

*Danuta Figurska-Ciura, Agata Gruszka, Dagmara Orzeł, Marzena Styczyńska,
Karolina Łoźna, Artur Gryszkin¹, Jadwiga Biernat*

WPLYW PREPARATU SKROBI OPORNEJ RS4
DODAWANEGO DO DIET
O ZRÓŻNICOWANEJ ZAWARTOŚCI BIAŁKA I ŻELAZA
NA ZAWARTOŚĆ SKŁADNIKÓW MINERALNYCH
W KOŚCIACH I SIERŚCI SZCZURÓW

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

¹ Katedra Technologii Rolnej i Przechowalnictwa
Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu
Kierownik: prof. dr hab. *A. Golachowski*

Badano wpływ preparatu skrobi odpornej RS4, dodawanego do diet o zróżnicowanej zawartości białka i żelaza na zawartość żelaza, wapnia i magnezu w kościach oraz sierści szczurów doświadczalnych. Doświadczenie przeprowadzono na szczurach rasy Wistar, karmionych paszą o zróżnicowanej zawartości białka i żelaza bez lub z dodatkiem skrobi odpornej RS4. Oznaczono zawartość wapnia, magnezu i żelaza w kościach i sierści zwierząt metodą płomieniowej absorpcyjnej lub emisyjnej spektrometrii atomowej.

Słowa kluczowe: skrobia oporna RS4, białko, żelazo, szczury doświadczalne.
Key words: RS4 resistant starch, protein, iron, laboratory rats.

Jednym ze składników żywności, który może modyfikować wchłanianie pierwiastków mineralnych z diety, jest skrobia oporna (Resistant Starch – RS). Jest to frakcja skrobi, która nie jest całkowicie trawiona w jelicie cienkim i w formie nie-naruszonej lub w postaci wielkocząsteczkowych produktów częściowej hydrolizy, przechodzi do jelita grubego (1). Skrobia ta, ze względu na potencjalne właściwości prozdrowotne, stała się przedmiotem licznych badań (1, 2, 3). W odniesieniu do metabolizmu składników mineralnych skrobia oporna odznacza się właściwościami odmiennymi od innych frakcji błonnika pokarmowego. Zwiększone spożycie różnych frakcji błonnika na ogół ogranicza wchłanianie pierwiastków mineralnych, natomiast wyniki badań wskazują, że skrobia oporna zwiększa przyswajalność, takich składników mineralnych jak, wapń, fosfor, żelazo, magnez, cynk i miedź (3). Wyróżnia się cztery rodzaje skrobi odpornej, typu 1 (RS1), typu 2 (RS2), typu 3 (RS3) oraz typu 4 (RS4) (2). RS4 to skrobia, która została poddana modyfikacjom chemicznym lub fizycznym. Jej oporność wynika ze zmian w składzie i strukturze cząsteczki pod wpływem procesów estryfikacji, oksydacji, hydrolizy, sieciowania i działania termicznego (4, 5). Podczas modyfikacji chemicznej zachodzi proces

podstawienia grup wodorotlenowych, a pierścień piranozowy nie ulega zniszczeniu. Modyfikacjom chemicznym poddaje się również skrobię retrogradowaną. W procesie retrogradacji dochodzi do łączenia się łańcuchów amylozowych w roztworze wodnym. Fizyczne modyfikacje skrobi polegają przede wszystkim na tworzeniu agregatów polisacharydowych i obejmują obróbkę hydrotermiczną prowadzącą do zniszczenia struktury ziaren skrobi oraz ich skleikowania (6).

Właściwości fizjologiczne skrobi odpornej, wynikają głównie z jej korzystnego wpływu na pracę układu pokarmowego człowieka. Skrobia oporna jest składnikiem żywności zwiększającym jej masę i jednocześnie obniżającym wartość energetyczną (7). Spożywanie produktów, zawierających skrobię nieulegającą trawieniu, powoduje obniżenie poziomu glukozy we krwi (1) oraz insuliny potrzebnej do jej metabolizowania (4). Skrobia oporna wypełnia przewód pokarmowy w większym stopniu niż zwykła skrobia, skraca czas pasażu jelitowego oraz zapobiega zaparciom zwiększając masę i objętość kału. Niestrawiona w jelicie cienkim trafia do jelita grubego, gdzie zostaje wykorzystana przez mikroflorę jelitową w procesie fermentacji, w wyniku której powstają związki lotne tj. wodór, metan, dwutlenek węgla oraz krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (8, 9). Pod wpływem wytwarzanych kwasów następuje obniżenie pH treści jelita grubego, co prowadzi do selekcji zamieszkujących je drobnoustrojów. Następuje stymulacja wzrostu szeregu korzystnych bakterii m.in. *Lactobacillus* i eliminacja drobnoustrojów patogennych. Prawdopodobnie wzrost kwasowości treści jelitowej jest też przyczyną lepszego wchłaniania składników mineralnych z diety. Powstałe w wyniku fermentacji kwasy obniżają stężenie cholesterolu, zwłaszcza frakcji LDL oraz triacylogliceroli we krwi i wątrobie. Skrobia oporna powoduje również obniżenie ilości mocznika we krwi. Powstający w procesie fermentacji kwas masłowy zapobiega powstawaniu komórek nowotworowych w jelicie grubym (10, 11).

Obniżenie pH w treści jelita grubego sprzyja dysocjacji związków mineralnych i wzrostowi liczby zjonizowanych form pierwiastków, które są łatwiej przyswajalne. Krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe stymulują również wydłużenie pasażu jelitowego, rozrost ścian jelita oraz zwiększają ich ukrwienie, co zwiększa rozpuszczalność jonów i ich wchłanianie (3). Podobny wpływ, na wchłanianie pierwiastków mineralnych mają wykazujące właściwości prebiotyczne oligosacharydy, które nie są trawione, ale stanowią pożywkę dla pożądaných bakterii przewodu pokarmowego stymulując ich rozwój (12, 13). Zainteresowanie skrobią oporną jako składnikiem diety ważnym w prewencji chorób żywieniowo zależnych systematycznie wzrasta. W tym kontekście pożądane jest badanie właściwości różnych rodzajów skrobi odpornej o potencjalnym zastosowaniu jako składnika żywności funkcjonalnej, nowej lub wygodnej.

