o ok. 10–15% w porównaniu do pozostałych grup zwierząt. W pozostałych grupach szczurów Wistar nie wykazano istotnego wpływu 10% dodatku preparatu skrobi opornej RS4 do diet na absorpcję pozorną wapnia.

Słowa kluczowe: skrobia oporna, absorpcja pozorną wapnia, szczury Wistar.
Key words: resistant starch, apparent absorption of calcium, Wistar rats.

Wapń jest składnikiem mineralnym niezbędnym do prawidłowego rozwoju organizmu. Ponad 99% wapnia jest magazynowane w układzie kostnym człowieka. Nieprawidłowa podaż przyczynia się do zaburzeń funkcjonowania organizmu, nieprawidłowej mineralizacji kości, dlatego bardzo ważne jest odpowiednie pobranie wapnia z całodzienną racją pokarmową oraz prawidłowe wchłanianie pierwiastka z przewodu pokarmowego (1, 2).

Jednym ze składników żywności, który może przyczynić się do lepszej biodostępności wapnia z diety jest skrobia oporna (RS – Resistant Starch). Jest to skrobia i produkty jej rozkładu niewchłaniane w jelicie cienkim zdrowego człowieka (3, 4).

Preparaty skrobi modyfikowanych dodawane do żywności kształtują jej teksturę, konsystencję, wygląd, wilgotność i trwałość podczas przechowywania, są także zamiennikami tłuszczu w produktach typu „light” o zmniejszonej wartości energetycznej (5, 6). Niewiele jest informacji na temat oddziaływania tych preparatów

*) Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2008–2011 jako projekt badawczy.

z innymi składnikami żywności, czy ich wpływu na metabolizm ludzi i zwierząt, w tym na biodostępność składników mineralnych (7). Wpływ skrobi opornych na biodostępność makro- i mikroelementów zależy m.in. od rodzaju i ilości RS dodawanej do diet (7, 8). Celem pracy była ocena wpływu preparatu skrobi opornej RS4 na absorpcję pozorną wapnia w organizmach szczurów Wistar.

MATERIAŁ I METODY

Do badań laboratoryjnych wykorzystano samce szczurów Wistar ($n = 64$) o początkowej masie ciała 160–180 g, pochodzące ze Zwierzętarń Zakładu Anatomii Patologicznej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu. Zwierzęta przebywały w warunkach hodowli zgodnie z wymogami określonymi przez II Lokalną Komisję Etyczną ds. Doświadczeń na Zwierzętach we Wrocławiu (nr 47/2007). Zwierzęta karmiono półsyntetycznymi dietami dla gryzoni laboratoryjnych (AIN – 93M) (9) odpowiednio zmodyfikowanymi. Szczury podzielono na 8 grup (po 8 sztuk/grupę). Każda z grup otrzymywała inny rodzaj paszy (tab. I). Diety w czterech grupach kontrolnych zwierząt zawierały odpowiednio: I – 100% zalecanej ilości białka i 100% zalecanej ilości wapnia, II – 100% zalecanej ilości białka i 50% zalecanej ilości wapnia, III – 50% zalecanej ilości białka i 100% zalecanej ilości wapnia oraz IV – 50% zalecanej ilości białka i 50% zalecanej ilości wapnia (wg 9). Pozostałe cztery grupy zwierząt (I+RS, II+RS, III+RS, IV+RS) otrzymywały takie same diety, jak grupy kontrolne I, II, III i IV, w których część skrobi pszennej zastąpiono 10% dodatkiem preparatu skrobi opornej RS4 (fosforanu monoskrobiowego otrzymywanego z ziemniaczanej skrobi rozpuszczalnej).

Preparat skrobi opornej, wyprodukowany w Katedrze Technologii Rolnej i Przechowalnictwa Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, otrzymano w wyniku modyfikacji chemiczno-fizycznej, która polegała na reakcjach skrobi z uwodnionymi fosforanami sodowymi, a następnie na prażeniu jej w temp. 160°C. Oporność tak zmodyfikowanej skrobi na działanie enzymów amylolitycznych wynikała ze zmian składu i struktury cząsteczki. Podczas modyfikacji następuje wprowadzenie do łańcuchów skrobi fosforanów, które wiążą się z resztami glukozyowymi. Ich obecność oraz związane z tym przestrzenne zmiany łańcucha, utrudniają ułożenie się enzymu przy skrobi, dlatego wykazuje ona oporność na trawienie. Zmniejszenie strawności skrobi następuje również na skutek tworzenia się kompleksów lipidowo-amylolitycznych, które nie ulegają hydrolizie pod wpływem enzymów amylolitycznych. Oporność preparatu, określona na podstawie stopnia jego scukrzenia pod wpływem glukoamylazy w temp. 60°C w czasie 120 min, wynosiła 51%.

