

Jacek Aniola, Grzegorz Galiński, Wioleta Olejniczak, Jan Gawęcki

WPŁYW WIELKOŚCI DODATKU DO DIETY SZCZURÓW PREPARATÓW WYSOKOBŁONNIKOWYCH JABŁKOWEGO ORAZ BURACZANEGO NA DOSTĘPNOŚĆ BIOLOGICZNĄ WITAMINY E

Katedra Higieny Żywienia Człowieka Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu
Kierownik: prof. dr hab. *J. Jeszka*

Celem badań było określenie wpływu wielkości dodatku dwóch wybranych preparatów wysokobłonnikowych: jabłkowego oraz buraczanego do diety szczurów na biodostępność witaminy E, określoną na podstawie badań bilansowych oraz analizy zawartości α -tokoferolu w wątrobach. Wykazano, iż wysoki dodatek preparatów wysokobłonnikowych do diety może obniżyć biodostępność tokoferoli, przy czym preparat buraczany obniża biodostępność witaminy E w większym stopniu niż preparat jabłkowy.

Hasła kluczowe: błonnik pokarmowy, biodostępność, tokoferole.
Key words: dietary fiber, bioavailability, tocopherols.

W związku z pojawieniem się na rynku szerokiej gamy preparatów wysokobłonnikowych, a także coraz szerszym ich stosowaniem jako suplementów lub dodatku do żywności, istotnym wydaje się określenie interakcji błonnika pokarmowego z innymi składnikami pożywienia.

Celem niniejszych badań było określenie wpływu wielkości dodatku dwóch wybranych preparatów wysokobłonnikowych do diety szczurów na biodostępność witaminy E, określoną na podstawie badań bilansowych oraz analizy zawartości α -tokoferolu w wątrobach.

MATERIAŁ I METODY

W badaniach zastosowano mikronizowane preparaty wysokobłonnikowe produkcji firmy MICROSTRUCTURE Sp. z o.o. z Warszawy, o nazwach handlowych: Błonnik jabłkowy (J) – wyłoki jabłkowe oraz Błonnik buraczany (B) – wysłodki buraka cukrowego. Charakterystykę składu preparatów opisano we wcześniejszych publikacjach (1, 2).

W doświadczeniu biologicznym zastosowano model doświadczenia dwuczynnikowego: rodzaj preparatu J i B, wielkość dodatku preparatu do diety: 5, 8, 12, 15% s.m. Grupa kontrolna otrzymywała 5%-owy dodatek skrobi

ziemniaczanej. Badania realizowano, za zgodą Lokalnej Komisji Etycznej nr 12/2004, na 63. samcach szczurów białych rasy Wistar, w wieku 8 tygodni, o średniej początkowej masie ciała 171 ± 15 g. Zwierzęta otrzymywały ad libitum diety eksperymentalne złożone z: kazeiny (20%), smalcu (16%), oleju słonecznikowego (4%), cukru (35%), mieszanek: witaminowej (1%) i mineralnej (4%) sporządzonych wg AIN-93 (3), skrobi ziemniaczanej (5%- grupa kontrolna) lub preparatów wysokobłonnikowych (w ilościach zapewniających zawartość błonnika w dietach na poziomach: 5, 8, 12, 15% s.m. diet) oraz skrobi pszennej (do 100%).

Doświadczenie trwało 41 dni, przy czym od dnia 30. do 40. przeprowadzono badania bilansowe metodą klasyczną, a po ich zakończeniu zwierzęta uśmiercano i wyprzeprawowywano wątroby.

W próbach diety, kału i wątroby oznaczano zawartość tokoferoli techniką HPLC z zastosowaniem zmodyfikowanej metody *Katsanidisa* i *Addisa* (4). Analiz dokonano za pomocą zestawu HPLC Merck Hitachi Lachom 7000 z detektorem DAD L-7455, kolumną Merck LiChroCART® 250-4 (LiCrospher®100, RP-18e, 5 μ m); eluent: heksan z octanem etylu (99:1), szybkość przepływu: 2 ml/min, wielkość nastrzyku: 20 μ l, detekcja przy długości fali 295 nm, czasy retencji tokoferoli: α T- 3,8 min, γ T- 6,6 min oraz δ T- 9,2 min.

Na podstawie oszacowań spożytych i wydalonych ilości poszczególnych homologów tokoferoli obliczono wskaźniki ich absorpcji z diety.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Analiza wariancji wykazała istotny statystycznie wpływ obu badanych czynników na absorpcję tokoferoli z diety oraz brak takiego wpływu w odniesieniu do zawartości α T w wątrobie zwierząt. Odnotowano niższą absorpcję γ T ($p < 0,01$) oraz δ T ($p < 0,001$) w przypadku preparatu buraczanego (B) oraz statystycznie istotny wpływ wielkości dodatku błonnika do diet na absorpcję α T ($p < 0,05$) oraz δ T ($p < 0,01$), przy czym już 8%-owy dodatek preparatów istotnie obniżał ich absorpcję z przewodu pokarmowego.

Średnie wyniki grupowe wraz z odchyleniami standartowymi oraz wynikami analizy wariancji jednoczynnikowej przedstawiono w tabeli I. Wyraźnie niższe wchłanianie α T z przewodu pokarmowego w stosunku do grupy kontrolnej (K), zaobserwowano tylko w grupie J8, natomiast δ T, w grupach szczurów otrzymujących dietę z wysokim dodatkiem preparatu buraczanego: B12 i B15, przy czym nie odnotowano wyraźnego trendu wskazującego na silniejszy efekt działania błonnika wraz ze wzrostem udziału preparatu w diecie.

Jednocześnie odnotowano ujemne korelacje liniowe pomiędzy absorpcją δ T a wielkościami spożycia błonnika całkowitego ($R = -0,44$, $p < 0,01$), rozpuszczalnego ($R = -0,63$, $p < 0,001$), nierozpuszczalnego ($R = -0,38$, $p < 0,01$) oraz hemiceluloz ($R = -0,43$, $p < 0,01$).

Tabela 1. Wskaźniki biodostępności tokoferoli z diet różniących się rodzajem i wielkością dodatku preparatu wysokobłonnikowego (średnia \pm SD)Table 1. Tocopherols bioavailability indexes of diets differing in type and level of the high-fiber formulation (mean \pm SD)

Grupa	Absorpcja α T (%) [*]	Absorpcja γ T (%)	Absorpcja δ T (%)	α T w wątrobie (mg/100g)
J5	39,6 \pm 1,1 ^{AB}	7,9 \pm 6,8	47,7 \pm 1,2 ^B	0,34 \pm 0,34
J8	37,3 \pm 2,1 ^A	12,4 \pm 3,9	48,4 \pm 0,4 ^B	0,09 \pm 0,02
J12	39,5 \pm 3,4 ^{AB}	15,4 \pm 7,0	48,5 \pm 0,7 ^B	0,37 \pm 0,26
J15	37,9 \pm 2,6 ^{AB}	10,5 \pm 4,5	48,1 \pm 1,3 ^B	0,30 \pm 0,16
B5	40,9 \pm 1,5 ^{AB}	8,9 \pm 3,5	47,9 \pm 0,8 ^B	0,31 \pm 0,40
B8	39,2 \pm 2,0 ^{AB}	2,5 \pm 1,8	47,5 \pm 0,5 ^{AB}	0,47 \pm 0,46
B12	38,0 \pm 1,4 ^{AB}	1,9 \pm 0,8	45,4 \pm 1,2 ^A	0,23 \pm 0,27
B15	40,3 \pm 1,6 ^{AB}	10,9 \pm 5,6	45,4 \pm 1,2 ^A	0,36 \pm 0,34
K	41,5 \pm 1,7 ^B	13,1 \pm 9,3	47,7 \pm 2,4 ^B	0,97 \pm 0,37

* - objaśnienia w tekście, ** ni – brak istotności statystycznej; odmiennymi inskrypcjami literowymi oznaczono wartości średnie różniące się statystycznie przy $p < 0,05$.

Stwierdzone w niniejszej pracy obniżenie biodostępności tokoferoli można tłumaczyć szybszym pasażem oraz ich wiązaniem sorpcyjnym i wydalaniem. Na efekt sorpcyjny poszczególnych frakcji błonnika wskazują doświadczenia *Nnanna* i *O'Neill* (5) prowadzone in vitro.

Dowiedziano także wpływu wysokiej zawartości błonnika pokarmowego w diecie, a szczególnie jego żelujących frakcji, na istotnie zmniejszenie wchłaniania tłuszczu z przewodu pokarmowego, co ma wpływ na biodostępność witamin rozpuszczalnych w tłuszczach (6). W badaniach *Zanutto* i wspólnie (7), wykazano obniżenie biodostępności witaminy A i β -karotenu przy 7%-owym dodatku pektyn cytrusowych do diety szczurów oraz *Rock'a* i *Swendseida* (8), którzy wykazali, że u osób spożywających posiłki zawierające 12 g pektyn cytrusowych oraz β -karoten w ilości 25 mg, wzrost stężenia β -karotenu w osoczu po posiłku był o ponad połowę mniejszy.

Publikacje dotyczące wpływu błonnika na biodostępności witaminy E dotyczą najczęściej jedynie α -tokoferolu. Przykładowo, badania *Kahlona* i wspólnie (9) dowiodły, iż zwiększenie konsumpcji błonnika z otrąb pszennych lub celulozy powoduje obniżenie dostępności tego homologu, natomiast *Schaus* i wspólnie (10) wykazali taki efekt przy 5% owym dodatku pektyn do paszy szczurów, co wiązało z większą lepkością treści jelitowej. Z kolei badania *Riedla* i wspólnie (11) wykazały mniejsze stężenie α -tokoferolu w surowicy krwi w grupie kobiet spożywających posiłki z dodatkiem alginianu (0,15g/kg masy ciała) w stosunku do grup otrzymujących porównywalne ilości pektyny, gumy guarowej, celulozy czy otrąb pszennych.

Uzyskane w wyniku niniejszych badań wyniki sugerują zasadność suplementacji diety w przypadku stosowania preparatów wysokobłonnikowych.

WNIOSKI

Wysoki dodatek do diety preparatów wysokobłonnikowych może obniżać biodostępność niektórych homologów tokoferoli, dlatego w przypadku długotrwałego stosowania takich preparatów pożądane jest stosowanie suplementacji witaminą E.

J. Anioła, G. Galiński, W. Olejniczak, J. Gawęcki

EFFECT OF APPLE AND BEET HIGH-FIBER PREPARATIONS ADDITION TO THE DIET OF RATS ON THE BIOAVAILABILITY OF VITAMIN E

Summary

The aim of this study was to determine the effect of addition level of two selected high-fiber formulations, apple and beet to the diet of rats, on the bioavailability of vitamin E, determined in balance studies and analysis of α -tocopherol liver content.

It has been shown that a high addition of high-fiber formulations to the diet may reduce the bioavailability of tocopherols, and that the beet preparation reduces bioavailability of vitamin E to a greater extent than the apple preparation.

PIŚMIENNICTWO

1. *Anioła J., Górecka D.*: Charakterystyka składu nowych mikronizowanych preparatów wysokobłonnikowych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2006; 39 (supl.): 357-359.- 2. *Anioła J., Górecka D., Gawęcki J.* i współpr.: Wpływ wysokiego stopnia rozdrobnienia na wybrane właściwości nowych preparatów wysokobłonnikowych w badaniach *in vitro*. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2006; 39 (supl.): 529-532.- 3. *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 (11): 1939-1951.- 4. *Katsanidis E., Addis P.B.*: Novel HPLC analysis of tocopherols, tocotrienols, and cholesterol in tissue. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999; 27 (11-12): 1137-1140.- 5. *Nnanna I.A., O'Neill K.L.*: *In Vitro* Binding of Vitamin E to Selected Dietary Fiber Sources. *J. Food Sci.*, 1992; 57 (3): 721-725.- 6. *Wolever T.M., Hegele R.A., Connelly P.W.* at al.: Long-term effect of soluble-fiber foods on postprandial fat metabolism in dyslipidemic subjects with apo E3 and apo E4 genotypes. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1997; 66 (3): 584-590.- 7. *Zanutto M.E., Jordao Jr A.A., Meirelles M.S.* at al.: Effect of citric pectin on beta-carotene bioavailability in rats. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 2002; 72 (4): 199-203.- 8. *Rock Ch.L., Swendseid M.E.*: Plasma fl-carotene response in humans after meals supplemented with dietary pectin. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1992; 55 (1): 96-99.- 9. *Kahlon T.S., Chow F.I., Hudson C.A.* at al.: Influence of Wheat Bran Particle Size on Vitamins A and E and Cholesterol in Rats. *Cereal Chem.*, 1989; 66 (2): 103-106.- 10. *Schaus E.E., de Lumen B.O., Chow F.I.* at al.: Bioavailability of Vitamin E in Rats Fed Graded Levels of Pectin. *J. Nutr.*, 1985; 115 (2): 263-270.
11. *Riedl J., Linseisen J., Hoffmann J.* at al.: Some dietary fibers reduce the absorption of carotenoids in women. *J. Nutr.*, 1999; 129: 2170-2176.

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

Agata Górska, Ewa Ostrowska - Ligęza, Magdalena Wirkowska

β - LAKTOGLOBULINA – POTENCJALNY NOŚNIK WITAMINY D*

Katedra Chemii Wydziału Nauk o Żywności
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Kierownik: dr hab. *E. Bialecka-Florjańczyk*, prof. SGGW

W artykule scharakteryzowano β -laktoglobulinę jako białko potencjalnie zdolne do wiązania rozpuszczalnej w tłuszczach witaminy D. Sekwencja aminokwasów w łańcuchu oraz wyniki badań struktury przestrzennej tego białka serwatkowego pozwalają na zakwalifikowanie β -laktoglobuliny do rodziny lipokalin i wskazują na zdolność do wiązania i transportowania niektórych lipofilowych składników odżywczych.

Hasła kluczowe: β -laktoglobulina, witamina D, nośnik.

Key words: β -lactoglobulin, vitamin D, carrier.

Białka serwatkowe są powszechnie cenione ze względu na swoje właściwości odżywcze i funkcjonalne. Stanowią 0,6-0,7% białka ogólnego, w tym około 75% przypada na albuminy, tj. α -laktoalbuminę (α -LA) i β -laktoglobulinę (β -LG) (1, 2). Odgrywają istotną rolę w żywieniu człowieka jako wyjątkowo bogate i zbilansowane źródło aminokwasów. Serwatka jest produktem ubocznym przy produkcji serów. Na terenie Unii Europejskiej powstaje około 60 mln ton serwatki rocznie, zawierającej około 470 tys. ton czystych białek serwatkowych. Obecnie, dzięki rozwojowi technologii, przy stosunkowo niskich kosztach, z serwatki izoluje się poszczególne białka. Wyizolowane związki wykorzystuje się na szeroką skalę w przemyśle spożywczym. Jako substancje biologicznie aktywne białka te stosowane są w produkcji żywności funkcjonalnej, wpływającej pozytywnie na organizm człowieka (3). Wzbudzają one coraz większe zainteresowanie wśród konsumentów, znacznie częściej sięgających po produkty, które wykazują właściwości prozdrowotne. Działania bioaktywne białek serwatkowych stwarzają możliwości włączenia α -LA i β -LG jako aktywnych składników w szerokiej grupie produktów spożywczych spełniających funkcję żywności funkcjonalnej (4).

Głównym białkiem frakcji serwatkowej mleka krowiego (3 g/l; 50% białek serwatkowych) jest β -laktoglobulina. Odgrywa ona istotną rolę antyoksydacyjną w mleku (5, 6) dzięki obecności aminokwasów siarkowych oraz możliwości syntezy glutationu. Wykazano, że istotną rolę w budowie β -LG odgrywają także wolne grupy tiolowe przy Cys-121, które prawdopodobnie uczestniczą w hamowaniu procesu oksydacji frakcji LDL cholesterolu. Równie istotną funkcją β -LG jest jej aktywność antykancerogenna. Obecne w dużej ilości aminokwasy siarkowe, przede wszystkim metionina, poprzez wpływ na proces metylacji komórek wykazują pozytywny wpływ na stabilność DNA (2).

* Projekt badawczy MNiSW nr NN312 068639 realizowany ze środków na naukę w latach 2010-2012.