Białko jest również składnikiem modyfikującym przyswajalność składników mineralnych np. wapnia i magnezu z pożywienia. Korzystny wpływ na bioprzyswajalność żelaza mają np. białka występujące w mięsie, natomiast białka pochodzące z mleka i produktów mlecznych, m.in. kazeina, lub białka sojowe wpływają niekorzystnie na przyswajalność tego pierwiastka (13).

Celem badań było określenie wpływu preparatu ziemniaczanej skrobi odpornej RS4 w postaci fosforanu monoskrobiowego wytworzonego z rozpuszczalnej skrobi ziemniaczanej i dodawanego do diet o zróżnicowanej zawartości białka i żelaza

na zawartość żelaza, wapnia i magnezu w kościach i sierści szczurów doświadczalnych.

MATERIAŁ I METODY

Badania biologiczne zostały przeprowadzone w warunkach hodowli zgodnie z wymogami określonymi przez II Lokalną Komisję Etyczną ds. Doświadczeń na Zwierzętach przy Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu (nr zgody 103/07). Badania stanowiły część projektu, w którym oceniano wpływ skrobi odpornej na gospodarkę mineralną u zwierząt otrzymujących diety o zróżnicowanej zawartości makroskładników i składników mineralnych (14). Doświadczenie prowadzono na 64 szczurach – samcach rasy Wistar. Zwierzęta, 6–8-tygodniowe, o masie początkowej ok. 200 g zostały podzielone losowo na 8 grup eksperymentalnych (I, II, III, IV, Ia, IIa, IIIa, IVa) po 8 osobników w każdej. W zwierzętarni panowało naturalne oświetlenie, temp. ok. 22°C i wilgotność ok. 60%. Eksperyment trwał 4 tygodnie. W tym czasie zwierzęta miały nieograniczony dostęp do odpowiednich diet doświadczalnych oraz wody. Spożycie paszy oraz wody kontrolowane było codziennie, natomiast raz w tygodniu kontrolowano masę ciała badanych zwierząt. Po zakończeniu doświadczenia szczury usypiano mieszaniną ketaminy i ksylazyny. Pobierano prawą tylną kończynę oraz sierść z czterech obszarów ciała zwierząt: śródbrzusza, lewej kończyny, karku wycinając powierzchnię ok. 2–3 cm². Pobrany materiał biologiczny zamrażano w temp. –18°C do czasu oznaczania pierwiastków mineralnych. Każda z grup zwierząt otrzymywała paszę o innym składzie. Grupie kontrolnej podawano standardową dietę dla gryzoni laboratoryjnych AIN-93M (15).

Tabela I. Skład diet w grupach doświadczalnych

Table I. The composition of diet in the experimental groups

Składnik diety	Grupa doświadczalna							
	I	Ia	II	IIa	III	IIIa	IV	IVa
	zawartość w diecie (g/kg)							
Skrobia pszenna	620	520	620	520	690	590	690	590
RS4	0	100	0	100	0	100	0	100
Sacharoza	100							
Kazeina	140	140	140	140	70	70	70	70
Celuloza	50							
Olej sojowy	40							
AIN-93M	35	35	35*	35*	35	35	35*	35*
AIN-93 VX	10							
Cholina	2,5							
Cysteina	1,8							

* – modyfikowana mieszanka mineralna o obniżonej zawartości żelaza odpowiadającej 17,5 mg/kg diety

Pozostałe diety w grupach doświadczalnych zostały zmodyfikowane pod względem zawartości białka (B) i żelaza (Fe) oraz dodatku skrobi odpornej (RS4) w postaci fosforanu monoskrobiowego. Modyfikacja ta polegała na obniżeniu zawartości białka i/lub żelaza o 50% w stosunku do ilości zalecanej dla gryzoni laboratoryjnych oraz zastosowaniu 10% dodatku skrobi odpornej RS4 zgodnie ze schematem przedstawionym w tab. I. Dodawany preparat skrobi wytworzono w Katedrze Technologii Rolnej i Przechowalnictwa Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, z rozpuszczalnej skrobi ziemniaczanej.

Sierść i kości udowe szczurów rozmrażano w temperaturze pokojowej, a następnie kości oczyszczano dokładnie z tkanki mięśniowej. Oznaczenia wykonywano w jednej próbie kości (cała kość udowa ok. 0,5 g) i dwóch próbach sierści (ok. 0,1 g), które odważono w naczyniach mineralizatora. Próby mineralizowano w 65% kwasie azotowym (5 cm³) z dodatkiem nadtlenu wodoru (1 cm³). Do materiału biologicznego znajdującego się w naczyniach dodawano kwas azotowy i nadtlenek wodoru a następnie próby kości pozostawiano na ok. 24 godz., a próby sierści na ok. 2 godz. w celu wstępnego rozpuszczenia. Mineralizację próbek prowadzono w piecu mikrofalowym MARS 5 w wysokociśnieniowym, mikrofalowym systemie zamkniętym z kontrolą temperatury, zgodnie z programem dostosowanym do rodzaju próbki. Mineralizat studzono, przenoszono ilościowo do fiolki kalibrowanej poj. 10 cm³ i uzupełniano wodą bidestylowaną. Zawartość żelaza i magnezu oznaczano metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej, a wapnia emisyjnej spektrometrii atomowej zgodnie z następującymi parametrami pracy aparatu VARIAN SPECTRA AA240 FS: dł. fali (nm): żelazo – 372, magnez – 285,2, wapń – 422,7, zakres detekcji (µg/cm³) żelazo 1 – 1000, magnez – 0,03 – 1, wapń – 0,01 – 3.