Wszystkie szczury otrzymywały diety doświadczalne przez 4 tyg. Zwierzęta miały nieograniczony dostęp do paszy i wody. W 3 tyg. badań, zwierzęta umieszczano w klatkach metabolicznych. Po trzydniowym okresie adaptacyjnym, przez kolejne 5 dni kontrolowano spożycie paszy i wody oraz zbierano kał badanych szczurów. Pobrany materiał biologiczny (kał) ważono, a następnie przechowywano zamrożony w temp. –18°C.

Przed wykonaniem badań, próbki kału rozmrażano i rozdrabniano, natomiast próbki paszy mielono. Przeprowadzono mikrofalową mineralizację prób „na mokro”.

Zawartość wapnia w paszach i kale oznaczono metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej za pomocą aparatu spektrometrii atomowej firmy Varian AA 240FS. Obliczono absorpcje pozorne wapnia u szczurów na podstawie różnicy zawartości tego składnika w spożytej paszy, a jego ilością wydalaną z kałem.

Tabela I. Skład diet doświadczalnych

Table I. Quantitative composition of the experimental diets

Składnik	Zawartość składników w dietach (g/kg diety)							
	I	II	III	IV	I+RS	II+RS	III+RS	IV+RS
Skrobia pszenna	620,7	620,7	690,7	690,7	520,7	520,7	590,7	590,7
Sacharoza	100	100	100	100	100	100	100	100
Kazeina	140	140	70	70	140	140	70	70
Olej sojowy	40	40	40	40	40	40	40	40
Celuloza	50	50	50	50	50	50	50	50
Mieszanka mineralna AIN-93M-MX (o zawartości węglanu wapnia 357,0 g/kg mieszanki)	35	–	35	–	35	–	35	–
Mieszanka mineralna AIN-93M-MX (o zawartości węglanu wapnia 178,5 g/kg mieszanki)	–	35	–	35	–	35	–	35
Mieszanka witaminowa stała	10	10	10	10	10	10	10	10
Mieszanka witaminowa płynna: Witamina A, µg/kg Witamina D ₃ , µg/kg Witamina E, mg/kg	1212 25 50	1212 25 50	1212 25 50	1212 25 50	1212 25 50	1212 25 50	1212 25 50	1212 25 50
Cysteina	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8
Cholina	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Preparat skrobi opornej typu RS4	–	–	–	–	100	100	100	100

Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono za pomocą programu Statistica 10.0 PL. Wpływ preparatów skrobi opornej RS4 w dietach na wchłanianie wapnia u szczurów doświadczalnych oceniono metodą jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA. Do testowania różnic między wartościami średnimi wykorzystano test *Duncana*, przy poziomie istotności $p < 0,05$. W tab. II i na ryc. 1 tą samą literą oznaczono grupy jednorodnie statystycznie.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W tab. II przedstawiono średnie zawartości wapnia w badanych dietach i wydalonym kale szczurów. Średnia zawartość wapnia w dietach o 100% zalecanej zawarto-

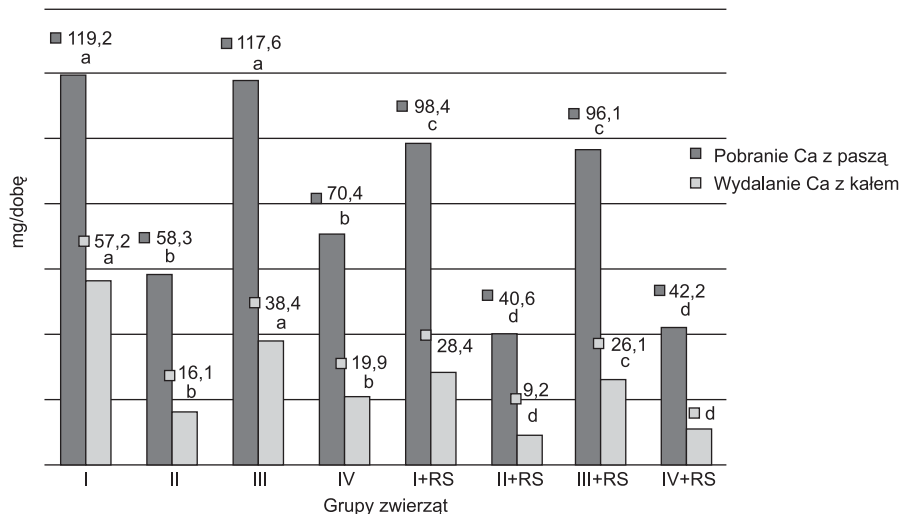
ści wapnia wahała się w zakresie od 505,62 do 619,81 mg/100 g, a w dietach o 50% zalecanej zawartości tego pierwiastka od 327,62 do 401,64 mg/100 g. Stwierdzono 2,5-krotnie niższe zawartości wapnia w kale zwierząt karmionych dietami niskowapniowymi (II, IV) w porównaniu do diet o 100% zalecanej ilości wapnia (I, III). Zależność taką wykazano również w grupach zwierząt z dodatkiem skrobi odpornej RS4. Zawartość wapnia w kale szczurów otrzymujących diety niskowapniowe z dodatkiem RS4 (II + RS, IV + RS) były ponad 2-krotnie niższe w porównaniu do zawartości tego pierwiastka w kale zwierząt otrzymujących diety ze 100% zalecaną ilością wapnia i skrobią oporną RS4 (I + RS, II + RS).