Stwierdzono występowanie szeregu wariantów β -laktoglobuliny, z których w mleku krowim najczęściej spotyka się typ A i B. Struktura białka została dokładnie opisana (7). Bydłęca laktoglobulina jest składającym się ze 162 aminokwasów białkiem globularnym, posiadającym masę 18,4 kDa. Posiada w swej budowie 5 reszt siarkowych, z czego 4 są zaangażowane w tworzenie wewnątrzcząsteczkowych mostków disiarczkowych. W pH w zakresie 5,2-7,5 natywna β -laktoglobulina występuje w postaci dimerów dwóch identycznych podjednostek. Przy pH powyżej 7,5 laktoglobulina ulega nieodwracalnej denaturacji, natomiast w zakresie pH pomiędzy 3,5 a 5,2 odwracalnie tworzy formy tetramerów/oktamerów (8). Charakteryzuje się bardzo dużą stabilnością w środowisku kwaśnym. Jest odporna na działanie żołądkowych soków trawiennych, pozostaje nienaruszona po przejściu przez żołądek (9). W drugorzędowej strukturze β -LG udział struktury α -helikalnej wynosi około 16%, pofałdowanej kartki – ok. 54%, a nieuporządkowanego kłęбка – ok. 30%. Stwierdzono, że im mniejszy udział struktury pofałdowanej kartki i większy udział struktury α -helikalnej, tym mniejsza tendencja do łączenia się z hydrofobowymi cząsteczkami. Wszystkie zmiany w konformacji β -LG mogą istotnie wpływać na jej zdolność wiązania witamin.

Badania wskazują na podobną strukturę i konformację β -laktoglobuliny z ludzkim białkiem wiążącym retinol (RBP, ang. retinol binding protein). Białko wiążące retinol (RBP) jest białkiem globularnym należącym do rodziny lipokalin. Wspólną cechą tych białek jest ich struktura. Składają się z ośmiu β -łańcuchów. Ludzkie RBP jest białkiem kwaśnym, monomerycznym, o masie cząsteczkowej 21 kDa, ma 3 wewnątrzcząsteczkowe mostki disiarczkowe. RBP jest obecne w znaczących ilościach w wątrobie, nerkach i surowicy. RBP ma postać beczułki z jednej strony zamkniętej, a z drugiej otwartej, która w środku zawiera hydrofobową „kieszę” wiążącą retinol (10, 11). RBP spełnia w organizmie wiele fizjologicznych funkcji. Po pierwsze, umożliwia przepływ nierozpuszczalnego retinolu między tkankami, przede wszystkim z miejsc jego nagromadzenia do tkanek obwodowych. Białko to chroni witaminę A przed utlenieniem i masowym rozprowadzeniem tej aktywnej cząsteczki. Za pomocą syntezy RBP jest regulowane uwalnianie retinolu z wątroby. RBP spełnia także ważną rolę w przenoszeniu witaminy A z krążenia matki do krążenia płodu. Podobna budowa przestrzenna upodabniająca β -laktoglobulinę do białka wiążącego retinol pozwala przypuszczać, że β -LG może brać czynny udział w transportowaniu witaminy A, zwiększając jej wchłanianie w jelicie cienkim. Wykazano, że β -laktoglobulina posiada zdolność wiązania hydrofobowych związków, tj. retinol, kwasy tłuszczowe, witaminy rozpuszczalne w tłuszczach, cholesterol itp. (12). Umożliwia to wykorzystanie jej do transportowania wybranych składników odżywczych w układach pozbawionych tłuszczu. Wzbogacanie żywności w witaminę D, ze względu na fakt jej rozpuszczania w tłuszczach, odbywa się zazwyczaj z zastosowaniem nośników będących pochodnymi tłuszczów. Jednak rosnąca świadomość żywieniowa i zdrowotna konsumentów powoduje, że coraz częściej sięgają oni po produkty z obniżoną zawartością tłuszczu lub beztłuszczowe. Równocześnie oczekują, że spożywana przez nich żywność będzie wzbogacona w składniki odżywcze. Sprostanie takim

wymaganiom stanowi niełatwe wyzwanie dla przemysłu spożywczego poszukiwania nowych możliwości wzbogacania żywności w witaminę D.

Określenie „witamina D” obejmuje grupę związków z grupy steroidów wykazujących działanie przeciwkrzywicze; spośród nich największe znaczenie żywieniowe dla człowieka ma witamina D₂ (ergokalcyferol) i witamina D₃ (cholekalcyferol). Witaminy D₂ i D₃ są substancjami wyjściowymi, które w organizmie ulegają cyklowi przemian prowadzącemu do wytworzenia czynnych metabolitów. Witamina D₃ (cholekalcyferol) pochodzi z dwóch źródeł. Znaczna jej część znajduje się w pokarmach (ryby, jaja, wątroba zwierzęca, produkty mleczne) i ulega wchłanianiu w przewodzie pokarmowym, a część powstaje pod wpływem promieniowania ultrafioletowego działającego na znajdujący się w skórze dehydrocholesterol. Witamina D₂ (ergokalcyferol) dostarczana jest do organizmu tylko doustnie w spożywanych pokarmach roślinnych oraz grzybach. Witamina D jest odporna na działanie podwyższonej temperatury. Jest również stosunkowo trwała w środowisku zasadowym, natomiast wykazuje wrażliwość na działanie kwasów, promieniowania ultrafioletowego, tlenu (13). Roztwory tłuszczowe stabilizują witaminę D. W środowisku beztłuszczowym w obecności tlenu obie formy witaminy D ulegają łatwo autooksydacji. W Polsce, gdzie produkcja witaminy D w skórze jest mniejsza niż w krajach południowych, trudno jest osiągnąć zalecane spożycie witaminy D w pokarmach. Szczególnie zauważalne jest to w obecnych czasach, w których szczególną uwagę poświęca się znacznemu obniżeniu podaży tłuszczu w diecie. Propagowane przez żywieniowców, a motywowane względami zdrowotnymi, dążenie do obniżenia spożycia tłuszczu, znajduje wyraz w pracach naukowców nad opracowaniem technologii produktów żywnościowych o ograniczonej ilości tłuszczu, aż do całkowitej jego eliminacji. Należy jednak pamiętać, że konsekwencją stosowania diety o obniżonej zawartości tłuszczu może być niebezpieczne dla prawidłowego funkcjonowania organizmu ograniczenie spożycia witamin rozpuszczalnych w tłuszczach (14). Stanowi to niełatwe wyzwanie dla przemysłu spożywczego poszukiwania nowych możliwości wzbogacania żywności o obniżonej zawartości tłuszczu (np. mleka w proszku) w witaminę D. Opisane właściwości β -laktoglobuliny stwarzają możliwości wykorzystanie jej do wiązania i transportowania niektórych składników odżywczych, tj. np. rozpuszczalnych w tłuszczach witaminy D. Należy jednak pamiętać, że nadmiar białka w diecie, zwłaszcza bogatego w aminokwasy siarkowe, może przyczynić się do wydalania wapnia z moczem, szczególnie u osób w wieku podeszłym.

Badania naukowe oraz ciągły postęp technologiczny powodują, że białka serwatkowe są w coraz większym stopniu wykorzystywane jako składniki żywności funkcjonalnej i nutraceutyków. Większa świadomość konsumentów, podyktowana troską o własne zdrowie i samopoczucie stanowi niełatwe wyzwanie dla naukowców do ciągłych badań nad biologicznymi funkcjami białek serwatkowych.

Zdolność β -laktoglobuliny do wiązania witaminy D stwarza szerokie możliwości wykorzystania tego typu połączeń do wzbogacania produktów o obniżonej zawartości tłuszczu lub beztłuszczowych w spełniającą istotną funkcję w

organizmie witaminę D oraz cechujące się wysokimi właściwościami odżywczymi i funkcjonalnymi białka serwatkowe.

A. Górską, E. Ostrowska - Ligęza, M. Wirkowska

β -LACTOGLOBULIN – A POTENTIAL CARRIER FOR VITAMIN D

Summary

In the study β -lactoglobulin as a potential carrier for vitamin D was characterized. The amino acids sequence and the results of the whey protein 3-dimensional structure suggest that it posses the ability to bind and transport a variety of ligands, many of which are lipophilic nutrients. It's particularly important nowadays, when a lot of attention is paid to reducing the amount of fat in the diet, which can result in fat soluble vitamin D deficiency. It is advisable to search for vitamin D carriers other than fat. The binding properties of β -lactoglobulin can be implemented to deliver vitamin D without the presence of fat with which it normally associates.

PIŚMIENNICTWO

1. *Bordin G., Cordeiro Raposo F., De la Calle B., Rodriguez A. R.*: Identification and quantification of major bovine milk proteins by liquid chromatography. *J. Chrom. A*, 2001; 928 (1): 63.- 2. *Chatterton D. E. W., Smithers G., Roupas P., Brodkorb A.*: Bioactivity of β -lactoglobulin and α -lactalbumin. Technological implications for processing. *Int. Dairy J.*, 2006; 16: 1229.- 3. *Świdorski F., Waszkiewicz-Robak B.*: Bioaktywne peptydy i białka jako składniki żywności funkcjonalnej i dietetycznej. XXXI Sesja Naukowa Komitetu Technologii i Chemii Żywności PAN, Poznań 2000, s. 95.- 4. *McIntosh G. H., Royle P. J., Le Leu R. K., Regester G. O., Johnson M. A., Grinstead R. L., Kenward R. S., Smithers G. W.*: Whey proteins as functional food ingredients. *Int. Dairy J.*, 1998; 8: 425.- 5. *Elias R. J., McClements D. J., Decker E. A.*: Antioxidant activity of cysteine, tryptophan, and methionine residues in continuous phase β -lactoglobulin in oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.*, 2005; 53: 10248.- 6. *Hernández-Ledesma B., Dávalos A., Bartolomé B., Amigo L.*: Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from α -lactalbumin and β -lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLC-MS/MS. *J. Agric. Food Chem.*, 2005; 53: 588.- 7. *Strohmaier W.*: Chromatographic fractionation of whey proteins. *Bulletin IDF*, 2004; 389: 29.- 8. *Kontopidis G., Holt C., and Sawyer L.*: Invited review: β -lactoglobulin: Binding properties, structure, and function, *J. Dairy Sci.*, 2004; 87: 785.- 9. *Yvon, M., Van Hille I., Pellisier J.P.*: In vivo milk digestionbin the calf abomasum. II. Milk and whey proteolysis, *Reprod. Nutr. Dev.*, 1984; 24: 835.- 10. *Blaner W.S.*: Retinol binding protein: the serum transport protein for vitamin A. *Endocrinol. Rev.*, 1989; 10: 308.
11. *Sundaram M., Aalten D., Findlay J., Sivaprasadarao A.*: The transfer of transthyretin and receptor-binding properties from the plasma retinol-binding protein to the epididymal retinoic acid-binding protein. *Biochem. J.*, 2002; 362: 265.- 12. *Perez Dolores M., Calvo M.*: Interaction of β -lactoglobulin with retinol and fatty acids and its role as a possible biological function for this protein: A review. *J. Dairy Sci.*, 1995; 78: 978.- 13. *Petriz E, Trithart T, Wintersteiger R.*: Determination of phylloquinone and cholecalciferol encapsulated in granulates formed by melt extrusion. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 2006; 69 (1-2): 101.- 14. *Janssen H., Samson M. M., Verhaar H.*: Vitamin D deficiency, muscle function, and falls in elderly people. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2002; 75: 611.

Adres: 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159c.

*Renata Markiewicz-Żukowska¹⁾, Sylwia K. Naliwajko¹⁾, Emilia Bartosiuk²⁾,
Elżbieta Sawicka²⁾, Wioleta J. Omeljaniuk¹⁾, Maria H. Borawska¹⁾*

ZAWARTOŚĆ WITAMIN W DIETACH KOBIEŃ Z CHOROBA HASHIMOTO

¹⁾Zakład Bromatologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
Kierownik: prof. dr hab. *M. H. Borawska*

²⁾SKN przy Zakładzie Bromatologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Celem badań była ocena zawartości witamin w dietach kobiet chorych na limfocytarne zapalenie tarczycy typu Hashimoto. Badania ankietowe przeprowadzono wśród 96 kobiet z rozpoznaną chorobą Hashimoto. Obliczono zawartość witamin: A, E, D, tiaminy, ryboflawiny, niacyny, pirydoksyny, B₁₂, folianów i witaminy C w jadłospisach kobiet i porównano do zalecanych norm. Większość analizowanych diet wymaga modyfikacji lub zastosowania suplementacji preparatami witaminowymi.

Hasła kluczowe: choroba *Hashimoto*, dieta, witaminy.

Key words: *Hashimoto* disease, diet, vitamins.

Zachowanie prawidłowej funkcji tarczycy wymaga dostarczenia z pożywieniem odpowiednich ilości składników pokarmowych, w tym witamin. Przewlekłe autoimmunologiczne zapalenie tarczycy, określane jest mianem zapalenia limfocytarnego. Choroba ta związana jest z występowaniem przeciwciał przeciwko tyreoperoksydazie (anty-TPO) i tyreoglobulinie (anty-Tg) oraz nacieków limfocytarnych w tarczycy. Cytotoksyczne limfocyty T niszczą komórki pęcherzykowe tarczycy (1, 2).

Witaminy pośrednio lub bezpośrednio wpływają na funkcjonowanie gruczołu tarczowego. Witamina D, jako istotny czynnik żywieniowy, bierze udział zarówno w prawidłowej funkcji tarczycy, jak również w patogenezie schorzeń tego gruczołu (3, 4). Niacyna uczestniczy w syntezie tyroksyny i stosowana jest w terapii schorzeń tarczycy (5). Nadal poszukuje się związku witaminy B₁₂ z chorobami tarczycy (6). Do tej pory rola innych witamin oraz sposób żywienia pacjentów z chorobami tarczycy jest rzadko poruszany problemem przez innych autorów.

Podjęte badania miały na celu ocenę zawartości witamin w dietach kobiet chorych na limfocytarne zapalenie tarczycy typu *Hashimoto*.

MATERIAŁ I METODY

Kwestionariusz ankiety dotyczący oceny spożycia produktów i potraw w oparciu o 24-godzinny wywiad żywieniowy przeprowadzono wśród 96 kobiet z rozpoznaną chorobą *Hashimoto*. Pacjentki (w wieku od 20-65 lat, średnia $46,7 \pm 12,5$ lat) były pod opieką poradni endokrynologicznych z terenu Białegostoku, Zambrowa i Kętrzyna i wyraziły zgodę na udział w badaniach. W oparciu o dokonane pomiary antropometryczne ciała obliczono wskaźnik masy ciała BMI (średnia BMI: $26,78 \pm 5,05 \text{ kg/m}^2$).

Na podstawie „Albumu fotografii produktów i potraw” (7) oszacowano wielkość spożytych porcji. Zawartość witamin: A, E, D, tiaminy, ryboflawiny, niacyny, pirydoksyny, B₁₂ oraz folianów i witaminy C w jadłospisach kobiet obliczono korzystając z programu Dieta 4.0, opracowanego przez Instytut Żywności i Żywienia w Warszawie w oparciu o najnowsze „Tabele składu i wartości odżywczej żywności” (8). Uzyskane wyniki porównano z dziennymi normami dla poszczególnych witamin w zależności od ustalonych norm na poziomie wystarczającego spożycia (AI) (w przypadku witaminy E i D) lub na poziomie średniego zapotrzebowania grupy (EAR) (dla pozostałych witamin) (9). Metodę oceny spożycia zwyczajowego z zastosowaniem punktu odcięcia (9) zastosowano do oceny częstości występowania nieodpowiedniego spożycia witaminy A, tiaminy, ryboflawiny, niacyny, pirydoksyny, B₁₂ oraz folianów i witaminy C w badanej grupie kobiet. Analizując średnie spożycie witaminy E i D w porównaniu do norm zapotrzebowania na poziomie wystarczającego spożycia dla tych witamin oceniono prawdopodobieństwo występowania niedoborowego spożycia (9).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Zawartość witamin w dietach kobiet z chorobą *Hashimoto* zestawiono w tabeli I. Odsetek osób o niedostatecznym spożyciu oraz dostatecznym spożyciu witamin w grupie pacjentek z chorobą *Hashimoto* przedstawiono w tabeli II.

Średnia zawartość witaminy A w całodziennych racjach pokarmowych (CRP) wynosiła 925,32 µg, przekraczając poziom średniego zapotrzebowania (EAR) (9), pomimo tego że wśród 30,2% kobiet wykazano niedostateczne jej spożycie. Natomiast średnie spożycie witaminy E (6,16 mg) i D (2,09 µg) wśród pacjentek z chorobą *Hashimoto* było niewystarczające, w odniesieniu do poziomu AI (9). Jedynie u 15,6% i 4,2% kobiet wykazano dostateczne spożycie tych witamin. Niedobory witaminy D częściej występują u osób chorych na *Hashimoto* niż u osób zdrowych. Wyniki innych badaczy ukazują, że niedobory witaminy D skorelowane są z obecnością przeciwciał przeciwarczycowych oraz z nieprawidłową czynnością tarczycy. Sugeruje to udział witaminy D w patogenezie chorób tarczycy (3,4).