W celu przeprowadzenia oceny statystycznej uzyskanych wyników wykonano trzyczynnikową analizę wariancji ANOVA, za pomocą programu komputerowego „Statistica 9.1 PL” firmy StatSoft Inc., USA. Wobec odrzucenia hipotezy o normalności rozkładu otrzymanych wyników i/lub równości wariancji w porównywanych grupach do testowania różnic przy poziomie istotności <0,05 wykorzystano test mediany Kruskala-Walissa. W poszczególnych grupach przedstawiono wartości minimalne i maksymalne, mediany (Me) oraz wartość pierwszego (Q₁) i trzeciego (Q₃) kwartyła.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W trakcie eksperymentu nie stwierdzono zmian w wyglądzie oraz zachowaniu zwierząt doświadczalnych. Przyrosty masy ciała zwierząt nie różniły się statystycznie istotnie w badanych grupach, a zatem można stwierdzić, że dodanie skrobi odpornej do diet, jak również modyfikacje ilości białka i żelaza zastosowane w eksperymencie nie wpływały znacząco na rozwój szczurów doświadczalnych. Przyrosty masy ciała zwierząt wyrażone jako mediana mieściły się w granicach od 30 g do 55 g. Najwyższy przyrost stwierdzono w I grupie zwierząt (kontrolnej), która karmiona była paszą pokrywającą 100% zapotrzebowania na białko oraz żelazo, bez dodatku preparatu skrobi odpornej. Najniższy przyrost masy ciała zwierząt – 30 g, wykazano w grupie szczurów otrzymującej dietę pokrywają-

ca 50% zapotrzebowania na białko i 50% zapotrzebowania na żelazo. Podobne wyniki uzyskała *Grajeta* i współpr. (5) badając wpływ skrobi opornej RS4 na zawartość wapnia w osoczu krwi i kości udowej oraz na jego absorpcję i retencję pozorną, w podobnych warunkach eksperymentalnych, przy zastosowaniu dodatku skrobi opornej RS4 w postaci skrobi ziemniaczanej modyfikowanej chemicznie przez estryfikację solami kwasu fosforowego oraz wapnia w ilości 0,8% i 1,3% diety. W badaniach *Trautwein'a* i współpr. (16) nie stwierdzono wpływu skrobi opornej RS1, RS2 oraz RS3 na przyrost masy ciała zwierząt doświadczalnych. W badaniach prowadzonych przez *Delahaye'a* i współpr. (17) oraz *Figurską-Ciurę* i współpr. (18), stwierdzono natomiast istotnie niższe przyrosty masy ciała w grupach zwierząt otrzymujących różne rodzaje skrobi opornych, w porównaniu do grup kontrolnych.

W tab. II–VII przedstawiono wpływ zróżnicowanych zawartości białka i żelaza w diecie oraz dodatku skrobi opornej, a także interakcji pomiędzy tymi czynnikami doświadczalnymi na zawartość żelaza, magnezu i wapnia w kościach i sierści szczurów doświadczalnych. Ilość żelaza, magnezu oraz wapnia w kości udowej oraz sierści przedstawiono w postaci mediany w mg/g badanej tkanki. Mediany zawartości żelaza zarówno w kościach, jak i w sierści mieściły się w granicach 0,008–0,016 mg/g tkanki. Ilość magnezu w kościach zwierząt wynosiła od 2,60 do 3,03 mg/g, zaś w sierści od 0,070 do 0,079 mg/g. Zawartość wapnia w kościach wynosiła od 115,2 do 132,3 mg/g, zaś w sierści od 0,268 do 0,437 mg/g.

Na podstawie analizy statystycznej stwierdzono, że dodatek preparatu skrobi opornej RS4 do diety powodował istotne obniżenie zawartości żelaza w kościach zwierząt (tab. II). Zaobserwowano również wpływ interakcji pomiędzy dwoma czynnikami doświadczalnymi: dodatkiem skrobi opornej RS4 i zróżnicowaną zawartością białka, a także skrobią oporną RS4 i różną zawartością żelaza w diecie na zawartość żelaza w kościach szczurów (tab. III). W przypadku pierwszej interakcji najniższą zawartość tego pierwiastka w tkankach – 0,008 mg/g, stwierdzono u zwierząt karmionych paszą o obniżonej zawartości białka i z dodatkiem skrobi opornej RS4. W przypadku drugiej interakcji najniższą zawartość pierwiastka w kościach – 0,010 mg/g, wykazano w grupie zwierząt karmionych paszą z dodatkiem skrobi opornej RS4 oraz 100 % zawartością żelaza. Najwyższe zawartości żelaza – 0,015 mg/g i 0,016 mg/g, stwierdzono u szczurów otrzymujących pasze bez dodatku skrobi opornej RS4. Zaobserwowano także wpływ interakcji pomiędzy trzema czynnikami doświadczalnymi, dodatkiem skrobi opornej, oraz zróżnicowaną zawartością białka i żelaza w dietach na zawartość żelaza w kościach (tab. IV). Najniższą zawartość tego pierwiastka – 0,008 mg/g wykazano w grupie zwierząt karmionych dietą z obniżoną o 50 % zawartością białka, 100 % zawartością żelaza, z dodatkiem skrobi opornej RS4, natomiast najwyższą zawartością – 0,017 mg/g w grupie karmionej tą samą dietą, ale bez dodatku skrobi opornej RS4.

Lopez i współpr. (3) przeprowadzili doświadczenie, w którym badali wpływ skrobi opornej RS2 na zawartość składników mineralnych w kościach samców szczurów rasy Wistar. Autorzy stwierdzili, że zwierzęta karmione dietą zawierającą skrobię oporną miały zwiększoną zawartość żelaza w kości udowej. Może to świadczyć o zróżnicowanym wpływie różnych rodzajów skrobi opornej na gospodarkę mineralną w organizmie zwierząt.