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

Tab l e II. Mean content of calcium in the diets and excreted feces of rats ($\bar{x} \pm SD$)

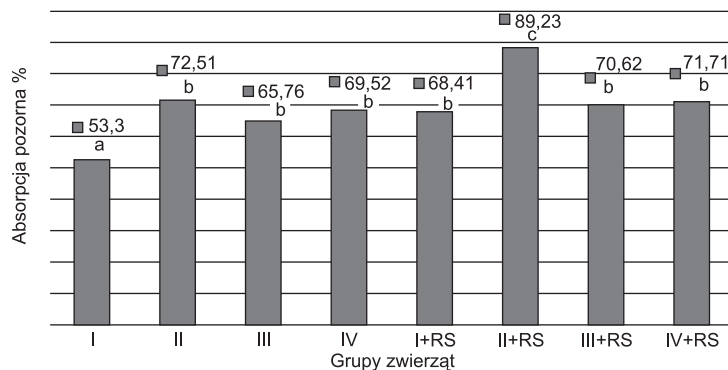
Grupy zwierząt karmione dietami	Zawartość Ca w dietach (mg/kg)	Zawartość Ca w kale (mg/100 g)
I (n = 8)	5056,2 ± 21,02 a	2440,86 ± 392,6 a
II (n = 8)	3276,7 ± 6,80 b	786,5 ± 126,1 b
III (n = 8)	5907,5 ± 44,4 a	1737,7 ± 224,3 c
IV (n = 8)	4016,4 ± 23,8 b	963,15 ± 150,2 b
I+RS (n = 8)	6198,1 ± 45,9 a	1006,1 ± 177,9 b
II+RS (n = 8)	3443,6 ± 7,2 b	348,0 ± 27,6 d
III+RS (n = 8)	6058,6 ± 62,4 a	896,3 ± 21,7 b
IV+RS (n = 8)	3388,3 ± 43,7 b	541,2 ± 31,2 d

Na ryc. 1 przedstawiono średnie dobowe pobranie wapnia z dietami oraz średnie dobowe ilości tego pierwiastka wydalone z kałem w badanych grupach szczurów (mg/dobę). Średnie pobranie wapnia oraz jego wydalanie z kałem w grupach zwierząt karmionych dietami niskowapniowymi było istotnie niższe niż w grupach zwierząt karmionych dietami z zalecaną ilością tego pierwiastka (odpowiednio o 49% i 37%). W grupach zwierząt karmionych dietami z 10% dodatkiem skrobi odpornej stwierdzono statystycznie istotnie niższe pobranie i wydalanie wapnia w porównaniu do grup zwierząt karmionych dietami bez dodatku skrobi odpornej RS4. Niższe pobranie tego pierwiastka przez szczury otrzymujące w diecie skrobię oporną było związane z niższym spożyciem paszy w tych grupach zwierząt.



Ryc. 1. Średnie dobowe pobranie wapnia z dietami oraz jego wydalenie z kałem w badanych grupach zwierząt.

Fig. 1. Mean daily calcium intake with diets and calcium excretion in feces in the studied groups of animals.



Ryc. 2. Średnie absorpcje pozorną wapnia w badanych grupach zwierząt.

Fig. 2. Mean apparent absorption of calcium in the studied groups of animals.