Tabela I. Witaminy w dietach pacjentek z chorobą Hashimoto.

Table I. Vitamins in diets of patients with Hashimoto disease.

Witaminy	Średnia ± SD*	Min.-Max.	Norma		
			Rodzaj	Wiek	j.m./dobę
A [µg]	925,32 ± 624,7	44,62 – 3052,88	EAR	19-65	500,0
E [mg]	6,16 ± 4,0	1,68 – 31,20	AI	19-65	8,0
D [µg]	2,09 ± 3,4	0,03 – 31,43	AI	19-50 51-65	5,0 10,0
Tiamina [mg]	1,36 ± 0,6	0,21 – 3,04	EAR	19-65	0,9
Ryboflawina [mg]	1,31 ± 0,5	0,43 – 2,84	EAR	19-65	0,9
Niacyna [mg]	14,93 ± 7,2	2,57 – 56,32	EAR	19-65	11,0
Pirydoksyna [mg]	1,68 ± 0,64	0,43 – 4,10	EAR	19-50 51-65	1,1 1,3
B ₁₂ [µg]	2,64 ± 2,3	0,15 – 19,23	EAR	19-65	2,0
Foliany [µg]	204,94 ± 73,2	75,83 – 470,40	EAR	19-65	320,0
C [mg]	69,00 ± 51,2	9,25 – 288,04	EAR	19-65	60,0

*SD – odchylenie standardowe

Tabela II. Odsetek osób o niedostatecznym spożyciu oraz dostatecznym spożyciu witamin w grupie pacjentek z chorobą Hashimoto.

Table II. The percentage of people with inadequate intake and sufficient intake of vitamins in the group of patients with Hashimoto disease.

Witaminy	Norma		Niedostateczne spożycie*		Dostateczne spożycie**	
	Rodzaj	Mediana	liczba osób	%	liczba osób	%
A [µg]	EAR	500,0	29	30,2 %	-	-
E [mg]	AI	8,0	-	-	15	15,6 %
D [µg]	AI	5,0	-	-	4	4,2 %
Tiamina [mg]	EAR	0,9	25	26,0 %	-	-
Ryboflawina [mg]	EAR	0,9	22	22,9 %	-	-
Niacyna [mg]	EAR	11,0	29	30,2 %	-	-
Pirydoksyna [mg]	EAR	1,1	24	25,0 %	-	-
B ₁₂ [µg]	EAR	2,0	40	41,7 %	-	-
Foliany [µg]	EAR	320,0	86	89,6 %	-	-
C [mg]	EAR	60,0	56	58,3 %	-	-

* Odsetek osób z niedostatecznym spożyciem oceniony normą na poziomie EAR;

** Odsetek osób z dostatecznym spożyciem oceniony normą na poziomie AI.

Witaminy z grupy B są niezbędne do funkcjonowania organizmu. Niacyna bierze udział w syntezie tyroksyny (10). Powszechnie stosowana jest w terapii wielu schorzeń tarczycy, m.in. leczeniu choroby *Gravesa-Basedowa* i wola guzowatego, przebiegających z nadczynnością tarczycy oraz wola obojętnego z objawami związanymi z powiększeniem gruczołu tarczowego, a także w leczeniu zróżnicowanych nowotworów (2). Witamina B₆ pomaga przekonwertować jod w hormon tarczycy, a jej brak może znacznie pogorszyć jej niedoczynność. Średnie spożycie witamin B₁, B₂, niacyny oraz B₆ było wyższe w porównaniu do średniego

zapotrzebowania grupy (EAR) (9). Natomiast niedostateczne spożycie tych witamin było zbliżone i było w zakresie od 22,9 do 30,2% badanych osób. Nieco wyższy odsetek osób z niedostatecznym spożyciem (41,7%) w grupie badanych kobiet wykazano w przypadku witaminy B₁₂. Niedobory tej witaminy, wśród osób z limfocytarnym zapaleniem tarczycy, zauważył *Ness-Abramof* i współpr. (6). Chorobie *Hashimoto* często towarzyszą inne dolegliwości wynikające z autoagresji, takie jak anemia złośliwa, zwana megaloblastyczną, w której kluczową rolę odgrywa witamina B₁₂ (10). Niedobory witaminy B₁₂ najczęściej występują u osób w starszym wieku, bądź u osób z zaburzeniami wchłaniania kobalaminy z pożywienia (11) oraz u osób stosujących dietę wegetariańską lub z zaburzeniami flory bakteryjnej jelit (12). Spożycie folianów w dietach kobiet chorych na *Hashimoto* wynosiło średnio 204,94 µg i było niewystarczające, w porównaniu do normy EAR wynoszącej 320 µg/dobę (9). Niedobór folianów w niniejszej pracy dotyczył 89,6% osób w badanej grupie kobiet. Podobne nieprawidłowości stwierdzono w badaniach epidemiologicznych populacji Polski, w których wykazano utajony niedobór kwasu foliowego w większości społeczeństwa (u ok. 80-90%), gdzie spożycie wynosiło około 258 µg u mężczyzn i 211 µg u kobiet (13). Średnia dobowo podaż witaminy C wraz z dietą (69 mg) w grupie kobiet z chorobą *Hashimoto* była prawidłowa w odniesieniu do poziomu EAR (60 mg) (9), jednak u ponad połowy badanych osób (58,3%) odnotowano niedostateczne jej spożycie. Wykazano, że witamina ta zwiększa absorpcję doustnej lewotyroksyny oraz jako istotny antyoksydant wywiera działanie antykancerogenne, antyhistaminowe oraz immunomodulujące (14).

WNIOSKI

1. Diety kobiet chorych na *Hashimoto*:
 - a. charakteryzują się niedostateczną zawartością folianów;
 - b. wymagają zwiększenia ilości witaminy E i D.
2. Większość analizowanych diet kobiet z chorobą *Hashimoto* wymaga modyfikacji lub zastosowania suplementacji preparatami witaminowymi.

R. Markiewicz-Żukowska, S. K. Naliwajko, E. Bartosiuk, E. Sawicka,
W. J. Omeljaniuk, M. H. Borawska

THE CONTENT OF VITAMINS IN DIETS OF PATIENTS WITH HASHIMOTO DISEASE

Summary

The aim of this study was to estimate the content of vitamins in diets of patients with *Hashimoto* disease. Questionnaire survey was performed in 96 women with *Hashimoto* disease. The content of vitamins: A, E, D, thiamine, riboflavin, niacin, pyridoxine, B₁₂, folate and vitamin C were calculated and compared to the recommended values. Change of nutrition and supplementation is recommended for those patients.

PIŚMIENNICTWO

1. *Januszewicz W., Kokot F.* (red.): Interna. Tom I-III. Wyd. PZWL, Warszawa, 2005. – 2. *Gerd H.*: Medycyna wewnętrzna. Repetytorium dla studentów medycyny i lekarzy. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa, 2008. – 3. *Kivity S., Agmon-Levin N., Zisappl M., Shapira Y., Nagy E.V., Dankó K., Szekanez Z., Langevitz P., Shoenfeld Y.*: Vitamin D and autoimmune thyroid diseases. *Cell. Mol. Immunol.* 2011; 8 (3): 243-247. – 4. *Tuchendler D., Bolanowski M.*: Rola osteoprotegeryny i witaminy D w patologii tarczycy. *Endokrynol. Pol.* 2009; 60 (6): 470-475. – 5. *Mojsak M.N., Rogowski F.*: Użyteczność nikotynamidu w radiojodoterapii chorych z wolem nadczynnym oraz dużym wolem normocycznym. *Pol. Merk. Lek.*, 2010, XXIX, 169: 54-57. – 6. *Ness-Abramof R., Nabriski D.A., Braverman L.E., Shilo L., Weiss E., Reshef T., Shapiro M.S., Shenkman L.*: Prevalence and evaluation of B₁₂ deficiency in patients with autoimmune thyroid disease. *Am. J. Med. Sci.* 2006; 332 (3): 119-122. – 7. *Szponar L., Wolnicka K., Rychlik E.*: Album fotografii produktów i potraw. IŻŻ, Warszawa, 2000. – 8. *Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K.*: Tabele składu i wartości odżywczej żywności. PZWL, Warszawa 2005. – 9. *Jarosz M., Bulhak-Jachymczyk B.*: Normy żywienia człowieka; podstawy prewencji otyłości i chorób niezakaźnych. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa, 2008. – 10. *Wartanowicz M.*: Witaminy. W: *Gawęcki J., Hryniewiecki L.*: Żywnienie człowieka. Podstawy nauki o żywieniu. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2008: 241-280.
11. *Allen L.H.*: How common is vitamin B₁₂ deficiency? *Am. J. Clin. Nutr.* 2009; 89 (2): 693S-696S. – 12. *Allen L.H.*: Causes of vitamin B₁₂ and folate deficiency. *Food Nutr. Bull.* 2008; 29 (2 Suppl): S20-S34; discussion S35-37. – 13. *Waśkiewicz A., Sygnowska E., Broda G.*: Dietary intake of vitamins B₆, B₁₂ and folate in relation to homocysteine serum concentration in the adult Polish population – WOBASZ project. *Kardiol. Pol.* 2010; 68(3): 275-284. – 14. The Endocrine Society's 90th Annual Meeting: Absorption of thyroid drug levothyroxine improves with vitamin C. San Francisco 2008.

Adres: 15-089 Białystok, ul. Kilińskiego 1.

Sylvia K. Naliwajko¹⁾, Renata Markiewicz-Żukowska¹⁾, Elżbieta Sawicka²⁾,
Emilia Bartosiuk²⁾, Wioleta J. Omeljaniuk¹⁾, Maria H. Borawska¹⁾

SKŁADNIKI MINERALNE W DIECIE PACJENTEK Z CHOROBAŁ HASHIMOTO

¹⁾Zakład Bromatologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
Kierownik: prof. dr hab. M. H. Borawska

²⁾SKN przy Zakładzie Bromatologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Celem pracy była ocena sposobu żywienia pacjentek z chorobą Hashimoto pod względem zawartości składników mineralnych. Wśród 96 pacjentek poradni endokrynologicznych z terenu Białegostoku, Kętrzyna i Zambrowa przeprowadzono 24-godzinny wywiad żywieniowy i przy pomocy programu komputerowego Dieta 4.0 oceniono spożycie makroelementów: sodu, potasu, wapnia, fosforu, magnezu oraz mikroelementów: cynku, miedzi, manganu i jodu. Na podstawie analizy danych żywieniowych stwierdzono, że prawdopodobieństwo występowania niedoborowego spożycia sodu oraz manganu w grupie kobiet z zapaleniem tarczycy typu Hashimoto jest małe, natomiast pożądane jest zwiększenie spożycia potasu oraz wapnia, natomiast niedostateczne spożycie magnezu dotyczy większości (61,5%) badanych kobiet. Na podstawie oceny odsetka osób o zbyt niskim spożyciu należy stwierdzić, że częstość występowania niedostatecznego spożycia badanych mikroelementów: miedzi, cynku i jodu w grupie chorych wynosi 18,8-38,5%.

Hasła kluczowe: choroba *Hashimoto*, dieta, makroelementy, mikroelementy.
Key words: *Hashimoto* disease, diet, macro elements, microelements.

Choroba *Hashimoto* to przewlekłe limfocytarne zapalenie tarczycy. Jest chorobą autoimmunologiczną, u której podłoża leżą predyspozycje genetyczne oraz czynniki środowiskowe. Dane epidemiologiczne wskazują, że choroby tarczycy częściej dotyczą płci żeńskiej; z raportu GUS z 2006 roku wynika, że w Polsce kobiety chorują około 8,5 razy częściej niż mężczyźni (1). Choroba *Hashimoto* występuje we wszystkich grupach wiekowych, jednak najczęściej między 45 a 65 rokiem życia i podobnie jak inne schorzenia tarczycy znacznie częściej występuje u kobiet niż u mężczyzn (2, 3). Coraz większym problemem jest występowanie choroby *Hashimoto* wśród dzieci w wieku szkolnym (4).

Do zachowania prawidłowej funkcji tarczycy niezbędne są składniki pokarmowe, w tym makro- i mikroelementy. W literaturze naukowej podkreślana jest rola jodu i selenu, jako czynników żywieniowych biorących udział zarówno w prawidłowej funkcji tarczycy jak również w patogenezie schorzeń tego gruczołu (5-7). Brakuje

jednak danych dotyczących sposobu odżywiania się pacjentów z chorobami autoimmunologicznymi tarczycy oraz pobrania wraz z dietą składników mineralnych.

Celem pracy była ocena sposobu żywienia pacjentek, pod względem zawartości składników mineralnych, w przebiegu zapalenia tarczycy typu *Hashimoto*.

MATERIAŁ I METODY

Badania ankietowe przeprowadzono wśród 96 kobiet z rozpoznaną chorobą *Hashimoto*, które były pacjentkami poradni endokrynologicznych z terenu Białegostoku, Zambrowa i Kętrzyna i wyraziły zgodę na udział w badaniach. Były to kobiety w wieku od 20 do 65 lat (średnia wieku $46,7 \pm 12,5$). W oparciu o dokonane pomiary antropometryczne wzrostu i masy ciała obliczono wskaźnik masy ciała BMI (średnia BMI: $26,78 \pm 5,05 \text{ kg/m}^2$).

Ankieta dotyczyła oceny spożycia produktów i potraw w oparciu o 24-godzinny wywiad żywieniowy. Wielkość spożytych porcji oszacowano na podstawie „Albumu fotografii produktów i potraw” (8). Zawartość makroelementów: sodu, potasu, wapnia, fosforu, magnezu oraz mikroelementów: żelaza, cynku, miedzi, manganu i jodu w jadłospisach kobiet obliczono korzystając z programu Dieta 4.0, opracowanego przez Instytut Żywności i Żywienia w Warszawie w oparciu o najnowsze „Tabele składu i wartości odżywczej żywności” (9). Uzyskane wyniki porównano z dziennymi normami dla poszczególnych składników mineralnych w zależności od ustalonych norm na poziomie wystarczającego spożycia (AI) (w przypadku sodu, potasu i wapnia) lub na poziomie średniego zapotrzebowania grupy (EAR) (dla pozostałych składników mineralnych) (10). W przypadku manganu, ze względu na brak określonej polskiej normy przyjęto zalecenia Narodowej Akademii Nauk Stanów Zjednoczonych dotyczące wystarczającego spożycia (AI) manganu (11). Metodę oceny spożycia zwyczajowego z zastosowaniem punktu odcięcia (10) zastosowano do oceny częstości występowania nieodpowiedniego spożycia fosforu, magnezu, cynku, miedzi i jodu w grupie badanej. Analizując średnie spożycie sodu, potasu, wapnia i manganu w porównaniu do norm zapotrzebowania na poziomie wystarczającego spożycia dla tych składników mineralnych oceniono prawdopodobieństwo występowania niedoborowego spożycia (10).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Zawartość makroelementów w diecie kobiet z chorobą *Hashimoto* zestawiono w tabeli I.

Tabela 1. Makroelementy w diecie pacjentek z chorobą *Hashimoto* w porównaniu do norm zapotrzebowania: wystarczającego spożycia (AI) lub średniego zapotrzebowania grupy (EAR)

Table 1. Macroelements in diet of patients with *Hashimoto* disease compared with intake recommendation: adequate intake (AI) or estimated average requirements (EAR)

L.p.	Składniki mineralne	Średnia \pm SD*	Min - Max	Norma		
				Rodzaj	Wiek	[mg/dobę]
1.	Sód [mg/dobę]	2914,73 \pm 1117,2	643,8 – 6472,3	AI	19-50 51-65	1500 1400
2.	Potas [mg/dobę]	2884,13 \pm 1043,0	503,3 – 5788,6	AI	19-65	4700
3.	Wapń [mg/dobę]	501,19 \pm 231,4	91,6 – 1024,9	AI	19-50 51-65	1000 1300
4.	Fosfor [mg/dobę]	1059,16 \pm 385,2	347,1 – 2263,3	EAR	19-65	580
5.	Magnez [mg/dobę]	261,17 \pm 104,9	73,2 – 664,4	EAR	19-30 31-65	255 265

*SD – odchylenie standardowe.