Table II. Wpływ czynników doświadczalnych na zawartość składników mineralnych w kościach szczurów
 Table II. Effect of experimental factors on the content of mineral components in the bones of rats

Czynnik doświadczalny		Fe (mg/g)			Mg (mg/g)			Ca (mg/g)		
Nazwa (n)	Zawartość (%)	min – max	Me (Q ₁ ; Q ₃)	p	min – max	Me (Q ₁ ; Q ₃)	p	min – max	Me (Q ₁ ; Q ₃)	p
RS ₄ (n=32)	0	0,009 – 0,030	0,015 ^b (0,014; 0,017)	0,0001	1,90 – 3,80	2,79 ^a (2,61; 2,85)	0,2768	101,6 – 188,4	127,9 ^a (122,4; 137,4)	0,7371
	10	0,006 – 0,039	0,010 ^a (0,008; 0,014)		1,51 – 3,52	2,84 ^a (2,64; 3,05)		56,9 – 153,1	129,8 ^a (119,6; 137,6)	
Fe (n=32)	50	0,006 – 0,021	0,013 ^a (0,010; 0,015)	0,4684	1,52 – 3,80	2,98 ^a (2,58; 3,02)	0,8614	56,9 – 167,4	123,8 ^a (126,6; 138,7)	0,0135
	100	0,006 – 0,039	0,014 ^a (0,010; 0,017)		2,39 – 3,46	2,80 ^a (2,65; 2,90)		118,0 – 188,4	132,1 ^b (114,4; 137,2)	
B (n=32)	50	0,006 – 0,039	0,013 (0,009; 0,017)	0,7883	1,52 – 3,52	2,76 ^a (2,60; 2,87)	0,0833	56,9 – 167,4	125,6 ^a (117,6; 134,5)	0,0484
	100	0,008 – 0,021	0,014 ^a (0,011; 0,015)		1,90 – 3,80	2,84 ^a (2,68; 3,03)		101,9 – 188,4	132,3 ^b (125,6; 139,5)	

a, b, c – grupy jednorodnie statystycznie, test *Kruskala-Wallis*a przy $p \leq 0,05$ dla wielokrotnego porównania średnich rang dla wszystkich prób

Tabela III. Wpływ interakcji pomiędzy skrobią oporną (RS4), żelazem (Fe) i białkiem (B) na zawartość pierwiastków mineralnych w kościach szczurów
 Table III. Effect of interaction between resistant starch (RS4), iron (Fe) and protein (B) on the content of mineral elements in the rat bones

Nazwa (n)	Czynnik doświadczalny			Fe (mg/g)			Mg (mg/g)			Ca (mg/g)		
	Zawartość (%)	Nr grupy	min-max	Me (Q ₁ ; Q ₃)	p	min-max	Me (Q ₁ ; Q ₃)	p	min-max	Me (Q ₁ ; Q ₃)	p	
interakcje RS4 × B × Fe (n=8)	0 × 100 × 100	I	0,014–0,019	0,016 ^b	0,006	2,60–2,89	2,82 ^a	0,240	126,0–188,5	132,3 ^a	0,084	
				(0,014 ; 0;017)			(2,64 ; 2,85)			(128,8 ; 142,1)		
				0,014 ^{ab}			2,88 ^a			131,3 ^a		
	0 × 100 × 50	II	0,009–0,016	(0,012 ; 0;015)	0,017 ^b	1,89–3,80	(2,80 ; 3,10)	0,240	101,6–167,4	(123,8 ; 140,9)	0,084	
				0,015 ^b			2,73 ^a			134,0 ^a		
				(0,014 ; 0;022)			(2,61 ; 2,80)			(125,8 ; 138,9)		
	0 × 50 × 100	III	0,012–0,030	0,015 ^b	0,006	2,55–3,19	2,70 ^a	0,240	118,0–167,1	120,5 ^a	0,084	
				(0,013 ; 0;017)			(2,58 ; 2,79)			(115,4 ; 123,3)		
				0,011 ^{ab}			2,82 ^a			132,2 ^a		
	10 × 100 × 100	Ia	0,008–0,015	(0,010 ; 0;014)	0,006	2,39–3,21	(2,70 ; 3,01)	0,240	121,0–146,8	(125,4 ; 139,4)	0,084	
				0,012 ^{ab}			3,03 ^a			130,4 ^a		
				(0,011 ; 0;014)			(2,67 ; 3,14)			(117,7 ; 139,4)		
10 × 100 × 50	IIa	0,008–0,021	0,008 ^a	0,006	2,50–3,43	2,88 ^a	0,240	112,5–146,5	131,2 ^a	0,084		
			(0,007 ; 0;011)			(2,76 ; 2,95)			(124,6 ; 137,6)			
			0,010 ^{ab}			2,61 ^a			115,2 ^a			
10 × 50 × 100	IIIa	0,006–0,039	(0,008 ; 0;013)	0,006	2,64–3,46	(2,22 ; 2,88)	0,240	119,8–153,1	(106,3 ; 134,7)	0,084		
			0,010 ^{ab}			2,61 ^a			115,2 ^a			
			(0,008 ; 0;013)			(2,22 ; 2,88)			(106,3 ; 134,7)			
10 × 50 × 50	IVa	0,006–0,015	0,006 ^a	0,006	1,52–3,53	2,61 ^a	0,240	56,9–149,0	115,2 ^a	0,084		
			(0,007 ; 0;011)			(2,76 ; 2,95)			(124,6 ; 137,6)			
			0,010 ^{ab}			2,61 ^a			115,2 ^a			

Table IV. Wpływ interakcji pomiędzy: skrobią oporną (RS4), żelazem (Fe) i białkiem (B) na zawartość pierwiastków mineralnych w kościach szczurów
 Table IV. Effect of interaction between experimental factors: resistant starch (RS4), iron (Fe) and protein (B) on the content of minerals in the experimental rat bones