Na ryc. 2 przedstawiono średnie absorpcje pozorną wapnia w badanych grupach zwierząt. W grupach szczurów karmionych dietami niskowapniowymi i/lub niskobiałkowymi (II, III, IV) stwierdzono istotnie wyższe o ok. 15–20% wchłanianie wapnia w porównaniu do grupy zwierząt karmionych dietą kontrolną (I). Dodatek skrobi opornej RS4 do diet zwierząt nie miał istotnego wpływu na wchłanianie wapnia, z wyjątkiem grupy II + RS, karmionej dietą niskowapniową. W grupie tej stwierdzono istotnie wyższą absorpcję pozorną wapnia o ok. 26% w porównaniu do grupy I (otrzymującej dietę zbilansowaną) oraz o ok. 10–15% w porównaniu do pozostałych grup zwierząt.

Korzystny wpływ różnych typów skrobi opornych na wchłanianie wapnia stwierdzono w badaniach innych autorów. Wykazano, że 20% dodatek ziemniaczanej skrobi opornej RS2 do diet szczurów spowodował istotny wzrost absorpcji wapnia o 14% w porównaniu do grupy kontrolnej, a w przypadku podawania diety z dodatkiem RS2 i kwasu fitynowego, który ogranicza wchłanianie tego pierwiastka, absorpcja zwiększyła się tylko o 9% (10, 11).

W badaniach z udziałem 32 samców szczurów Wistar hodowanych przez okres 21 tygodni, istotny wzrost absorpcji wapnia wykazano przy zastosowaniu diety ze skrobią oporną surowych ziemniaków, diety z inuliną, a także diety z dodatkiem zarówno skrobi opornej, jak i inuliny. Dodatek skrobi opornej (15%) spowodował wzrost absorpcji wapnia o 8% w porównaniu do kontroli, natomiast 10% dodatek inuliny spowodował wzrost absorpcji tego pierwiastka o 14%. Najwyższy wzrost absorpcji wapnia o 30% w porównaniu do grupy kontrolnej, stwierdzono przy spożyciu diety z 7,5% dodatkiem skrobi opornej oraz 5% dodatku inuliny (12).

Badania wpływu skrobi opornej typu RS4 (ziemniaczanej modyfikowanej chemicznie przez estryfikację solami kwasu fosforowego) na absorpcję pozorną wapnia u szczurów Wistar wykazały istotne statystycznie większe wchłanianie tego pierwiastka w organizmach zwierząt, ale tylko przy większej podaży wapnia w diecie (13).

Wykazano istotne zwiększenie wchłaniania wapnia o 10% w grupie zwierząt karmionych dietą z dodatkiem kukurydzianej skrobi opornej RS2 w porównaniu do grupy kontrolnej. Nie stwierdzono wpływu dodatku kukurydzianej skrobi opornej RS3 na wchłanianie tego pierwiastka. Skrobia oporna typu RS2 wykazuje prawdopodobnie większą podatność na proces fermentacji w jelicie grubym niż skrobia oporna typu RS3 (14).

Nie stwierdzono istotnego wpływu 10% i 15% dodatku preparatu retrogradowanej skrobi ziemniaczanej RS3 oraz 10% dodatku preparatów skrobi opornych RS4 do diet zwierząt na absorpcje pozorne wapnia w porównaniu do grupy kontrolnej. Wykazano istotny wzrost absorpcji pozornej wapnia o ok. 12,5% u zwierząt karmionych dietami z 15% dodatkiem preparatów skrobi opornych RS4 w porównaniu do grupy kontrolnej (15).

Mechanizmy działania skrobi opornych na wchłanianie składników mineralnych u zwierząt doświadczalnych nie są do końca wyjaśnione. Podczas fermentacji skrobi opornej z udziałem flory bakteryjnej powstają krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, które obniżają pH treści jelita ślepego i powodują dysocjację związków chemicznych. Zwiększa to poziom pierwiastków w formie jonowej, która jest łatwiej przyswajana (4, 5). Kwasy te mogą tworzyć kompleksy ze składnikami mineralnymi, które na zasadzie transportu aktywnego są wchłaniane z przewodu pokarmowego (5, 7).

WNIOSKI

1. W grupach zwierząt, karmionych dietami z 10% dodatkiem preparatu skrobi opornej RS4 stwierdzono statystycznie niższe wydalanie wapnia o ok. 57% w porównaniu do grup zwierząt, otrzymujących diety bez dodatku skrobi opornej. Śred-

nie wydalanie wapnia z kałem w grupach zwierząt karmionych dietami niskowapniowymi było istotnie niższe o 37% niż w grupach szczurów karmionych dietami z zalecaną ilością tego pierwiastka.

2. Dodatek skrobi odpornej RS4 do diety niskowapniowej szczurów miał istotny wpływ na zwiększoną absorpcję pozorną wapnia o 26% w porównaniu do grupy zwierząt, karmionych dietą zbilansowaną oraz o ok. 10–15% w porównaniu do pozostałych grup zwierząt. W pozostałych grupach szczurów Wistar nie wykazano istotnego wpływu 10% dodatku preparatu skrobi odpornej RS4 do diet na absorpcję pozorną wapnia.