Średnie spożycie sodu w grupie pacjentek z chorobą *Hashimoto* było na poziomie 2914,73 \pm 1117,2 mg/dobę i znacznie przekraczało normę wystarczającego spożycia (1500 mg/dobę dla kobiet w wieku 19-50 lat; 1400 mg/dobę dla kobiet w wieku 51-65 lat) (10). Na tej podstawie, zgodnie z zaleceniami najnowszych norm żywienia (10) należy stwierdzić, że prawdopodobieństwo występowania niedoborowego spożycia sodu w tej grupie badanych jest małe. Odwrotną tendencję zaobserwowano w przypadku potasu i wapnia. Średnie spożycie tych składników było znacznie niższe od norm wystarczającego spożycia (tab. I), ponadto analiza odsetka osób dostatecznie spożywających potas (7,3%) i wapń (1,0%) (tab. II) wskazuje, że konieczne jest zwiększenie spożycia obu tych makroelementów w grupie kobiet badanych. Konieczność zwiększenia podaży wapnia w diecie Polek dotyczy zarówno populacji zdrowej, jak i z występującymi schorzeniami. W badaniach *Waśkiewicz i Sygnowskiej* (15) na podstawie analizy racji pokarmowych 3529 kobiet stwierdzono, że średnia zawartość wapnia w tych racjach wynosi 474 mg. Dotychczas w niewielu publikacjach naukowych poruszany jest problem niewłaściwego żywienia w powiązaniu z rozwojem lub przebiegiem choroby *Hashimoto* (12). Na podstawie danych dotyczących spożycia sodu, potasu i wapnia w Polsce należy stwierdzić, że w populacji zdrowej występują podobne zaburzenia. Pobranie sodu oraz potasu wraz z dietą kobiet zdrowych wynosi, podobnie jak w niniejszych badaniach, około 3 g dobę, w obu przypadkach jest to spożycie nieprawidłowe (13, 14). Średnie spożycie magnezu w badanej grupie (261,17 \pm 104,9) było bardzo zbliżone do normy EAR (255-265 mg/dobę), jednak analiza odsetka osób o niedostatecznym spożyciu wykazała, że częstość występowania zbyt niskiego pobrania magnezu z dietą dotyczy ponad połowy (61,5%) osób. Średnie pobranie wraz z dietą cynku (8,60 \pm 2,9 mg/dobę) i miedzi (1,02 \pm 0,4 mg/dobę) w badanej grupie było nieco wyższe od poziomów normy EAR (odpowiednio 6,8 mg/dobę oraz 0,7 mg/dobę), jednak niedostateczne pobranie tych składników stwierdzono u 27,1 % osób w przypadku cynku i 18,8% osób dla miedzi (tab. III i IV).

Tabela II. Odsetek osób o niedostatecznym spożyciu fosforu i magnezu oraz dostatecznym spożyciu sodu, potasu i wapnia w grupie pacjentek z chorobą *Hashimoto*

Table II. The percentage of people with inadequate intake of phosphorus and magnesium and sufficient intake of sodium, potassium and calcium in the group of patients with *Hashimoto* disease

L.p.	Składniki mineralne	Norma		Niedostateczne spożycie*		Dostateczne spożycie**	
		Rodzaj	Mediana [mg/dobę]	liczba osób	%	liczba osób	%
1.	Sód	AI	1500	-	-	86	89,6
2.	Potas	AI	4700	-	-	7	7,3
3.	Wapń	AI	1000	-	-	1	1,0
4.	Fosfor	EAR	580	7	7,3	-	-
5.	Magnez	EAR	265	59	61,5	-	-

* - odsetek osób o niedostatecznym spożyciu został oceniony dla składników, które mają określoną normę na poziomie EAR; ** - odsetek osób o dostatecznym spożyciu został oceniony dla składników, które mają określoną normę na poziomie AI.

Tabela III. Mikroelementy w diecie pacjentek z chorobą *Hashimoto* w porównaniu do norm średniego zapotrzebowania grupy (EAR)

Table III. Microelements in diet of patients with *Hashimoto* disease compared with estimated average requirements (EAR)

L.p.	Składniki mineralne	Średnia ± SD*	Min-Max	Norma		
				Rodzaj	Wiek	[mg/dobę]
1.	Cynk [mg/dobę]	8,60 ± 2,9	2,32 – 15,96	EAR	19-65	6,8
2.	Miedź [mg/dobę]	1,02 ± 0,4	0,30 – 2,18	EAR	19-65	0,7
3.	Mangan [mg/dobę]	3,94 ± 2,0	0,65 – 14,33	AI	19-65	1,8
4.	Jod [mg/dobę]	0,105 ± 0,05	0,007 – 0,311	EAR	19-65	0,095

*SD – odchylenie standardowe.

U pacjentów z niedoczynnością tarczycy istotne jest monitorowanie pobrania cynku z diety, ze względu na wpływ hormonów tarczycy na metabolizm cynku (16). W badaniach *Ertek* i współpr. podkreślana jest rola cynku w schorzeniach tarczycy, ponieważ wykazano, że poziom cynku w surowicy istotnie koreluje z objętością tarczycy u pacjentów z wolem oraz z poziomem autooprzeciwciał w autoimmunologicznych schorzeniach tarczycy (17). Mangan wpływa na funkcjonowanie gruczołu tarczowego bezpośrednio poprzez wpływ na wydzielanie hormonów tarczycy oraz pośrednio poprzez zmiany w układzie dopaminergicznym kontrolującym tarczycę i wydzielanie jej hormonów (18). W niniejszym badaniu średnie spożycie manganu w grupie badanej oceniono na poziomie 3,94±2,0 mg/dobę, podczas gdy norma na poziomie wystarczającego spożycia dla kobiet w wieku 19–65 lat wynosi 1,8 mg/dobę, sugeruje to, niskie ryzyko wystąpienia niedoborów manganu w analizowanej grupie. Średnie spożycie jodu w ocenianej grupie (0,105±0,05 mg/dobę) było bardzo zbliżone do normy na poziomie EAR (0,095 mg/dobę), jednak u 38,5 % badanych osób zidentyfikowano niedostateczne

spożycie. Należy jednak zaznaczyć, że badania epidemiologiczne oraz prowadzone na modelu zwierzęcym wskazują, że nadmierne spożycie jodu, związane w dużym stopniu z wprowadzeniem wzbogacania soli kuchennej w ten pierwiastek, mogą przyczyniać się do rozwoju autoimmunologicznych schorzeń tarczycy, w tym choroby *Hashimoto* (19, 20).

Tabela IV. Odsetek osób o niedostatecznym spożyciu cynku, miedzi i jodu oraz dostatecznym spożyciu manganu w grupie pacjentek z chorobą *Hashimoto*

Table IV. The percentage of people with inadequate intake of zinc, copper and iodine, and a sufficient intake of manganese in the group of patients with *Hashimoto* disease

L.p.	Składniki mineralne	Norma		Niedostateczne spożycie*		Dostateczne spożycie**	
		Rodzaj	Mediana [mg/dobę]	liczba osób	%	liczba osób	%
1.	Cynk	EAR	6,8	26	27,1	-	-
2.	Miedź	EAR	0,7	18	18,8	-	-
3.	Mangan	AI	1,8	-	-	91	94,8
4.	Jod	EAR	0,095	37	38,5	-	-

* - odsetek osób o niedostatecznym spożyciu został oceniony dla składników, które mają określoną normę na poziomie EAR; ** - odsetek osób o dostatecznym spożyciu został oceniony dla składników, które mają określoną normę na poziomie AI.

WNIOSKI

1. Spożycie magnezu było niedostateczne u większości (61,5%) badanych kobiet.
2. W grupie pacjentek z chorobą *Hashimoto* pożądanym jest zwiększenie spożycia potasu oraz wapnia.
3. Częstość występowania niedostatecznego spożycia miedzi, cynku i jodu w grupie badanej wynosi 18,8-38,5%.
4. Prawdopodobieństwo występowania niedoborowego spożycia sodu oraz manganu w grupie kobiet z zapaleniem tarczycy typu *Hashimoto* jest małe.

S. K. Naliwajko, R. Markiewicz-Żukowska, E. Sawicka, E. Bartosiuk,
W. J. Omeljaniuk, M. H. Borawska

MINERALS IN THE DIET OF PATIENTS WITH HASHIMOTO DISEASE

Summary

The aim of this study was to evaluate dietary intake of major elements: sodium, potassium, calcium, phosphorus, magnesium and trace elements: zinc, copper, manganese and iodine by female with *Hashimoto* diseases. Among the 96 patients of endocrine clinic from the area of Białystok, Ketrzyn and Zambrów underwent dietary interview. Data obtained with 24-hour questionnaire method were calculated with computer program Dieta 4 and compared with dietary recommendations. Based on the analysis of dietary data, it was found that the probability of inadequate intake of sodium and manganese in the group of women with *Hashimoto* thyroiditis is small, but it is desirable to increase the

consumption of potassium and calcium. Inadequate intake of magnesium occur of most of women (61,5%). Prevalence of inadequate intake of copper, zinc and iodine in the test group is 18,8-38,5%.

PIŚMIENNICTWO

1. *Główny Urząd Statystyczny*: Stan zdrowia ludności Polski w 2004 roku. GUS, Warszawa 2006: 100-121.- 2. *Cooper G.S., Stroehla B.C.*: The epidemiology of autoimmune diseases. *Autoimmun. Rev.*, 2003; 2 (3): 119-125.- 3. *Eaton W.W., Rose N.R., Kalaydjian A., Pedersen M.G., Mortensen P.B.*: Epidemiology of autoimmune diseases in Denmark. *J. Autoimmun.*, 2007; 29 (1): 1-9.- 4. *Doğan M., Acikgoz E., Acikgoz M., Cesur Y., Ariyuca S., Bektas M.S.*: The frequency of Hashimoto thyroiditis in children and the relationship between urinary iodine level and Hashimoto thyroiditis. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, 2011; 24 (1-2): 75-80.- 5. *Cerqueira C., Knudsen N., Ovesen L., Laurberg P., Perrild H., Rasmussen L.B., Jørgensen T.*: Doubling in the use of thyroid hormone replacement therapy in Denmark: association to iodization of salt? *Eur. J. Epidemiol.*, 2011, 10 – praca w druku.- 6. *Toulis K.A., Anastasilakis A.D., Tzellos T.G., Goulis D.G., Kowelas D.*: Selenium supplementation in the treatment of Hashimoto's thyroiditis: a systematic review and a metaanalysis. *Thyroid*, 2010; 20: 1163-1173.- 7. *Schomburg L., Kohrle J.*: On the importance of selenium and iodine metabolism for thyroid hormone biosynthesis and human health. *Mol. Nutr. Food. Res.*, 2008, 52: 1235-1246.- 8. *Szponar L., Wolnicka K., Rychlik E.*: Album fotografii produktów i potraw. IŻŻ, Warszawa, 2000.- 9. *Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K.*: Tabele wartości odżywczej produktów spożywczych i potraw, IŻŻ, Warszawa, 2005.- 10. *Jarosz M., Bulhak-Jachymczyk B.*: Normy żywienia człowieka; podstawy prewencji otyłości i chorób niezakaźnych. Wyd. PZWL, Warszawa, 2008.

11. National Academy of Sciences. Institute of Medicine. Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes: Recommended Intakes for Individuals. <http://fnic.nal.usda.gov>- 12. *Bhatia S.K., Rose N.R., Schofield B., Lafond-Walker A., Koppers R.C.*: Influence of diet on the induction of experimental autoimmune thyroid disease. *Proc. Soc. Exp. Biol. M.in.*, 1996; 213 (3): 294-300.- 13. *Czerwińska D., Czermiawska A.*: Ocena spożycia sodu, z uwzględnieniem soli kuchennej jako jego źródła, w wybranej populacji warszawskiej. *Roczn. PZH*, 2007; 58 (1): 205–210.- 14. *Marzec Z., Koch W., Marzec A.*: Ocena spożycia niektórych składników odżywczych z racjami pokarmowymi studentów lubelskich uczelni. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009; 3: 604–609.- 15. *Waśkiewicz A., Sygnowska E.*: Jakość żywienia dorosłych mieszkańców Polski w aspekcie ryzyka chorób układu krążenia – wyniki badania WOBASZ. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2008; 41 (3): 395–398.- 16. *Kuriyama C., Mori K., Nakagawa Y., Hoshikawa S., Ozaki H., Ito S., Inoue M., Ohta M., Yoshida K.*: Erythrocyte zinc concentration as an indicator to distinguish painless thyroiditis-associated transient hypothyroidism from permanent hypothyroidism. *Endor. J.*, 2011; 58 (1): 59–63.- 17. *Ertek S., Cicero A.F., Caglar O., Erdogan G.*: Relationship between serum zinc levels, thyroid hormones and thyroid volume following successful iodine supplementation. *Hormones (Athens)*, 2010; 9 (3): 263–268.- 18. *Soldin O.P., Aschner M.*: Effects of manganese on thyroid hormone homeostasis: potential links. *Neurotoxicology*, 2007; 28 (5): 951–956.- 19. *Harach H.R., Escalante D.A., Day E.S.*: Thyroid cancer and thyroiditis in Salta, Argentina: a 40-yr study in relation to iodine prophylaxis. *Endocr. Pathol.*, 2002; 13 (3): 175–181.- 20. *Rose N.R., Bonita R., Burek C.L.*: Iodine: an environmental trigger of thyroiditis. *Autoimmun. Rev.*, 2002; 1 (1–2): 97–103.

Adres: 15-089 Białystok, ul. Kilińskiego 1.

Joanna Suliburska, Zbigniew Krejpcio

CZY STOSOWANIE DOUSTNYCH ŚRODKÓW ANTYKONCEPCYJNYCH WPŁYWA NA SPOŻYCIE SKŁADNIKÓW MINERALNYCH ORAZ ICH ZAWARTOŚĆ WE WŁOSACH KOBIEC?

Zakład Higieny i Toksykologii Żywności, Katedra Higieny Żywnienia Człowieka
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Kierownik: dr hab. Z. Krejpcio, prof. nadzw.

Celem badań była ocena wpływu stosowania przez kobiety doustnych środków antykoncepcyjnych (OC) na spożycie i zawartość we włosach wybranych składników mineralnych. W badaniu uczestniczyły 37 kobiety regularnie stosujące OC i 43 kobiety nie stosujące OC. Przedział wiekowy kobiet wynosił 19-45 lat. Z badanymi kobietami przeprowadzono wywiad żywieniowy z trzech kolejnych dni, na podstawie którego ustalono podaż składników mineralnych. Kobietom pobrano również próbki włosów z potylicy głowy, w których oznaczono stężenie wapnia, magnezu, żelaza, cynku i miedzi. W racjach pokarmowych obu grup kobiet wykazano porównywalną zawartość składników mineralnych. We włosach kobiet stosujących OC stwierdzono istotnie niższe stężenie miedzi aniżeli w grupie bez OC.

Słowa kluczowe: antykoncepcja, składniki mineralne, żywienie, włosy.

Keywords: contraception, minerals, nutrition, hair.

Aktywne seksualnie kobiety w wieku prokreacyjnym często sięgają po tabletki antykoncepcyjne (OC). Przeprowadzono wiele badań wykazujących działania niepożądane tych środków na organizm kobiety. Wykazano m.in. ich zdolność do zatrzymywania wody i sodu w organizmie, co prowadzi do wzrostu masy ciała. Stwierdzono ich działanie anaboliczne oraz niekorzystny wpływ na gospodarkę lipidową i węglowodanową ustroju oraz wytwarzanie tlenu azotu (1-4). Niewiele jest jednak informacji na temat wpływu stosowanych OC na spożycie składników mineralnych oraz stan odżywienia mineralnego kobiet.

Celem niniejszej pracy było porównanie podaży składników mineralnych oraz ich stężenia we włosach kobiet stosujących i nie stosujących OC.

MATERIAŁ I METODY

Charakterystyka grupy badanej

Badania przeprowadzono za zgodą Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu, numer zgody 07/08. W grupie 77 kobiet w wieku reprodukcyjnym 19-45 lat, średnia wieku wynosiła $35.9 \pm 9,7$ lat. Wszystkie kobiety były zdrowe. Kobiety otyłe, palące i z chorobami przewlekłymi wykluczono z badań. Kobiety badane podzielono na dwie grupy: regularnie stosujące hormonalne tabletki antykoncepcyjne (37 osób, wiek $35,1 \pm 8,9$) oraz nie stosujące tych leków (43 osoby, wiek $36,6 \pm 9,5$). Kobiety deklarowały stosowanie środków antykoncepcyjnych (OC) przez okres od 6 do 36 miesięcy. Przed badaniami poproszono kobiety o nie stosowanie suplementacji mineralnej. Większość kobiet (60%) rodziła przynajmniej raz w życiu. Osoby badane wyraziły pisemną zgodę na przeprowadzenie badań.