Nazwa (n)	Czynnik	Fe (mg/g)			Mg (mg/g)			Ca (mg/g)			p
		Zawartość (%)	min-max	Me (Q ₁ ; Q ₃)	p	min-max	Me (Q ₁ ; Q ₃)	p	min-max	Me (Q ₁ ; Q ₃)	
interakcje RS4 × Fe (n=16)	0 × 100	0,012–0,030	0,016 ^b	0,006–0,039	0,0006	2,55–3,19	2,79 ^a	0,5727	118,0–188,4	132,2 ^a	0,0932
			(0,014 ; 0,020)				(2,61 ; 2,84)			(127,4 ; 141,3)	
	0 × 50	0,009–0,019	0,014 ^{ab}	0,006–0,039	0,0006	1,89–2,39	2,80 ^a	0,5727	101,6–167,4	123,9 ^a	0,0932
			(0,013 ; 0,016)				(2,65 ; 2,90)			(117,5 ; 132,4)	
	10 × 100	0,006–0,039	0,010 ^a	0,006–0,039	0,0006	2,39–3,46	2,85 ^a	0,5727	119,8–153,1	131,8 ^a	0,0932
			(0,008 ; 0,016)				(2,71 ; 3,00)			(125,0 ; 138,2)	
	10 × 50	0,006–0,021	0,012 ^a	0,006–0,021	0,0006	1,52–3,53	2,78 ^a	0,5727	56,87–149,0	123,9 ^a	0,0932
			(0,009 ; 0,014)				(2,51 ; 3,05)			(113,0 ; 137,5)	
interakcje RS4 × B (n=16)	0 × 100	0,009–0,019	0,014 ^b	0,009–0,019	0,0008	1,89–3,80	2,84 ^a	0,2174	101,6–188,4	132,3 ^a	0,2160
			(0,014 ; 0,016)				(2,69 ; 2,90)			(127,4 ; 141,3)	
	0 × 50	0,011–0,030	0,015 ^b	0,011–0,030	0,0008	2,51–3,19	2,70 ^a	0,2174	111,5–167,1	123,8 ^a	0,2160
			(0,014 ; 0,019)				(2,60 ; 2,80)			(119,1 ; 129,7)	
	10 × 100	0,007–0,021	0,012 ^{ab}	0,007–0,021	0,0008	2,39–3,43	2,90 ^a	0,2174	112,5–146,8	132,2 ^a	0,2160
			(0,010 ; 0,014)				(2,67 ; 3,08)			(121,0 ; 139,3)	
	10 × 50	0,006–0,039	0,008 ^a	0,006–0,039	0,0008	1,52–3,52	2,82 ^a	0,2174	56,87–153,1	127,3 ^a	0,2160
			(0,008 ; 0,013)				(2,61 ; 2,93)			(115,5 ; 136,8)	
interakcje Fe × B (n=16)	100 × 100	0,009–0,019	0,014 ^a	0,009–0,019	0,8728	2,39–3,21	2,82 ^a	0,0796	121,0–188,4	132,3 ^b	0,0085
			(0,014 ; 0,016)				(2,64 ; 2,87)			(127,4 ; 139,3)	
	100 × 50	0,008–0,021	0,015 ^a	0,008–0,021	0,8728	1,89–3,80	2,97 ^a	0,0796	101,6–167,4	132,2 ^{ab}	0,0085
			(0,014 ; 0,019)				(2,69 ; 3,14)			(118,9 ; 139,6)	
	50 × 100	0,006–0,039	0,012 ^a	0,006–0,039	0,8728	2,55–3,46	2,80 ^a	0,0796	118,0–167,4	130,4 ^{ab}	0,0085
			(0,010 ; 0,014)				(2,66 ; 2,90)			(125,3 ; 137,6)	
	50 × 50	0,006–0,019	0,008 ^a	0,006–0,019	0,8728	1,52–3,52	2,69 ^a	0,0796	56,87–149,0	117,78 ^a	0,0085
			(0,008 ; 0,013)				(2,52 ; 2,82)			(113,0 ; 125,5)	

Tabela V. Wpływ czynników doświadczalnych: skrobi opornej (RS4), żelaza (Fe) i białka (B) na zawartość składników mineralnych w sierści szczurów
 Table V. Effect of interactions between resistant starch (RS4), iron (Fe) and protein (B) on the content of mineral components in the fur of experimental rats

Czynnik doświadczalny		Fe (mg/g)			Mg (mg/g)			Ca (mg/g)		
Nazwa (n)	Zawartość (%)	min – max	Me (Q ₁ ; Q ₃)	p	min – max	Me (Q ₁ ; Q ₃)	p	min – max	Me (Q ₁ ; Q ₃)	p
RS ₄ (n=32)	0	0,005 – 0,021	0,008 ^a (0,006 ; 0,010)	<0,0001	0,064 – 0,099	0,074 ^a (0,070 ; 0,083)	0,3612	0,287 – 0,709	0,404 ^b (0,381 ; 0,443)	< 0,0001
	10	0,008 – 0,022	0,012 ^b (0,010 ; 0,013)		0,053 – 0,109	0,072 ^a (0,064; 0,086)		0,219 – 0,615	0,314 ^a (0,269 ; 0,350)	
Fe (n=32)	50	0,005 – 0,022	0,009 ^a (0,008 ; 0,013)	0,4127	0,053 – 0,109	0,074 ^a (0,065; 0,085)	0,8773	0,219 – 0,709	0,330 ^a (0,270 ; 0,386)	0,0050
	100	0,004 – 0,021	0,011 ^a (0,008 ; 0,011)		0,058 – 0,103	0,072 ^a (0,068; 0,083)		0,271 – 0,615	0,394 ^b (0,329 ; 0,423)	
B (n=32)	50	0,004 – 0,022	0,010 ^a (0,008 ; 0,011)	0,3043	0,053 – 0,109	0,076 ^a (0,064; 0,086)	0,2374	0,219 – 0,563	0,325 ^a (0,281 ; 0,393)	0,0328
	100	0,005 – 0,021	0,011 ^a (0,008 ; 0,013)		0,053 – 0,109	0,072 ^a (0,064; 0,086)		0,237 – 0,709	0,387 ^b (0,332 ; 0,423)	

Table VI. Wpływ interakcji skrobią oporną (RS4), żelazem (Fe) i białkiem (B) na zawartość pierwiastków mineralnych w sierści szuczurów
 Table VI. Effect of interactions between resistant starch (RS4), iron (Fe) and protein (B) on the content of mineral components in the experimental rats fur