D. Orzeł, M. Bronkowska, M. Styczyńska,
A. Gryszkin, J. Biernat

EFFECTS OF RS4 RESISTANT STARCH IN THE DIETS WITH DIFFERENT PROTEIN CONTENT ON APPARENT ABSORPTION OF CALCIUM IN WISTAR RATS

Summary

The effect of resistant starch added to the experimental diets with different protein content on apparent absorption of calcium in Wistar rats was examined. Animals (8 groups; n = 64) were fed 8 types of diets: 4 controls with different contents of protein and calcium, and four modified diets containing 10% preparation RS4 resistant starch. Calcium contents in the diets and faeces were determined by atomic absorption spectrometry. Apparent absorption of calcium in rats were calculated on the basis of the difference in the content of this component in consumed diets and excreted faeces. Apparent absorption of calcium was statistically significant 26% higher in the group of animals fed a calcium low diet with added 10% resistant starch RS4 than the apparent absorption of calcium when compared to animals fed a balanced diet, and by about 10–15% higher as compared to the other groups of animals. In the other groups of Wistar rats showed no significant effect of 10% RS4 resistant starch added to diet on the apparent absorption of calcium.

PIŚMIENNICTWO

1. Bowen J., Noakes M., Clifton P.M.: A high dairy protein, high-calcium diet minimizes bone turnover in overweight adults during weight loss. *J. Nutr.*, 2004; 134 (3): 568-573. – 2. Rizzoli R., Boonen S., Brandi M.L., Burlet N., Delmas P., Reginster J.Y.: The role of calcium and vitamin D in the management of osteoporosis. *Bone*, 2008; 42(2): 246-249. – 3. Leszczyński W.: Skrobia oporna i jej znaczenie. *Przegl. Piek. Cukier.*, 2004; 7: 2-5. – 4. Chung H.J., Donner E., Liu Q.: Resistant starches in foods. *Comprehensive Biotech.* 2011; 4: 527-534. – 5. Sharma A., Yadav B., Ritika: Resistant starch: physiological roles and food applications. *Food Rev. Int.*, 2008; 24: 193-234. – 6. Le Thanh J., Lewandowicz G.: Dietetyczne produkty skrobiowe. *Przem. Spoż.*, 2007; 61(8): 56-58. – 7. Lattimer J., Haub M.: Effects of dietary fiber and its components on metabolic health. *Nutrients*, 2010; 2: 1266-1289. – 8. Zafar T., Martin B., Weaver C.: Resistant starches (RS2 and RS3) have variable effects on bone mineral status in rats. *Open Nutr. J.*, 2009; 3: 17-22. – 9. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC.: 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. – 10. Lopez H.W., Coudray C., Bellanger J., Levrat-Verny M., Demigne C., Rayssiguier Y., Remesy C.: Resistant Starch improves mineral assimilation in rats adapted to a wheat bran diet. *Nutr. Res.*, 2000; 20: 141-155.
11. Lopez H.W., Levrat-Verny M.A., Coudray C., Besson C., Krespine V., Messenger A., Demigne C., Remesy C.: Class 2 resistant starch lower plasma and liver lipids and improve mineral retention in rats. *J. Nutr.*, 2001; 131: 1283-1289. – 12. Younes H., Coudray Ch., Bellanger J., Demigne Ch., Rayssiguier Y., Remesy Ch.: Effects of two carbohydrates (inulin and resistant starch) and their combination on calcium and magnesium absorption balance in rats. *Brit. J. Nutr.*, 2001; 86: 479-485. – 13. Grajeta H., Prescha A.,

Biernat J.: Wpływ skrobi odpornej RS4 na zawartość wapnia w osoczu krwi i kości udowej oraz na jego absorpcję i retencję pozorną u szczurów doświadczalnych. *Bromat. Chem. Toksykol.* 2007; 40(1): 99-105.

– 14. *Schulz A.G.M., Van Amelsvoort J.M.M., Beynen A.C.*: Dietary native resistant starch but not retrograded resistant starch raises magnesium and calcium absorption in rats. *J. Nutr.* 1993; 123: 1724-1731.

– 15. *Orzel D., Zięba T., Bronkowska M., Styczyńska M., Biernat J.*: Wpływ preparatów skrobi opornych dodawanych do diet zwierząt doświadczalnych na absorpcje pozorne wapnia i fosforu. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2012; 45(3): 296-302.

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