Ocena podaży składników mineralnych w crp

Z badanymi kobietami przeprowadzono wywiad żywieniowy 24 godzinny z trzech kolejnych dni. Wywiad żywieniowy przeprowadzano w połowie cyklu miesięcznego (12-14 dni po ostatniej miesiączce). Podaż składników mineralnych z całodzienną racją pokarmową (crp) wyliczono za pomocą programu Dietetyk. Do oceny spożycia zastosowano normy żywienia dla ludności Polski na poziomie wystarczającego spożycia - dla wapnia i zalecanego spożycia - dla pozostałych składników mineralnych (5).

Oznaczanie zawartości składników mineralnych we włosach

Próbki włosów (około 0,5g) pobrane zostały z 6 miejsc głowy. Próbki były wytrząsane kilkakrotnie w acetonie i w wodzie dejonizowanej, następnie je suszono w 105°C do stałej masy. Po wysuszeniu próbki mineralizowano z dodatkiem stężonego kwasu azotowego (65%) w piecu mikrofalowym. Zawartość wapnia, magnezu, żelaza, cynku i miedzi oznaczono metodą atomowej spektrofotometrii absorpcyjnej (Zeiss AAS-3).

Dokładność metody sprawdzono z użyciem certyfikowanego materiału referencyjnego. Dokładność metody wynosiła: 95%, 99%, 94%, 99% i 102% odpowiednio dla Ca, Mg, Fe, Zn i Cu.

Analiza statystyczna

Analizę statystyczną wykonano używając programu Statistica 6.0 (StatSoft). Obliczono średnią arytmetyczną, medianę, odchylenie standardowe. Rozkład wyników oznaczono testem *Shapiro-Wilka*. Różnice istotne statystycznie ustalono przy użyciu nieparametrycznego testu *Manna-Whitney'a*, dla $p < 0,05$.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Uzyskane w niniejszej pracy wyniki przedstawiono w tabelach I i II.

Tabela I. Spożycie składników mineralnych z całodzienną racją pokarmową

Table I. The intake of minerals from the daily food rations

Składnik		Grupa	Kobiety stosujące	Kobiety	Norma* (mg)
			antykoncepcję N=37	niestosujące antykoncepcji N=43	
Wapń (mg)	Średnia ±SD		818 ± 224	753 ± 285	1000 ^A
	Mediana		848	732	
Magnez (mg)	Średnia ±SD		326 ± 92,7	289 ± 65,9	310 (19-30lat) 320 (31-50lat) ^B
	Mediana		312	284	
Żelazo (mg)	Średnia ±SD		10,3 ± 2,70	9,54 ± 2,33	18 ^B
	Mediana		10,7	9,42	
Cynk (mg)	Średnia ±SD		9,23 ± 2,45	8,89 ± 2,32	8 ^B
	Mediana		9,82	8,94	
Miedź (mg)	Średnia ±SD		1,23 ± 0,35	1,05 ± 0,23	0,9 ^B
	Mediana		1,21	1,08	

A-wystarczające spożycie; B-zalecane spożycie * (5).

Tabela II. Zawartość składników mineralnych we włosach kobiet

Table II. The concentration of minerals in hair of women

Składnik		Grupa	Kobiety stosujące	Kobiety
			antykoncepcję N=37	niestosujące antykoncepcji N=43
Wapń (µg/g)	Średnia ±SD		1751 ± 822	1810 ± 825
	Mediana		1543	1498
Magnez (µg/g)	Średnia ±SD		124 ± 63,4	113 ± 49,6
	Mediana		112	98,8
Żelazo (µg/g)	Średnia ±SD		50,4 ± 21,2	45,5 ± 19,3
	Mediana		36,2	38,8
Cynk (µg/g)	Średnia ±SD		244 ± 60,2	260 ± 62,5
	Mediana		226	238
Miedź (µg/g)	Średnia ±SD		20,3 ± 12,3	25,6 ± 11,4
	Mediana		13,1 ^a	17,5 ^b

Manna-Whitney'a test; ^{a,b} p<0,05.

Stwierdzono, że podaż składników mineralnych z crp kobiet stosujących i niestosujących środki antykoncepcyjne była porównywalna. W obu grupach wykazano niskie spożycie wapnia i żelaza, znacznie poniżej zalecanej normy - 1000 mg dla wapnia i 18 mg dla żelaza. Zawartość magnezu w crp kobiet zażywających OC była nieco niższa od zalecanego spożycia i nie różniła się znacząco od zawartości tego pierwiastka w crp grupy drugiej. Podaż cynku i miedzi była zgodna z normą (tab. I).

Uzyskane zakresy stężeń składników mineralnych we włosach kobiet mieściły się w zakresach referencyjnych ustalonych na podstawie danych literaturowych (6). W niniejszej pracy wykazano istotnie niższy poziom miedzi we włosach kobiet grupy

z OC w porównaniu do zawartości tego pierwiastka w grupie bez OC. Zawartości pozostałych składników mineralnych we włosach były porównywalne w obu grupach (tab. II).

Wyniki wielu badań wskazują na niskie spożycie wapnia i żelaza przez kobiety w wieku reprodukcyjnym. Potwierdziły to również niniejsze badania, w których wykazano, że podaż wapnia w crp obu grup kobiet wynosiła około 80% zalecanej normy, a podaż żelaza była znacznie poniżej zalecanego spożycia i wynosiła około 55%. Inni autorzy donoszą, że u blisko 60% kobiet spożycie wapnia może kształtować się na bardzo niskim poziomie 200-400 mg na dzień (7, 8). Jak wynika z badań epidemiologicznych niskie spożycie wapnia zwiększa ryzyko rozwoju osteoporozy, szczególnie u kobiet w wieku 16-40 lat (7). Badania przeprowadzone wśród kobiet zażywających OC wykazały, że miały one niższy poziom wapnia w organizmie oraz niższą gęstość kości aniżeli kobiety, które nigdy nie stosowały środków antykoncepcyjnych (9). *Hameed* i współpracownicy (10) stwierdzili obniżenie poziomu wapnia, magnezu i fosforu w surowicy kobiet stosujących Lofeminal.

Deficyt żelaza i cynku w organizmie kobiet w wieku reprodukcyjnym jest również powszechny (11, 12). *Kabir* i współpracownicy (13) zaobserwowali u młodych kobiet częste występowanie anemii, co wiązało się ze spożywaniem żywności o niskiej biodostępności żelaza. Inne badania przeprowadzone w Polsce potwierdzają niską podaż żelaza u kobiet, na poziomie 47-65% zalecanej normy (8). *Fallah* i współpracownicy (14) wykazali wyraźny spadek stężenia cynku w surowicy krwi kobiet stosujących doustne środki antykoncepcyjne. Autorzy sugerują, że przyczyną tych zmian może być spadek zawartości cynku w tkankach spowodowany mniejszą jego absorpcją oraz zwiększeniem jego wydalania z organizmu. W niniejszej pracy zaobserwowano nieznacznie niższy poziom cynku we włosach kobiet zażywających OC. Z kolei *Deeming* i *Weber* (15) wykazali, że zawartość miedzi we włosach kobiet stosujących doustną antykoncepcję spada, a zawartość cynku rośnie. W niniejszej pracy również wykazano istotnie niższy poziom miedzi we włosach kobiet grupy z OC, aniżeli grupy bez OC, co może potwierdzać wpływ stosowania doustnych środków antykoncepcyjnych na zaburzenie gospodarki miedzi w organizmie. Jak wynika z prac innych autorów stężenie miedzi w organizmie koreluje dodatnio z aktywnością dysmutazy ponadtlenkowej (16). Obniżony poziom miedzi w organizmie może zatem wskazywać na niższy stan antyoksydacyjny. *Pincemail* i współpracownicy (17) wykazali istotny wpływ stosowania OC na wzrost stresu oksydacyjnego w ustroju kobiet i wzrost peroksydacji lipidów, co wiązało się ze zwiększonym ryzykiem rozwoju chorób sercowo-naczyniowych. Z kolei *Zabielska* i współpracownicy (18) nie wykazali, aby zażywanie OC stanowiło istotny czynnik ryzyka choroby niedokrwiennej serca.

W niniejszych badaniach nie zaobserwowano wpływu stosowania antykoncepcji na podaż składników mineralnych w crp. *Pelkman* i współpracownicy (19) również wykazali, że stosowanie OC nie wpływa na spożycie składników pokarmowych i masę ciała kobiet. Z kolei *Tucci* i współpracownicy (20) stwierdzili, że stosowanie OC eliminuje zmiany podaży energii w pożywieniu wywołane cyklem miesięczkowym u kobiet.

WNIOSKI

1. Stosowanie doustnych środków antykoncepcyjnych przez kobiety nie ma istotnego wpływu na podaż składników mineralnych w całodiennej racji pokarmowej.

2. Zażywanie doustnych tabletek antykoncepcyjnych powoduje spadek stężenia miedzi we włosach kobiet.

J. Suliburska, Z. Krejpcio

DOES THE USE OF ORAL CONTRACEPTIVES AFFECT THE INTAKE OF MINERALS
AND THEIR CONTENTS IN THE HAIR OF WOMEN?

Summary

The aim of the study was to assess the effect of oral contraceptives (OC) on the intake and content of selected minerals in the hair of women. The study involved 37 women who regularly used OC and 43 women who did not use OC. Women were in the age range of 19-45. Dietary intake of the analyzed minerals was assayed on the basis of dietary intake interviews from three preceding days and evaluated using the Dietetic computer program. Hair samples were taken from several points of the occipital scalp and the concentration of calcium, magnesium, iron, zinc and copper was analyzed. Comparable levels of minerals in the food rations of women in both groups were shown. The concentration of copper in hair of women taking OC was significantly lower than in women not taking OC.

PIŚMIENNICTWO

1. Buchbinder S., Kratzsch J., Fiedler G.M., Yar V., Brügel M., Leichtle A., Weber W., Alexander H., Matthes G., Thiery J.: Body weight and oral contraceptives are the most important modulators of serum CRP levels. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2008; 68 (2): 140-144.- 2. Soska V., Fiala J., Nebeska K., Jarkovsky J., Hrubá D.: The atherogenic index of plasma is increased by hormonal contraception. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2011; 71 (2): 94-100.- 3. Cherney DZ., Scholey J.W., Catran D.C., Kang A.K., Zimpelmann J., Kennedy C., Lai V., Burns K.D., Miller J.A.: The effect of oral contraceptives on the nitric oxide system and renal function. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, 2007; 293 (5): 1539-1544.- 4. Zachwieja Z. (red.): Leki i pożywienie - interakcje. *MedPharmPolska*, 2008.- 5. Jarosz M., Bulhak-Jachymczyk B. (red.): Normy żywienia człowieka. PZWL, Warszawa, 2008.- 6. Wojciak R.W., Krejpcio Z., Człapka-Matyasik M., Jeszka J.: Comparison of the hair bioelements in vegetarian and non-vegetarian women. *Trace Elem. Elec.*, 2004; 21/3: 141-144.- 7. Islam M.Z., Lamberg-Allardt C., Karkkainen M., Ali S.M.: Dietary calcium intake in premenopausal Bangladeshi women: do socio-economic or physiological factors play a role? *Eur. J. Clin. Nutr.* 2003; 57: 674-680.- 8. Czapska D., Ostrowska L., Stefańska E., Karczewski J.: Assessment of the levels of chosen mineral components in daily food rations of medical university students in the years 2002/2004 and 2008/2009. *Bromat. Chem. Toksykol.* 2009; 42 (3): 723-727.- 9. Prior J.C., Kirkland S.A., Joseph L. Kreiger N., Murray T.M., Hanley D.A., Adachi J.D., Vigna Y.M., Berger C., Blondeau L., Jackson S.A., Tenenhouse A.: Oral contraceptives use and bone mineral density in premenopausal women: cross-sectional, population-based data from the Canadian Multicentre Osteoporosis Study. *CMAJ*, 2001; 165 (8): 1023-1029.- 10. Hameed A., Majeed T., Rauf S., Ashraf M., Jalil M.A., Nasrullah M., Hussan A., Noreen R.: Effect of oral and injectable contraceptives on serum calcium, magnesium and phosphorus in women. *J. Ayub. Med. Coll. Abbottabad.*, 2001; 13 (3): 24-25.

11. Ortega P., Leal J., Amaya D., Chavez C.: Nutritional evaluation, micronutrient deficiencies and anemia among female adolescents in an urban and a rural zone from Zulia state, Venezuela. *Invest. Clin.*, 2010; 51 (1): 37-52.- 12. Chandyo R.K., Strand T.A., Mathisen M.: Zinc deficiency is common

among healthy women of reproductive age in Bhaktapur, Nepal. *J. Nutr.*, 2009; 139: 594-597.- 13. *Kabir Y., Shahjalal H.M., Saleh F.*: Dietary pattern, nutritional status, anaemia and anaemia-related knowledge in urban adolescent college girls of Bangladesh. *J.P.M.A.*, 2010; 60: 633-638.- 14. *Fallah S., Sani F.V., Firoozrai M.*: Effect of contraceptive pill on the selenium and zinc status of healthy subjects. *Contraception.*, 2009; 80 (1): 40-43.- 15. *Deeming S.B., Weber C.W.*: Hair analysis of trace minerals in human subjects as influenced by age, sex, and contraceptive drugs. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1978; 3: 1175-1180.- 16. *Vivoli G., Bergomi M., Rovesti S., Pinotti M., Caselgrandi E.*: Zinc, copper, and zinc- or copper-dependent enzymes in human hypertension. *Biol. Trace Elem. Res.*, 1995; 49 (2-3): 97-106.- 17. *Pincemail J., Vanbelle S., Gaspard U., Collette G., Haleng J., Cheramy-Bien J.P., Charlier C., Chapelle J.P., Giet D., Albert A., Limet R., Defraigne J.O.*: Effect of different contraceptive methods on the oxidative stress status in women aged 40-48 years from the ELAN study in the province of Lie'ge Belgium. *Hum. Reprod.*, 2007; 22 (8): 2335-2343.- 18. *Zabielska E., Kubica A., Kozłowski M., Król A., Sukiennik T., Dobosiewicz R., Grąbczewska Z., Kubica J.*: Czynniki ryzyka choroby niedokrwiennej serca u kobiet przed menopauzą. *Cardiovascular Forum*, 2006; 11 (2): 39-43.- 19. *Pelkamm Ch.L., Chow M., Heinbach R.A., Rolls B.J.*: Short-term effects of a progestational contraceptive drug on food intake, resting energy expenditure, and body weight in young women. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2001; 73: 19-26.- 20. *Tucci S.A., Murphy L.E., Boyland E.J., Halford J.C.*: Influence of premenstrual syndrome and oral contraceptive effects on food choice during the follicular and luteal phase of the menstrual cycle. *Endocrinol. Nutr.*, 2009; 56 (4): 170-175.

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

Grzegorz Galiński¹⁾, Jarosław Walkowiak^{1,2)}, Rafał W. Wójciak¹⁾, Jan Gawęcki¹⁾,
Zbigniew Krejpcio¹⁾

STAN WYSYCENIA ORGANIZMU CYNKIEM A WRAŻLIWOŚĆ SMAKOWA I WYSTĘPOWANIE ZJAWISKA SYTOŚCI SENSORYCZNIE SPECYFICZNEJ U MŁODYCH WEGETARIAN

¹⁾ Katedra Higieny Żywienia Człowieka Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu
Kierownik: prof. dr hab. J. Jeszka

²⁾ Klinika Gastroenterologii Dziecięcej i Chorób Metabolicznych,
I Katedra Pediatrii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu
Kierownik: prof. dr hab. W. Cichy

Celem pracy była ocena zależności pomiędzy stężeniem cynku w surowicy krwi i suplementacją diety tym składnikiem a wrażliwością smakową i występowaniem sytości sensorycznie specyficznej w grupie młodych wegetarian. Różnice w zawartości cynku w surowicy nie wykazały istotnego związku z wrażliwością smakową, miały natomiast istotny wpływ na występowanie zjawiska sytości sensorycznie specyficznej. Suplementacja diety cynkiem spowodowała istotną poprawę zdolności rozpoznania podstawowych jakości smaku oraz występowania sytości sensorycznie specyficznej w grupie osób z zawartością tego pierwiastka w surowicy krwi <105 µg/dl.