Czynnik doświadczalny		Fe (mg/g)			Mg (mg/g)			Ca (mg/g)					
Nazwa (n)	Zawartość (%)	Nr grupy	min – max	Me (Q ₁ ; Q ₃)	p	min – max	Me (Q ₁ ; Q ₃)	p	min – max	Me (Q ₁ ; Q ₃)	p		
interakcje RS4×B×Fe (n=8)	0×100×100	I	0,007 – 0,021	0,008 ^{abc}	0,0001	0,068 – 0,083	0,073 ^a	0,9259	0,383 – 0,503	0,437 ^c	< 0,0001		
				(0,007 ; 0,012)			(0,071 ; 0,078)			(0,405 ; 0,437)			
				0,007 ^a			0,415 ^c						
	0×100×50	II	0,005 – 0,009	(0,006 ; 0,008)	0,076 ^a	0,065 – 0,085	0,079 ^a	0,382 ; 0,443)	0,409 ^c				
				0,008 ^{ab}	(0,072 ; 0,087)	0,288 – 0,563	0,383 ^{abc}						
				(0,005 ; 0,010)	0,072 ; 0,087)	0,287 – 0,409	(0,327 ; 0,401)						
	0×50×100	III	0,007 – 0,012	0,008 ^{ab}	0,0001	0,058 – 0,083	0,072 ^a	0,065 ; 0,081)	0,314 – 0,615	0,393 ^{bc}	0,343 ; 0,422)		
				(0,012 ; 0,014)								0,065 ; 0,081)	
				0,013 ^c								0,070 ^a	0,237 – 0,353
	10×100×100	Ia	0,011 – 0,017	0,012 ^{bc}	0,0001	0,053 – 0,109	0,070 ^a	0,054 ; 0,089)	0,271 – 0,391	0,317 ^{abc}	0,278 ; 0,347)		
				(0,011 ; 0,012)								0,076 ^a	0,278 ; 0,347)
				0,010 ^{abc}								(0,065 ; 0,088)	0,219 – 0,314
10×100×50	IIa	0,010 – 0,014	0,010 ^{abc}	0,0001	0,061 – 0,097	0,073 ^a	(0,065 ; 0,087)	0,219 – 0,314	0,253 ; 0,285)				
			(0,009 ; 0,012)							0,073 ^a			
			0,010 ^{abc}							(0,065 ; 0,087)			
10×50×100	IIIa	0,008 – 0,015	0,008 ^{abc}	0,0001	0,061 – 0,097	0,073 ^a	(0,065 ; 0,087)	0,219 – 0,314	0,253 ; 0,285)				
			(0,009 ; 0,012)							0,073 ^a			
			0,010 ^{abc}							(0,065 ; 0,087)			
10×50×50	IVa	0,008 – 0,022	0,008 ^{abc}	0,0001	0,061 – 0,097	0,073 ^a	(0,065 ; 0,087)	0,219 – 0,314	0,253 ; 0,285)				
			(0,009 ; 0,013)							0,073 ^a			
			0,010 ^{abc}							(0,065 ; 0,087)			

Table VII. Wpływ interakcji pomiędzy skrobią oporną (RS4), żelazem (Fe) i białkiem (B) na zawartość pierwiastków mineralnych w sierści szczurów
 Table VII. Effect of interaction between resistant starch (RS4), iron (Fe) and protein (B) on the content of minerals in the experimental rats fur

Czynnik		Fe (mg/g)			Mg (mg/g)			Ca (mg/g)		
Nazwa (n)	Zawartość (%)	min – max	Me (Q ₁ ; Q ₃)	p	min – max	Me (Q ₁ ; Q ₃)	p	min – max	Me (Q ₁ ; Q ₃)	p
interakcje RS4 x Fe (n=16)	0 x 100	0,008 – 0,019	0,008 (0,007 ; 0,011)	<0,0001	0,066 – 0,096	0,073 (0,071 ; 0,082)	0,8351	0,288 – 0,563	0,415 (0,393 ; 0,482)	< 0,0001
	0 x 50	0,008 – 0,011	0,008 (0,006 ; 0,008)		0,064 – 0,099	0,074 (0,068 ; 0,084)		0,388 (0,369 ; 0,413)		
	10 x 100	0,008 – 0,017	0,012 (0,010 ; 0,083)		0,058 – 0,103	0,072 (0,065 ; 0,084)		0,344 (0,314 ; 0,395)		
	10 x 50	0,008 – 0,022	0,011 (0,010 ; 0,014)		0,053 – 0,109	0,073 (0,060 ; 0,087)		0,267 (0,246 ; 0,301)		
interakcje RS4 x B (n=16)	0 x 100	0,005 – 0,021	0,008 (0,007 ; 0,009)	<0,0001	0,065 – 0,085	0,073 (0,070 ; 0,081)	0,5238	0,334 – 0,709	0,415 (0,389 ; 0,443)	< 0,0001
	0 x 50	0,005 – 0,012	0,008 (0,006 ; 0,010)		0,064 – 0,099	0,077 (0,070 ; 0,087)		0,390 (0,335 ; 0,426)		
	10 x 100	0,010 – 0,017	0,013 (0,011 ; 0,014)		0,053 – 0,109	0,072 (0,058 ; 0,083)		0,331 (0,278 ; 0,386)		
	10 x 50	0,008 – 0,022	0,010 (0,009 ; 0,013)		0,061 – 0,103	0,073 (0,065 ; 0,088)		0,280 (0,269 ; 0,315)		
interakcje Fe x B (n=16)	100 x 100	0,007 – 0,021	0,012 (0,008 ; 0,014)	0,2827	0,058 – 0,083	0,072 (0,069 ; 0,081)	0,6646	0,334 – 0,709	0,410 (0,389 ; 0,443)	0,0054
	100 x 50	0,005 – 0,014	0,010 (0,007 ; 0,012)		0,053 – 0,109	0,073 (0,063 ; 0,084)		0,345 (0,335 ; 0,426)		
	50 x 100	0,005 – 0,015	0,010 (0,008 ; 0,011)		0,065 – 0,103	0,076 (0,066 ; 0,087)		0,356 (0,278 ; 0,368)		
	50 x 50	0,006 – 0,022	0,009 (0,008 ; 0,010)		0,061 – 0,099	0,076 (0,066 ; 0,087)		0,297a (0,269 ; 0,315)		

Dodatek preparatu skrobi opornej do diet powodował podwyższenie zawartości żelaza w sierści zwierząt doświadczalnych (tab. V). Podobnie jak w przypadku kości, interakcje pomiędzy dwoma czynnikami doświadczalnymi: dodatkiem preparatu skrobi opornej i zróżnicowaną zawartością białka, a także dodatkiem skrobi opornej RS4 i zróżnicowaną zawartością żelaza w diecie powodowały istotne statystycznie różnice w zawartości żelaza w sierści zwierząt (tab. VI). Najniższe zawartości pierwiastka – 0,008 mg/g, obserwowano w grupach zwierząt karmionych dietą bez dodatku skrobi opornej RS4. Interakcje pomiędzy trzema czynnikami doświadczalnymi, dodatkiem preparatu skrobi opornej RS4 oraz zróżnicowaną zawartością białka i żelaza również miała wpływ na zawartość żelaza w sierści (tab. VII). Najniższą zawartością pierwiastka – 0,007 mg/g, odznaczała się grupa zwierząt otrzymująca dietę o 100% zawartości białka, 50% zawartości żelaza bez dodatku skrobi opornej, natomiast najwyższą – 0,013 mg/g, grupa doświadczalna karmiona dietą o 100% zawartości białka, żelaza i z 10% dodatkiem skrobi opornej RS4.

Nie stwierdzono istotnego wpływu zróżnicowanych zawartości żelaza lub białka oraz interakcji pomiędzy tymi dwoma czynnikami doświadczalnymi w diecie na zawartość żelaza w kościach i sierści badanych szczurów. *Medeiros* i współprac. (19) przeprowadzili badania na szczurach doświadczalnych karmionych dietami z niedoborem żelaza lub wapnia lub obu tych pierwiastków równocześnie i stwierdzili, że obniżenie poziomu żelaza w diecie spowodowało obniżenie zawartości pierwiastków mineralnych, m.in. żelaza w kościach szczurów doświadczalnych.

W niniejszym doświadczeniu zaobserwowano również, że zarówno dodatek skrobi opornej RS4, jak i zróżnicowana zawartość białka lub żelaza oraz interakcje pomiędzy tymi czynnikami doświadczalnymi w diecie nie powodowały statystycznie istotnych różnic w zawartości magnezu w kościach i sierści zwierząt.

Lopez i współprac. (3) stwierdzili natomiast, że skrobia oporna RS2 dodawana do diety powodowała zwiększenie zawartości magnezu w kościach zwierząt doświadczalnych.

W niniejszym doświadczeniu stwierdzono, że dodatek skrobi opornej RS4 oraz interakcje pomiędzy dwoma czynnikami doświadczalnymi, dodatkiem skrobi opornej RS4 i zróżnicowaną zawartością białka, a także dodatkiem skrobi opornej RS4 i zróżnicowaną zawartością żelaza w diecie nie powodowały statystycznie istotnych różnic w zawartości wapnia w kościach zwierząt. Wykazano, że zarówno obniżenie zawartości białka jak i obniżenie zawartości żelaza w diecie powodowało istotne zmniejszenie zawartości wapnia w kościach szczurów doświadczalnych. Na podstawie obserwacji skutków interakcji pomiędzy tymi dwoma czynnikami doświadczalnymi w diecie można stwierdzić, że powodowały one istotne zmiany zawartości wapnia w kościach badanych zwierząt. Najniższą zawartość pierwiastka – 117,8 mg/g oznaczono w grupie szczurów karmionych dietą o obniżonej zawartości białka i żelaza, natomiast najwyższą – 132,3 mg/g w grupie otrzymującej paszę ze 100 % zawartością białka i żelaza.

Medeiros i współprac. (19) stwierdzili, że obniżenie ilości żelaza w diecie nie powodowało obniżenia zawartości wapnia w kościach zwierząt doświadczalnych.

W niniejszych badaniach dodatek preparatu skrobi opornej RS4 do diety powodował istotne obniżenie zawartości wapnia w sierści zwierząt doświadczalnych. Zaobserwowano również wpływ interakcji pomiędzy dwoma czynnikami doświad-

czalnymi, dodatkiem skrobi opornej RS4 i zróżnicowaną zawartością białka, a także dodatkiem skrobi opornej RS4 i zróżnicowaną zawartością żelaza w diecie na zawartość wapnia w sierści szczurów. Najniższe zawartości tego pierwiastka występowały u zwierząt otrzymujących dietę z dodatkiem skrobi opornej, ale o obniżonej zawartości żelaza (0,268 mg/g) lub białka (0,280 mg/g), a najwyższe zawartości, u zwierząt otrzymujących paszę zawierającą 100% białka (0,415 mg/g) lub żelaza (0,415 mg/g) nie zawierającą skrobi. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono również, że interakcja pomiędzy trzema czynnikami doświadczalnymi, dodatkiem skrobi opornej RS4 oraz zróżnicowaną zawartością białka i żelaza w dietach miała wpływ na zawartość wapnia w sierści zwierząt. Najniższą zawartość tego pierwiastka w sierści – 0,268 mg/g, wykazano u zwierząt karmionych dietą z dodatkiem skrobi opornej RS4, o obniżonej zawartości białka i żelaza, natomiast najwyższą zawartość – 0,437 mg/g, u zwierząt otrzymujących dietę zawierającą należne ilości białka i żelaza, bez dodatku skrobi opornej RS4.

W badaniach *Grajety* i współpr. (5) stwierdzono, że zawartość wapnia w kości udowej szczurów, karmionych dietami z dodatkiem skrobi opornej RS4 była statystycznie istotnie wyższa, niż u karmionych dietami bez tej skrobi.

Stwierdzono także, że zarówno obniżenie zawartości białka, jak i obniżenie zawartości żelaza w diecie powodowało zmniejszenie zawartości wapnia w sierści szczurów doświadczalnych. Stwierdzono również, że interakcja pomiędzy tymi dwoma czynnikami powodowała statystycznie istotne różnice w zawartości wapnia w sierści zwierząt. Najniższą ilość pierwiastka – 0,297 mg/g, wykazano u zwierząt karmionych dietą zawierającą 50% białka i żelaza, natomiast najwyższą – 0,410 mg/g, u zwierząt otrzymujących paszę zawierającą zarówno 100 % białka jak i żelaza.