Słowa kluczowe: stan odżywienia cynkiem, wrażliwość smakowa, sytość sensorycznie specyficzna, wegetarianie.

Key words: zinc status, taste sensitivity, sensory specific satiety, vegetarians.

Prawidłowe funkcjonowanie zmysłu smaku przyczynia się w znacznym stopniu do dobrego samopoczucia człowieka, zarówno w sensie fizycznym, jak i psychicznym. Wyniki licznych badań wskazują, iż w procesach odczuwania smaku istotną rolę odgrywa cynk, który jest kofaktorem gustyny – białka znajdującego się w receptorach smakowych (1-3). Wykazano, że u osób z niską zawartością cynku w ślinie i surowicy krwi, stężenie gustyny maleje, a obniżony poziom tego białka koreluje z występującymi zaburzeniami smaku i może prowadzić do utraty apetytu (4-6). Jednym z mechanizmów regulujących pobieranie pokarmu, odpowiedzialnym przede wszystkim za urozmaicenie spożywanego pożywienia, jest sytość sensorycznie specyficzna (SSS), której występowanie zależy nie tylko od właściwości sensorycznych spożywanych produktów, ale również od zdolności organizmu do prawidłowego odbioru bodźców generowanych przez pożywienie (7).

Osobami szczególnie narażonymi na długotrwały niedobór cynku w diecie, a w konsekwencji na niedostateczny stan wysycenia organizmu tym składnikiem są wegetarianie (8). Stąd też celem niniejszej pracy była ocena zależności pomiędzy poziomem cynku w surowicy krwi a wrażliwością smakową i rozwojem SSS u młodych wegetarian oraz określenie czy suplementacja cynkiem diety osób z mniejszym stężeniem tego składnika w surowicy krwi przyczynia się do poprawy ich wrażliwości smakowej i występowania SSS.

MATERIAŁ I METODY

W badaniach udział wzięło 26 młodych osób (18 kobiet i 8 mężczyzn, $21,9 \pm 0,3$ lat). Wszystkie badane osoby stosowały dietę wegetariańską (laktoowo-wegetariańską, laktowegetariańską lub semiwegetariańską) przez minimum jeden rok oraz nie suplementowały diety preparatami zawierającymi cynk. Uczestnicy badań charakteryzowali się prawidłową masą ciała ($18,5 \leq \text{BMI} \leq 24,9 \text{ kg/m}^2$) oraz dobrym ogólnym stanem zdrowia. Na początku badań osobom tym oznaczono stężenie cynku w surowicy krwi, metodą spektrofotometrii atomowo-absorpcyjnej (9). Na tej podstawie podzielono je na dwie grupy: z mniejszym ($<105 \mu\text{g/dl}$) i większym ($>105 \mu\text{g/dl}$) stężeniem cynku w surowicy krwi.

Próbę zdolności rozpoznania podstawowych jakości smaku (słodki, słony, kwaśny i gorzki) wykonano zgodnie z Polską Normą (10) oraz wskazówkami podanymi przez *Baryłko-Pikielną* i *Matuszewską* (11). Do określenia SSS wykorzystano zmodyfikowaną przez autorów metodę opisaną przez *Hetherington*, którą szczegółowo przedstawiono we wcześniejszych pracach (12, 13). Badanie SSS polegało na określeniu zmian oceny smakowitości produktów testowych (czekolada mleczna, krakersy, jabłko i grejpfrut) po spożyciu jednego z nich do woli (czekolada – w I sesji i krakersy – w II sesji). Uczestnicy badań oceniali smakowitość produktów testowych na 100 mm niestrukturowanej skali liniowej z oznaczeniami brzegowymi „bardzo niesmaczny” i „bardzo smaczny”.

Następnie osoby charakteryzujące się stężeniem cynku w surowicy krwi $<105 \mu\text{g/dl}$ przyjmowały codziennie przez okres 50 dni po 1 tabletkę preparatu *Zincas Forte* produkcji firmy *Farmapol* (150 mg *zincum hydroasparaginicum*, w tym 27 mg Zn^{+2}). Po okresie suplementacji dokonano powtórnego oznaczenia stężenia cynku w surowicy krwi oraz oceny wrażliwości smakowej i określenia SSS, analogicznie jak w pierwszym etapie badań.

Uzyskane wyniki badań poddano weryfikacji statystycznej wykorzystując do tego celu test chi-kwadrat, test *t-Studenta* dla prób zależnych oraz jednoczynnikową analizę wariancji. Wszystkie analizy przeprowadzono wykorzystując program komputerowy *Statistica* dla Windows ver. 8.0 PL.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W celu określenia związku pomiędzy stężeniem cynku w surowicy krwi a zdolnością rozpoznania podstawowych jakości smaku przeprowadzono test na daltonizm smakowy, którego wyniki przedstawia tabela I. Jak wynika z tego zestawienia, najczęściej (46%) badanych osób z mniejszym stężeniem cynku w surowicy krwi popełniło 2 błędy w rozpoznaniu smaku ocenianych roztworów. Z kolei w grupie charakteryzującej się większą zawartością tego składnika prawie 40% osób bezbłędnie rozpoznało smak wszystkich prezentowanych roztworów testowych. Przeprowadzona analiza statystyczna nie wykazała jednak istotnego związku pomiędzy stężeniem cynku w surowicy krwi a zdolnością rozpoznania podstawowych jakości smaku ($\chi^2=2,23$; n.s.).

Tabela I. Rozkład błędnych rozpoznań podstawowych jakości smaku (% badanych osób)

Table I. Distribution of wrong recognitions of basic taste qualities (% of subjects)

Liczba błędnych rozpoznań smaku	Grupa badanych osób		
	Z większym stężeniem Zn w surowicy krwi	Z mniejszym stężeniem Zn w surowicy krwi	
		Przed suplementacją Zn	Po suplementacji Zn
0	38,4	23,1	38,5
1	7,7	15,4	61,5
2	30,8	46,1	0,0
3	15,4	15,4	0,0
4	7,7	0,0	0,0

Między osobami z mniejszym i większym stężeniem cynku w surowicy krwi nie było istotnych różnic w występowaniu SSS po spożyciu czekolady, natomiast w sesji kiedy produktem jedzonym *ad libitum* były krakersy u osób z zawartością cynku w surowicy $<105 \mu\text{g/dl}$ zjawisko to w ogóle nie występowało, w przeciwieństwie do osób z wyższymi poziomami cynku we krwi (tab. II).

Suplementacja cynkiem diety osób z mniejszym stężeniem tego pierwiastka spowodowała jedynie nieznaczny wzrost jego zawartości w surowicy krwi (z $86,6 \pm 3,4$ do $87,4 \pm 8,1 \mu\text{g/dl}$), ale jak wykazuje tabela I pociągnęła za sobą wyraźną poprawę rozpoznawania podstawowych jakości smaku potwierdzoną statystycznie ($\chi^2=12,10$; $p<0,001$). Suplementacja diety cynkiem przyczyniła się również do prawidłowego odczuwania SSS (tab. II), co prawdopodobnie można wiązać ze wzrostem wrażliwości smakowej badanych osób. Wyniki niniejszych badań znajdują częściowe potwierdzenie w pracy Heckmanna i współpr. (14), którzy stwierdzili, że suplementacja cynkiem, pomimo braku istotnych statystycznie zmian zawartości tego składnika w surowicy krwi oraz w ślinie, przyczynia się do poprawy wrażliwości smakowej badanych osób.

Tabela 11. Zmiana oceny smakowości produktów testowych ($x_{sr} \pm SEM$) po 2 minutach od spożycia *ad libitum* czekolady mlecznej lub krakersów (mm)

Table 11. Change in pleasantness ratings of test products ($x_{sr} \pm SEM$) 2 minutes after *ad libitum* intake of milk chocolate or crackers (mm)

Produkt jedzony <i>ad libitum</i>	Produkt testowy	Grupa badanych osób			ANOVA
		Z wyższym stężeniem Zn w surowicy krwi	Z niższym stężeniem Zn w surowicy krwi		
			Przed suplementacją	Po suplementacji	
Czekolada mleczna	Czekolada	-24±5 ^{ab*}	-31±8 ^{ab*}	-30±7 ^{ab*}	F=0,385; n.s.
	Krakers	5±5 ^b	-11±7 ^{ab}	1±5 ^b	F=2,268; n.s.
	Grejfrut	-3±3 ^b	-13±6 ^{ab}	-5±8 ^b	F=0,796; n.s.
	Jabłko	3±4 ^b	-5±6 ^b	-5±5 ^b	F=0,585; n.s.
Krakersy	Czekolada	-1±3 ^b	-3±3 ^a	-10±4 ^{ab}	F=1,787; n.s.
	Krakers	-19±4 ^{ab*}	-9±5 ^a	-22±4 ^{ab*}	F=2,209; n.s.
	Grejfrut	-2±3 ^b	7±5 ^a	-3±4 ^b	F=2,321; n.s.
	Jabłko	-4±3 ^b	-2±4 ^a	-3±4 ^b	F=0,092; n.s.

x_{sr} – wartość średnia; SEM – błąd standardowy średniej; n.s. – oddziaływanie nieistotne statystycznie; * - zmiana oceny smakowości (ocena po 2 minutach – ocena początkowa) istotna na poziomie $p < 0,001$.

Wartości średnie w poszczególnych kolumnach (oddzielnie dla każdego z produktów jedzonych *ad libitum*) oznaczone odmiennymi inskrypcjami literowymi różnią się istotnie na poziomie $p < 0,05$.

WNIOSKI

1. Stężenie cynku w surowicy krwi vegetarian nie ma istotnego związku z ich zdolnością rozpoznania podstawowych jakości smaku. Osoby z poziomem cynku w surowicy krwi $>105 \mu\text{g/dl}$ charakteryzują się prawidłowym występowaniem sytości sensorycznie specyficznej zarówno po spożyciu czekolady, jak i krakersów, natomiast u osób z poziomem cynku w surowicy $<105 \mu\text{g/dl}$ zjawisko to występuje jedynie po spożyciu czekolady.

2. Suplementacja cynkiem diety osób z zawartością tego składnika w surowicy krwi $<105 \mu\text{g/dl}$ powoduje znamienne poprawę zdolności rozpoznania smaków i przywraca występowanie zjawiska sytości sensorycznie specyficznej po spożyciu krakersów.

G. Galiński, J. Walkowiak, R.W. Wójciak, J. Gawęcki, Z. Krejpcio

ZINC STATUS AND TASTE SENSITIVITY AND SENSORY SPECIFIC SATIETY IN YOUNG VEGETARIANS

Summary

The aim of this study was to evaluate the relationship between the concentration of zinc in blood serum and zinc supplementation and taste sensitivity and sensory specific satiety in young vegetarians. Differences in the concentration of zinc in blood serum showed no significant relationship with taste sensitivity, but had a significant effect on the occurrence of sensory specific satiety. Zinc

supplementation resulted in significant improvement in recognition of basic tastes and occurrence of sensory specific satiety among people with content of this element in blood serum <105 µg/dl.

PIŚMIENNICTWO

1. *Barczewska E., Nowak A.*: Zaburzenia smakowe – dysgeusia. *Nowa Stomatologia*, 2000; 1-2: 3-8.
2. *Konopka W., Dobosz P., Kochanowicz J.*: Zaburzenia smaku w otolaryngologii. *Otolaryngologia*, 2003; 2 (4): 145-149.
3. *Leinonen J., Parkkila S., Kaunisto K.* et al.: Secretion of Carbonic Anhydrase Isoenzyme VI (CAVI) from human and rat lingual serous von Ebner's Glands. *J. Histochem. Cytochem.*, 2001; 49 (5): 657-662.
4. *Henkin R. I., Martin B. M., Agarwal R. P.*: Decreased parotid saliva Gustin/Carbonic Anhydrase VI secretion: An enzyme disorder manifested by gustatory and olfactory dysfunction. *Am. J. Med. Sci.*, 1999; 318 (6): 380-391.
5. *Thatcher B. J., Doherty A. E., Orvisky E.* et al.: Gustin from human parotid saliva is Carbonic Anhydrase VI. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998; 250 (3): 635-641.
6. *Ikeda M.*: Sensory dysfunctions due to trace element deficiencies and the clinical aspects, *JMAJ*, 2004; 47 (8): 387-390.
7. *Gawęcki J., Galiński G.*: Sensoryczne mechanizmy regulacji apetytu. *Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych*, 2010; 59 (3-4): 281-290.
8. *Gawęcki J., Roszkowski W.* (red.): *Żywnienie człowieka a zdrowie publiczne*, Wyd. PWN, Warszawa, 2009; 272-277.
9. *Wójciak R., Śmigiel-Papińska D., Przysławski J.* i współpr.: Poziom wapnia, magnezu, cynku, miedzi i żelaza w surowicy krwi dorosłych ludzi. *Żyw. Człow. Metab.*, 2000; 27: 66-69.
10. PN-ISO 3972: 1998: Analiza sensoryczna – Metologia – Metoda sprawdzania wrażliwości smakowej.
11. *Barylko-Pikielna N., Matuszewska I.*: Sensoryczne badania żywności. *Podstawy – Metody – Zastosowania*, Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków, 2009.
12. *Galiński G., Gawęcki J., Aniola J.* et al.: Effect of sensorily varied foodstuffs on sensory specific satiety in young adults depending on their sex - a short report. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2009; 59 (1): 87-90.
13. *Hetherington M. M.*: Sensory-specific satiety and its importance in meal termination. *Neurosci. Biobehav. Res.*, 1996; 20 (1): 113-117.
14. *Heckmann S. M., Hujoel P., Habiger S.* et al.: Zinc gluconate in treatment of dysgeusia – a randomized clinical trial. *J. Dent. Res.*, 2005; 84 (1): 35-38.

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

Zbigniew Marzec, Wojciech Koch, Agnieszka Marzec

OCENA POBRANIA MAGNEZU I CYNKU PRZEZ STUDENTÓW LUBELSKICH UCZELNI Z UWZGLĘDNIENIEM SUPLEMENTACJI DIET

Katedra i Zakład Żywności i Żywienia Uniwersytetu Medycznego w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. S. Zaręba

Całodobowe racje pokarmowe (CRP) studentów lubelskich uczelni w spożywane latach 2009 i 2010 poddano analizie na zawartość magnezu i cynku. Całkowite pobranie tych pierwiastków oceniono metodą analizy duplikatów diet oraz techniką obliczeniową w oparciu o krajową bazę danych i program Dietetyk 2006. Ponadto uwzględniono poziom suplementacji diet tymi pierwiastkami. Średnie zawartości magnezu w CRP wynosiły od 213 mg do 250 mg i od 256 mg do 361 mg, natomiast cynku od 5,64 mg do 8,83 mg i od 7,53 mg do 13,85 mg, odpowiednio w grupie kobiet i mężczyzn.

Hasła kluczowe: diety studenckie, magnez, cynk, suplementacja.

Key words: student's diets, magnesium, zinc, supplementation.

Magnez jest pierwiastkiem, który pełni bardzo istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu człowieka, biorąc udział w ok. 300 cyklach enzymatycznych. Z tego powodu jego właściwy poziom w diecie a tym samym w organizmie jest niezmiernie ważny, a w świetle danych krajowych i zagranicznych pobranie magnezu z żywnością z reguły jest niższe od optymalnego (1, 2). Pierwiastkiem zyskującym coraz większe znaczenie poprzez swój udział w prawidłowym przebiegu licznych funkcji fizjologicznych jest cynk (2, 3). Również w jego przypadku liczne publikacje wskazują na zbyt małą ilość cynku przyjmowaną z całodobowymi racjami pokarmowymi przez różne grupy populacyjne. W świetle tych faktów istotnym wydaje się poznanie i ocena spożycia magnezu i cynku przez ważną grupę społeczną jaką są studenci, oraz poziomu i zasadności stosowania suplementacji tymi pierwiastkami.