Tabela VIII. Wpływ czynników doświadczalnych i interakcji pomiędzy nimi na zawartość pierwiastków mineralnych w kościach i sierści zwierząt

Table VIII. Effect of experimental factors and their interaction on the content of mineral elements in the bones and fur of animals

Czynnik doświadczalny	Zawartość pierwiastka*					
	KOŚCI			SIERŚĆ		
	Fe	Mg	Ca	Fe	Mg	Ca
RS4	↓	↔	↔	↑	↔	↓
Fe	↔	↔	↓	↔	↔	↓
B	↔	↔	↓	↔	↔	↓
INTERAKCJE**						
RS4 × Fe	+	-	-	+	-	+
RS4 × B	+	-	-	+	-	+
Fe × B	-	-	+	-	-	+
RS4 × Fe × B	+	-	-	+	-	+

* podwyższenie (↑), obniżenie (↓) zawartości pierwiastka w tkankach lub brak wpływu czynnika doświadczalnego (↔)

** wpływ (+) lub brak (-) wpływu interakcji między czynnikami na zawartość pierwiastka w tkankach

W tab. VIII przedstawiono schematycznie efekty działania wszystkich badanych czynników doświadczalnych.

W piśmiennictwie brak jest doniesień o wpływie skrobi odpornej, białka i żelaza na zawartość magnezu, wapnia i żelaza w sierści szczurów doświadczalnych.

WNIOSKI

1. Skrobia oporna RS4 dodawana do diet doświadczalnych niezależnie od zawartości białka i żelaza spowodowała istotne obniżenie zawartości żelaza w kościach oraz podwyższenie zawartości żelaza i obniżenie zawartości wapnia w sierści zwierząt doświadczalnych

2. Zawartość magnezu w kościach i sierści szczurów nie zmieniała się niezależnie od składu diet doświadczalnych.

3. Obniżenie zawartości białka lub żelaza w diecie powodowało obniżenie zawartości wapnia w kościach i sierści zwierząt doświadczalnych.

D. Figurska-Ciura, A. Gruszka, D. Orzeł, M. Styczyńska,
K. Łoźna, J. Biernat, A. Gryszkin

THE INFLUENCE OF RS4 RESISTANT STARCH ADDED TO DIETS WITH DIFFERENT PROTEIN AND IRON CONTENT ON MINERALS CONTENT IN BONES AND FUR OF RATS

Summary

The aim of this study was to investigate the effect of resistant starch RS4 added to diets with different protein and iron contents on iron, calcium and magnesium content in the bones and fur of experimental rats. An experiment was conducted in a group of 64 male Wistar rats, fed experimental diets with different protein and iron content, and with the addition of resistant starch RS4. The determination of the elements in the bones and fur was performed using flame absorption or emission atomic spectrometry with wet digestion in a microwave oven. The addition of resistant starch RS4 to the diets with different contents of protein and iron resulted in a significant decrease in iron and calcium in the bones and increase of the iron content in the fur. The RS4 did not affect the magnesium content in examined tissues and caused a reduction in calcium content in the fur of experimental rats. There was also no impact of the added resistant starch RS4 on weight gain in experimental animals.

PIŚMIENNICTWO

1. *Nugent A.P.*: Health properties of resistant starch. British Nutrition Foundation. Nutr. Bull., 2005; 30: 27-54. – 2. *Haralampu S.G.*: Resistant starch – a review of the physical properties and biological impact of RS3. Carbohydr. Polym., 2000; 41: 285-292. – 3. *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. – 4. *Leszczyński W.*: Resistant starch – classification, structure, production. Pol. J. Food Nutr Sci, 2004; 13 (Supplement 1): 37-50. – 5. *Grajeta H., Perscha 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. – 6. *Galiński G., Gawęcki J., Lewandowicz G.*: Strawność *in vitro* skrobi natywnych i modyfikowanych bez i z dodatkiem środków słodzących. Żywność Nauka Technologia Jakość 2000; 3 (24): 69-77 – 7. *Behall K. Howe J.*: Contribution of fiber and resistant starch to metabolizable energy. American Journal of Clinical Nutrition; 1995; 62: 1158-1160. – 8. *Bird A.*,

Brown I., Topping D.: Starches, resistant starches, the gut microflora and human health. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 2000; 1: 25-37. – 9. *Ferguson L. R., Tasman J., Englyst H.*: Comparative effects of three resistant starch preparations on transit time and short – chain fatty acid production in rats. *Nutr. J.*, 2000; 36(2): 230-237. – 10. *Soral-Śmietana M., Wronkowska M.*: Resistant starch – nutritional and biological activity. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2004; 13 (54).

11. *Brouns F., Kettlitz B., Arrigoni E.*: Resistant starch and “the butyrate revolution”. *Trends Food Sci. Technol.* 2002; 13: 251–261. – 12. *Scholz-Ahrens K. E., Schaafsma G., van den Heuvel E. G. H. M., Schrezenmeir J.*: Effect of prebiotics on mineral metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001; 73: 459S-464S. – 13. *Grajeta H.*: Wpływ składników pokarmowych na wchłanianie żelaza. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2006; 39(2): 111-119. – 14. *Orzeł D., Bronkowska M., Kapelko M, Biernat J.*: Wpływ skrobi opornej RS4 w dietach o zróżnicowanej zawartości białka na wybrane wskaźniki biochemiczne krwi szczurów *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2013; 46(3): 290-299 – 15. *Reeves P. G., Nielsen F.H., Fahey G. C. Jr.*: 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. – 16. *Trautwein E.A., Forgbert K., Rieckhoff D., Erbersdobler H.F.*: Impact of β -cyclodextrin and resistant starch on bile acid metabolism and fecal steroid excretion in regard to their hypolipidemic action in hamsters. *Bioch. Biophys. Acta*, 1999; 1437: 1-12. – 17. *Delahaye E.P., Sequera B., Herrera I.*: Plant starches and oils. Their influence on digestion in rats. *J. Sci. Food. Agricul.*, 1998; 77: 381-386. – 18. *Figurska-Ciura D., Orzeł D., Styczyńska M., Leszczyński W., Żechalko-Czajkowska A.*: Wpływ skrobi opornej RS4 na metabolizm szczurów rasy Wistar. Wskaźniki biochemiczne i lipidowe. *Roczn. PZH* 2007; 58(1): 1-6. – 19. *Medeiros D. M., Plattner A., Jennings D., Stoecker B.*: Bone Morphology, Strength and Density Are Compromised in Iron-Deficient Rats and Exacerbated by Calcium Restriction. *J Nutr.*, 2002; 132(10): 3135-3141.

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