MATERIAŁ I METODY

Metodą bieżącego notowania i 24-godzinnego wywiadu żywieniowego zebrano dane o spożyciu żywności i suplementacji mineralno-witaminowej od 402 studentek i 129 studentów Uniwersytetu Medycznego, Uniwersytetu Przyrodniczego i Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego. Całodzienne jadłospisy pobierano od losowo wybranych osób, które cechował umiarkowany poziom aktywności

fizycznej. W odtworzonych, średnich racjach pokarmowych oznaczono metodą płomieniową atomowej spektrometrii absorpcyjnej magnez i cynk. Ponadto oszacowano pobranie tych pierwiastków z suplementami diety i oceniono całkowity poziom magnezu i cynku w CRP.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Oznaczony analitycznie poziom magnezu w CRP studentek z różnych uczelni nie wykazywał istotnych statystycznie różnic i średnio wynosił od 213 mg do 250 mg w latach 2009 i 2010. W przypadku studentów rozrzut wyników był większy i występowały różnice statystycznie istotne, zwłaszcza w dietach mężczyzn z KUL w stosunku do UP w 2009 i do UM w 2010 roku. Pobranie cynku z CRP studentek zawierało się w przedziale 5,64 mg do 8,83 mg i było istotnie wyższe w roku 2009 w racjach z Uniwersytetów Medycznego i Przyrodniczego. Zawartość tego pierwiastka w dietach studentów była średnio wyższa w roku 2009 we wszystkich uczelniach w stosunku do roku 2010, przy czym najwyższe pobranie wynoszące 12,77 mg i 13,85 mg odpowiednio w UM i UP różniło się statystycznie istotnie od pozostałych wyników. Zbliżone rezultaty badań przedstawione są pracach *Sochy* i współpr., *Czapskiej* i współpr., *Charkiewicz* i współpr. oraz *Trafalskiej* i współpr. (4-7). Porównując pobranie magnezu z badanymi CRP w stosunku do wyników innych badań zauważa się, że jest ono zbliżone lub niższe do podawanego przez autorów krajowych badań prowadzonych również na dietach studentów (8-14). Analizując dane zawarte w tabeli I można zauważyć prawidłowość polegającą na tym, że osoby stosujące suplementację magnezem spożywają większe ilości tego pierwiastka w stosunku do osób nie uzupełniających diety magnezem i dotyczy większości badanych diet, zarówno kobiet jak i mężczyzn. Po wzbogaceniu diety suplementami magnezowymi z reguły osiągnany jest zalecany poziom pobrania magnezu a czasami przekraczana jest nawet wartość RDA. Podobnie jak w przypadku magnezu cynk również w większej ilości występował w dietach osób stosujących suplementację tym pierwiastkiem, chociaż dla jednej grupy kobiet i czterech grup mężczyzn osoby niesuplementujące CRP cynkiem spożywały go w ilości zbliżonej lub większej (tab. II). Wydawałoby się więc, że suplementacja cynkiem jest bardziej uzasadniona niż magnezem, jednak poziom łącznego spożycia tego pierwiastka dla ponad połowy badanych grup wydaje się być zbyt wysoki, znacznie przewyższający RDA.

Tabela I. Pobranie magnezu z dietami studentów lubelskich uczelni (mg/dobę)

Table I. Magnesium intake with student's daily diets in Lublin (mg/day)

Parametr	UM*				UP*				KUL*			
	Osoby sumpelemntujące			Osoby niesuplem- ntujące	Osoby sumpelemntujące			Osoby niesuplem- ntujące	Osoby sumpelemntujące			Osoby niesuplem- ntujące
	dieta	suplem- entacja	dieta + supl.	dieta	dieta	suplem- entacja	dieta + supl.	dieta	dieta	suplem- entacja	dieta + supl.	dieta
Kobiety												
2009												
Średnia	249	92	341	(250)**	258	86	345	(248)	249	49	(213)	208
SD	96	78	114	108	82	56	108	80	64	50	92	52
2010												
Średnia	255	148	403	(246)	244	112	356	(240)	227	196	(229)	229
SD	100	220	228	86	90	162	156	101	128	188	204	98
Mężczyźni												
2009												
Średnia	260	86	346	(301)	353	42	395	(348)	350	51	(256)	246
SD	129	78	181	142	77	32	115	127	0	0	0	70
2010												
Średnia	412	135	547	(371)	316	121	437	(318)	264	73	(286)	289
SD	137	180	227	128	157	155	176	149	94	21	80	111

*UM – Uniwersytet Medyczny, UP – Uniwersytet Przyrodniczy, KUL – Katolicki Uniwersytet Lubelski, **() – średnia dla całej grupy bez suplementacji.

Tabela II. Pobranie cynku z dietami studentów lubelskich uczelni (mg/dobę)

Table II. Zinc intake with student's daily diets in Lublin (mg/day)

Parametr	UM*				UP*				KUL*			
	Osoby sumpelemntujące			Osoby niesuplemen-tujące	Osoby sumpelemntujące			Osoby niesuplemen-tujące	Osoby sumpelemntujące			Osoby niesuplemen-tujące
	dieta	suplem entacja	dieta + supl.	dieta	dieta	suplem entacja	dieta + supl.	dieta	dieta	suplem entacja	dieta + supl.	dieta
Kobiety 2009												
Średnia	8,81	10,72	19,64	(8,25)** 7,89	9,45	11,31	20,76	(8,83) 8,56	7,26	9,00	16,26	(7,39) 7,78
SD	3,28	6,37	6,85	3,09	3,34	10,36	11,40	3,43	2,05	6,15	6,38	2,48
2010												
Średnia	6,72	11,76	18,49	(6,46) 6,35	5,70	6,60	12,30	(5,65) 5,63	7,22	8,97	16,18	(6,07) 5,71
SD	1,40	7,66	7,22	2,06	1,52	5,15	5,06	2,26	1,81	5,96	5,29	2,34
Mężczyźni 2009												
Średnia	10,13	8,57	18,71	(12,77) 13,05	18,50	9,06	27,56	(13,85) 12,55	6,53	2,50	9,03	(9,95) 10,30
SD	4,47	7,07	11,39	5,34	4,94	1,88	3,68	4,95	1,44	0,77	2,11	3,82
2010												
Średnia	8,23	5,83	14,06	(8,77) 8,83	12,49	30,0	42,49	(9,85) 9,63	5,48	6,83	12,32	(7,52) 7,92
SD	1,95	2,89	3,55	4,50	2,88	5,54	7,98	4,00	3,19	2,57	0,70	1,92

*UM – Uniwersytet Medyczny, UP – Uniwersytet Przyrodniczy, KUL – Katolicki Uniwersytet Lubelski, **() – średnia dla całej grupy bez suplementacji.

WNIOSKI

1. Poziom magnezu w ok. 30% CRP studentów jest o ok. 20-30% niższy od wartości zlecanych co może być konsekwencją ich zbyt niskiej wartości energetycznej.
2. Zawartość cynku tylko w dwu grupach badanych osób (z 12) jest niższa od poziomu EAR i w 8 niższa od RDA.
3. Wskazana byłaby modyfikacja diet w produkty bogate w magnez i cynk lub rozsądna suplementacja preparatami tych pierwiastków, ponieważ w ponad 40% wzbogacanych diet suplementacja osiąga zbyt wysoki poziom.

Z. Marzec, W. Koch, A. Marzec

ASSESSMENT OF MAGNESIUM AND ZINC INTAKE AMONG STUDENTS FROM LUBLIN UNIVERSITIES WITH DIETARY SUPPLEMENTATION CONSIDERED

Summary

Magnesium and zinc content in daily food rations of students from three Lublin universities was determined in 2009 and 2010 and involved 402 and 129 randomly chosen women and men, respectively. Content of elements in whole reconstructed diets were estimated using flame AAS. Moreover, the level of supplementation was also calculated, based on the dietary recall. Average magnesium and zinc intakes were from 213 mg to 250 mg and from 256 mg to 361 mg and from 5.64 mg to 8.83 mg and from 7.53 mg to 13.85 mg in groups of women and men, respectively. The results suggest that in some cases supplementation was not necessary, because total intake of those elements was over the RDA values. Although it should be emphasized that average intake (with supplementation considered) was below upper level limits (UL).

PIŚMIENNICTWO

1. *Pasternak K.*: Magnez w fizjologii człowieka. *Biul. Magnezol.*, 1999; 4: 480-485.- 2. *Jarosz M., Bulchak-Jachymczyk B.* (red): Normy żywienia człowieka. PZWL, Warszawa, 2008.- 3. *Pasternak K., Horecka A., Kocot J.*: Biochemistry of zinc. *Annales UMCS s. DDD.*, 2010; 23: 19-26.- 4. *Socha K., Borawska M. H., Markiewicz H., Charkiewicz W. J.*: Ocena sposobu odżywiania studentek Wyższej Szkoły Kosmetologii i Ochrony Zdrowia w Białymstoku. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009; 42: 704-708.- 5. *Czapska D., Ostrowska L., Stefańska E., Karczewski J.*: Ocena zawartości wybranych składników mineralnych w całodziennych racjach pokarmowych studentów uczelni medycznej w latach 2003/2004 i 2008/2009. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009; 42: 723-727.- 6. *Charkiewicz A., E., Szpak A., Poniatowski B., Korecki J., Sawicki Z.*: Zawartość składników mineralnych w diecie mężczyzn zamieszkujących Białystok. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009; 43: 625-628.- 7. *Trafalska E., Grzybowski A.*: Trendy w spożyciu suplementów przez studentów Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. *Żyw. Człow. Metabol.*, 2009; 36: 48-54.- 8. *Borawska M. H., Socha K.*: Ocena sposobu odżywiania studentek Wyższej Szkoły Kosmetologii w Białymstoku. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005; 37 (supl): 597-600.- 9. *Bujko J., Myszkowska-Ryciak J., Nitka I.*: Ocena spożycia składników mineralnych wśród studentów SGGW w Warszawie. *Żyw. Człow. Metabol.*, 2005; 32 (supl.1): 655-659.- 10. *Bolesławska I., Przystawski J.*: Zawartość wybranych makropierwiastków w całodziennych racjach pokarmowych osób dorosłych z regionu Wielkopolski. *Żyw. Człow. Metabol.*, 2005; 32 (supl. 1): 129-136.
11. *Dybkowska E., Świdorski F., Waszkiewicz-Robak B.*: Spożycie składników mineralnych w polskiej diecie. *Żyw. Człow. Metabol.*, 2005; 32 (supl. 1): 200-204.- 12. *Olędzka R., Kozłowska B., Wiśniewska J., Moczyłowska I., Niedźwiedzka M., Jelińska M.*: Ocena poziomu spożycia wapnia,

fosforu i magnezu w całodziennych racjach pokarmowych studentów. *Żyw. Człow. Metabol.*, 2003; 30: 40-45.- 13. *Przysiężna E., Wasilewska A.*: Realizacja norm żywieniowych na wybrane składniki mineralne i grupy produktów spożywczych w dietach studentów Akademii Ekonomicznej we Wrocławiu. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2008; 41: 151-159.- 14. *Stefańska E., Ostrowska L., Czapska D., Karczewski J.*: Ocena poziomu spożycia wybranych składników mineralnych (K, Na, P, Ca, Mg, Fe, Zn) występujących w całodziennych racjach pokarmowych studentów AMB. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005; 37 (supl): 209-211.

Adres: 20-081 Lublin, ul. Staszica 4.

Dorota Skrajnowska, Barbara Bobrowska, Andrzej Tokarz, Marzena Kuras

WPLYW MIEDZI I RESWERATROLU NA ZAWARTOŚĆ WYBRANYCH PIERWIASTKÓW W GUZACH NOWOTWOROWYCH U SZCZURÓW

Katedra i Zakład Bromatologii Uniwersytetu Medycznego w Warszawie
Kierownik: dr hab. A. Tokarz, prof. nadzw.

Celem pracy było zbadanie czy jony miedzi i resweratrol obecne w diecie szczurów wpłyną na szybkość indukcji nowotworowej oraz zmiany w zawartości pierwiastków w tkance rakowej gruczołu sutkowego. Wykazano, że niezależnie od zastosowanej diety nie nastąpiło zahamowanie indukcji nowotworowej gruczołu sutkowego szczurów wywołane DMBA. W grupach suplementowanych Cu i resweratrolem wystąpiło wyraźne przyspieszenie tworzenia się guzów. W badanej tkance nowotworowej nastąpił wzrost ilości Fe i spadek Mg w porównaniu do zdrowej tkanki gruczołu sutkowego szczurów.

Hasła kluczowe: nowotwór piersi, wapń, magnez, cynk, żelazo, miedź, fosfor.
Key words: breast cancer, calcium, magnesium, zinc, iron, copper, phosphorus.

W oparciu o wyniki badań nad chemicznie indukowaną karcynogenezą u zwierząt doświadczalnych stwierdzono chemoprewencyjne właściwości związków polifenolowych (1, 2). Z kolei prokancerogenne działanie miedzi wiąże się z wytwarzaniem reaktywnych rodników tlenowych uszkadzających nici DNA oraz inicjowaniem procesu angiogenezy guza (3). Przeprowadzono wiele badań potwierdzających skuteczność stosowania chelatorów miedzi (np. penicylaminy, tetratiomolibdenianu, kaptoprylu, jonów cynku) w leczeniu przeciwnowotworowym (4, 5). W prezentowanej pracy jako chelator miedzi zastosowano resweratrol, ze względu na to że jest to związek naturalnie występujący w przyrodzie i wykazujący silne właściwości antyoksydacyjne (2). Grupy hydroksylowe polifenoli wchodząc w reakcje z wolnymi rodnikami, tworzą bardziej stabilne kompleksy. Polifenole kompleksując jony Cu (II) i Fe (II), mogą hamować aktywność enzymów np. oksydazy ksantynowej i procesów nasilających powstawanie wolnych rodników (1, 2, 6).

Celem pracy było uzyskanie odpowiedzi czy wzbogacenie diety w miedź lub resweratrol podawany łącznie z jonami miedzi wpłynie na szybkość indukcji nowotworowej oraz czy nastąpią zmiany w zawartości pierwiastków w tkance rakowej gruczołu sutkowego szczurów.

MATERIAŁ I METODY

W badaniach użyto samice szczurów szczepu *Sprague-Dawley*. Jony miedzi ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) w dawce 42,6 mg Cu/kg paszy oraz resweratrol w dawce 0,2 mg/kg mc. podawano w postaci wodnego roztworu w ilości 0,4 ml za pomocą sondy dożołądkowej od 40 dnia do 20 tygodnia życia. W celu wywołania nowotworu, szczurom z grup badanych podawano w 50 i 80 dniu życia, 80 mg/kg masy ciała DMBA (7,12 - dimetylobenzo[*a*]antracen). Dietę standardową (Labofeed H) (21,3 mg Cu/kg paszy) - podawano zwierzętom bez ograniczeń.

Materiał do badań stanowiły guzy gruczołu sutkowego. Analizowane pierwiastki oznaczono po mineralizacji na mokro w mineralizatorze mikrofalowym (MULTIWAVE, Anton Paar, Perkin Elmer). Zawartość P określono metodą spektrofotometryczną *Scheelego* (7), natomiast Ca, Mg, Fe i Zn metodą ICP-OES (Optima 3100XL, Perkin Elmer), a Cu metodą FAAS (PY-UNICAM 9100). Ocena odzysku przeprowadzono wykorzystując: NCS ZC 71001 Beef Liver (Cu – 118%; Fe – 109%; Ca – 115%; Zn – 105%; Mg – 96%; P – 103%).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Zastosowana dawka miedzi (dwukrotnie przekraczająca ilość w paszy), nie powodowała braku apetytu i utraty masy ciała szczurów, a nawet w grupie otrzymującej łącznie Cu i resweratrol masa ciała istotnie wzrosła (tab. I). Niezależnie od zastosowanej diety efektywność indukcji nowotworowej za pomocą DMBA wynosiła 100%. Występowały zarówno guzy pojedyncze jak i mnogie – maksymalnie do 6/szczura. Przy czym w grupie szczurów suplementowanych Cu i resweratrolem pierwsze wyczuwalne palpacyjnie guzy pojawiły się tydzień wcześniej niż w grupie na diecie standardowej (co przekłada się na około 6 miesięcy w odniesieniu do życia człowieka) (8) (tab. I). Zwiększone stężenie Cu stwierdzono w różnych typach nowotworów (9, 10). Wykazano, że mobilizacja miedzi endogennej, związanej w jądrze, przez resweratrol może wywoływać uszkodzenia i fragmentację DNA w ludzkich komórkach raka i tym samym indukować ich apoptozę (9, 11). Jednakże w dużej mierze uzależnione to jest od odpowiednio dobranej wysokiej dawki resweratrolu (2, 9, 12). Zastosowana w naszych badaniach ilość resweratrolu nie zadziałała ochronnie (prawdopodobnie ze względu na wysoką dodatkową podaż jonów miedzi) w stosunku do procesu tworzenia się guzów (tab. I).

Tabela I. Efektywność indukcji nowotworowej i wpływ zróżnicowanej diety na masę ciała szczurów

Table I. Tumor induction and body weight of rats in relation to diet

Rodzaj diety	Liczba guzów w grupie	Liczba guzów/ szczura	Czas pojawienia się guzów (tydzień)	Masa ciała (g)	
				$\bar{X} \pm SD$	
				grupa badana (DMBA+)	grupa kontrolna (DMBA-)
standard	9/9 (100%)	1-5	15	206 ± 8* (n=8)	253 ± 14 (n=6)
standard + Cu	9/9 (100%)	1-5	14	231 ± 22 (n=9)	210 ± 15 (n=7)
standard + Cu + resweratrol	12/12 (100%)	2-6	14	229 ± 13* (n=12)	192 ± 9 (n=8)

* – różnice istotne statystycznie dla stopnia istotności $p \leq 0,05$, * - statistical significance $p \leq 0,05$

Prezentowane badania wykazały, że wzbogacenie diety szczurów w Cu lub Cu i resweratrol powodowało istotny, dwukrotny wzrost zawartości Cu (i P) w tkance nowotworowej w stosunku do zdrowej (tab. II). Podwyższone stężenie Cu w tkankach nowotworowych prawdopodobnie, stymuluje rozwój guza w gruczole sutkowym, poprzez angiogenezę i oksydatywne uszkodzenie DNA (9, 10). Z kolei zwiększone stężenie P w guzach w porównaniu do tkanek zdrowych może wynikać z faktu, że rozwijający się guz potrzebuje dostarczenia większej porcji energii w postaci adenozyntrifosforanu (ATP) (13).

Z przeprowadzonych przez nas badań wynika, że niezależnie od zastosowanej diety w wyindukowanych guzach, nastąpił wzrost ilości Fe i spadek Mg w porównaniu do zdrowej tkanki gruczołu sutkowego (tab. II). Żelazo w wysokich stężeniach, zwłaszcza jeśli nastąpi uwolnienie z połączeń białkowych może inicjować peroksydację lipidów, uszkadzać komórki katalizując reakcję powstawania wolnych rodników i doprowadzać do mutacji DNA. Może także inicjować powstawanie stanu zapalnego oraz stymulować wzrost guza, poprzez nasilenie angiogenezy (10, 13). Otrzymane wyniki są zgodne z badaniami prowadzonymi przez innych badaczy (10, 14). Z kolei Mg jest niezbędny do powielania i naprawy DNA, a deficyt tego pierwiastka sprzyja mutacjom DNA prowadzącym do inicjacji pierwszego etapu karcinogenezy. Jednakże ochronna rola Mg w procesie nowotworzenia w dużej mierze zależy od stopnia zaawansowania choroby. W wielu pracach wykazano, że zmiana diety z ubogomagnezowej na normalną powoduje dramatyczny wzrost guzów, który w części można wytłumaczyć nasileniem angiogenezy, bowiem komórki śródbłonna są czułe na zewnątrzkomórkowy poziom tego kationu (15).

Zawartość wapnia i cynku w tkance nowotworowej była istotnie podwyższona jedynie w grupie suplementowanej Cu i resweratolem (tab. II). Pomimo znanych interakcji Zn-Cu, we wchłanianiu jelitowym oraz wiązaniu metalotioneiny, nie zaobserwowano istotnych zmian w ilości cynku w większości guzów (tab. II).

Tabela II. Porównanie zawartości pierwiastków w guzach gruczołu sutkowego szczurów (DMBA+), otrzymujących różnicowane diety w odniesieniu do tkanki zdrowej gruczołu sutkowego (DMBA-)

Table II. Comparing contents of minerals between tumor and health tissues of mammary glands of rats in relation to diet

Dieta →	Rodzaj diety					
	standard		standard + Cu		standard + Cu + resweratrol	
	guz	zdrowa tkanka	guz	zdrowa tkanka	guz	zdrowa tkanka
Cu (µg/g)	2,92±0,85 (n=7)	2,57±0,79 (n=5)	2,52±0,66* (n=8)	1,25±0,36 (n=7)	2,40±0,51* (n=10)	1,27±0,36 (n=8)
Zn (µg/g)	17,6±0,9 (n=7)	17,6±1,7 (n=5)	18,2±1,3 (n=8)	17,0±1,2 (n=7)	17,1±1,4* (n=10)	18,6±0,8 (n=8)
Fe (µg/g)	50,7±22,6* (n=7)	17,7±3,1 (n=5)	39,7±15,5* (n=8)	17,4±2,9 (n=7)	39,0±11,6* (n=10)	17,4±2,3 (n=8)
Mg (µg/g)	153,6±10,5* (n=7)	224,4±33,8 (n=5)	171,9±12,6* (n=8)	245,9±11,9 (n=7)	157,0±12,9* (n=10)	253,0±14,4 (n=8)
Ca (µg/g)	518,0±363 (n=7)	399,9±462 (n=5)	161,8±156,7 (n=8)	80,9±35,9 (n=6)	242,9±109,7* (n=10)	64,8±2,8 (n=8)
P (mg/g)	2,30±0,16 (n=7)	2,16±0,11 (n=5)	2,52±0,19* (n=8)	1,87±0,21 (n=7)	2,22±0,19* (n=10)	1,78±0,1 (n=8)

* – różnice istotne statystycznie w zawartości pierwiastków pomiędzy guzem i zdrową tkanką dla $p \leq 0,0$.

WNIOSKI

1. Niezależnie od zastosowanej diety (standardowa, Cu; Cu + resweratrol) nie wystąpiły różnice w indukcji nowotworowej gruczołu sutkowego szczurów pod wpływem DMBA.

2. Suplementacja diety wyłącznie jonami Cu lub w połączeniu z resweratrolem wyraźnie przyspieszała tworzenie się guzów.

3. Niezależnie od zastosowanej diety w guzach gruczołu sutkowego nastąpił wzrost ilości Fe i spadek Mg w porównaniu do zdrowej tkanki gruczołu sutkowego.

4. Dodatkowe wzbogacanie diety szczurów w Cu powodowało wzrost jej zawartości w guzie.

D. Skrajnowska, B. Bobrowska, A. Tokarz, M. Kuras

THE EFFECT OF COPPER AND RESVERATROL ON TUMOR CONCENTRATIONS OF TRACE ELEMENTS IN RATS

Summary

The aim of the study was to assess the impact of DMBA-induced rat breast cancer on the copper, zinc, calcium, magnesium and phosphorus concentrations in cancerous tissues (tumours) of rats in comparison with corresponding tissues of normal animals. Female Sprague-Dawley rats were divided into groups which, apart from the standard diet, were treated with copper ions or copper ions and resveratrol via gavage. In the study group, the rats were treated with a dose of 80 mg/body weight of DMBA (7,12-dimethyl-1,2- benz[*a*]anthracene) given in rapeseed oil at 50 and 80 days of age to induce

breast cancer (*adenocarcinoma*). After wet microwave mineralization of the tissues, phosphorus content was determined using Scheele's spectrophotometry, copper with FAAS (PU 9100) and the content of the remaining elements with the ICP-OES technique (Optima 3100XL, Perkin Elmer). Regardless of the diet (standard; Cu; Cu + resveratrol), DMBA-induced breast carcinogenesis was not inhibited. On the contrary, in the supplemented groups, tumorigenesis developed at a considerably faster rate. The induced tumors showed increased Fe and decreased Mg levels in contrast to those in the normal control tissue. Supplementation of the rat diet with Cu or Cu + resveratrol resulted in an increased copper level in the tumour.

PIŚMIENNICTWO

1. Hudson E.A., Dinh P.A., Kokubun T., Simmonds MS, Gescher A.: Characterization of potentially chemopreventive phenols in extracts of brown rice inhibit the growth of human breast and colon cancer cells. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2000; 9: 1163- 1170.- 2. Alkhalaf M., El-Mowafy A., Renno W., Rachid O, Ali A, and Al-Attayah R.: Resveratrol-induced Apoptosis In Human Breast Cancer Cells Is Mediated Primarily through the Caspase-3-dependent Pathway. *Arch. Medical Research*, 2008; 39: 162-168.- 3. Nasulewicz A., Opolski A.: Rola miedzi w procesie angiogenezy nowotworowej - implikacje kliniczne. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2002; 56 (6): 691-705.- 4. Cox C., Teknos TN, Barrios M., Brewer G.J., Dick R.D., Merajver S.D.: The role of copper suppression as an antiangiogenic strategy in head and neck squamous cell carcinoma. *Laryngoscope*, 2001; 111: 696-701.- 5. Brewer G.J., Dick R.D, Grover DK., LeClaire V., Tseng M., Wicha M., Pienta K., Redman B.G., Jahan T., Sondak V.K., Strawderman M., LeCarpentier G., Merajver S.D.: Treatment of metastatic cancer with tetrathiomolybdate, an anticopper, antiangiogenic agent: phase I study. *Clin. Cancer Res.*, 2000; 6: 1-10.- 6. Lodovici M., Guglielmi F., Meoni M., Dolara P.: Effect of natural phenolic acids on DNA oxidation *in vitro*. *Food Chem. Toxicol.*, 2001; 39: 1205-1210.- 7. Olędzka R., Woźniak J.: Analiza bromatologiczna. Jakość zdrowotna żywności, Wyd. Akademii Medycznej, Warszawa, 2007; 68-70.- 8. Quinn R.: Comparing rats to humans age: How old is my rat in people years? *Nutrition*, 2005; 21 (6): 775-777.- 9. Ahmad A., Syed F.A., Singh S., Hadi S.M.: Prooxidant activity of resveratrol in the presence of copper ions: Mutagenicity in plasmid DNA. *Toxicology Letters*, 2005; 159: 1-12.- 10. Naga Raju G.J., Sarita P., Ravi Kumar M., Rahana Murty G.A.V., Seetharami Reddy B., Lakshminarayana S., Vijayan V., Rama Lakshmi P.V.B., Satyanarayana Gavarasana, Bhuloka Reddy S.: Trace elements correlation study in malignant and normal breast tissue by PIXE technique. *Nucl. Instrum. Meth. Phys. Res.*, 2006; 247: 361-367.

11. Clement M.V., Hipara J.I, Chawdhury S.H., Pervaiz, S.: Chemopreventive agent resveratrol, a natural product derived from grapes, triggers CD95 signaling-dependent apoptosis in human tumor cells. *Blood*, 1998; 92: 996-1002.- 12. Hsu H.Y., Tsang S.F., Lin K.W., Yang S. C., Lin C. N.: Cell death induced by flavonoid glycosides with and without copper, *Food Chem. Toxicol.*, 2008; 46: 2394-2401.- 13. Durak I., Kavutcu M., Canbolat O, Isik AU, Akyol O: Concentrations of some major and minor elements in larynx tissues with and without cancer. *Bio Metals*, 1994; 7: 45-48.- 14. Cui Y., Vogt S., Olson N., Glass A.G., Rohan T.E.: Levels of zinc, selenium, calcium, and iron in benign breast tissue and risk of subsequent breast cancer. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 2007; 16 (8): 1682-1685.- 15. Anastassopoulou J., Theophanides T.: Magnesium – DNA interaction and the possible relation of magnesium to carcinogenesis. Irradiation and free radicals. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2002; 42 (1): 79-91.

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

Justyna E. Bojarska¹⁾, Ryszard Zadernowski¹⁾, Elżbieta Tońska²⁾

MAKROELEMENTY OWOCÓW TRUSKAWEK

¹⁾ Katedra Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
Kierownik: prof. dr hab. E. J. Borowska

²⁾ Katedra Towaroznawstwa i Analizy Żywności
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
Kierownik: prof. dr hab. E. Gujska

Oznaczono zawartość makroelementów, takich jak wapń, magnez, fosfor, sód i potas, w owocach jedenastu wybranych odmian truskawki. Zawartość wapnia i magnezu oznaczono techniką płomieniowej spektrometrii absorpcji atomowej. Sód i potas w owocach oznaczono techniką emisyjną, natomiast fosfor kolorymetryczną. Zawartość badanych makroelementów różniła się istotnie, w zależności od odmiany truskawek. Otrzymane wartości Ca, Mg, P, Na i K kształtowały się, odpowiednio, na poziomie: 160,4-200,8, 101,4-122,7, 213,4-234,8, 2,68-4,08 i 1330-1748 mg w 100 g suchej masy owoców.

Hasła kluczowe: makroelementy, owoce, truskawki, odmiany.

Key words: macroelements, fruits, strawberries, varieties.

Zarówno makroelementy, jak i pierwiastki śladowe, mają ogromne znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka – stanowią materiał budulcowy (Ca, P, Mg, S, F), wchodzą w skład związków o podstawowym znaczeniu dla procesów metabolicznych (Fe, Zn), odpowiadają za utrzymanie równowagi kwasowo-zasadowej i ciśnienie osmotyczne (Na, K, Ca, Mg), kurczliwość mięśni (Mg, Ca) i inne (1-3).

Owoce jagodowe, w tym truskawki, łatwo pobierają z gleby składniki mineralne, przez co charakteryzują się stosunkowo dużą ich zawartością w porównaniu do innych owoców. Stwierdzono, iż sezon wegetacyjny w niewielkim stopniu wpływa na średnią zawartość metali w truskawkach. Stosunkowo mały wpływ ma również rejon pochodzenia truskawek (4). Jednak Grembecka i współpr. (5), zaobserwowali znaczne zróżnicowanie w składzie mineralnym owoców należących do jednego gatunku.

Celem pracy było porównanie owoców wybranych odmian truskawek pod względem ich zasobności w składniki mineralne, takie jak: wapń, magnez, fosfor, sód i potas.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły owoce truskawek (*Fragaria x ananassa* D.) następujących odmian: 'Camarosa', 'Dukat', 'Elsanta', 'Heros', 'Honeoye', 'Kama', 'Kent', 'Onebor' ('Marmolada'), 'Polka', 'Senga Sengana' i 'Thuriga'. Owoce pochodziły z poletek doświadczalnych założonych na plantacji towarowej w Jarotach k/Olsztyna. Doświadczenie założono na glebie gliniastej III klasy bonitacyjnej, na płaskowyżu o lekkim nachyleniu w stronę południową. Możliwość pozyskania owoców z jednej plantacji stwarzała możliwość obiektywnego porównania odmian, rosnących w tych samych warunkach glebowo-klimatycznych.

Owoce każdej z odmian zbierano w stadium dojrzałości zbiorczej w odstępie 3-4 dni. Łączna masa próbki zbiorowej owoców danej odmiany wynosiła około 5 kg. Próbkę materiału badawczego pobierano w latach 2004-2005, z roślin losowo wybranych z każdej odmiany. Owoce po zebraniu z plantacji były selekcjonowane, odszypułkowane, myte i trzykrotnie przepłukiwane wodą destylowaną. Następnie owoce osuszano, zamrażano i składowano do czasu przeprowadzenia analiz w temperaturze -20°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$).

W celu oznaczenia zawartości wybranych pierwiastków próbkę mineralizowano w mieszaninie kwasów azotowego i nadchlorowego (3:1). Mineralizację przeprowadzono w elektrycznym aluminiowym bloku grzejnym z programowaniem temperatury (VELP DK 20 – formy VELD Scientifica, Włochy), w ciągu 4-6 godzin, podnosząc stopniowo temperaturę od 120°C do 200°C . Otrzymany bezbarwny mineralizat przenoszono do kolb miarowych o objętości 50 ml i uzupełniano wodą dejonizowaną do kreski. Równoległe z próbkami badanymi przygotowano próbki odczynnikowe.

Zawartość wapnia i magnezu w mineralizatach oznaczono techniką płomieniowej spektrometrii absorpcji atomowej (płomień acetylen-powietrze) według metody opisanej przez *Whiteside i Miner* (6). Oznaczenia wykonano przy użyciu spektrometru absorpcji atomowej Unicam 939 Solar – Anglia, wyposażonego w stację danych Optimus, korekcję tła (lampa deuterowa) oraz odpowiednie lampy katodowe. Oznaczając wapń, do wszystkich mierzonych roztworów stosowano dodatek 10% wodnego roztworu chlorku lantanu, w ilości zapewniającej końcowe stężenie La^{+3} wynoszące 1%.

Zawartość sodu i potasu oznaczono techniką emisyjną (płomień acetylen-powietrze) (6). Oznaczenia wykonano przy użyciu pracującego w systemie emisyjnym spektrometru absorpcji atomowej Pye Unicam SP 2900 – Anglia.

Zawartość fosforu w mineralizatach oznaczono metodą kolorymetryczną opisaną przez *Żegarską i współpr.* (7). Pomiaru absorbancji dokonano z zastosowaniem spektrofotometru Spectrophotometr VIS 6000 – firmy KRÜSS – OPTRONIC (Niemcy), przy długości fali $\lambda=610$ nm.

Ponadto oznaczono suchą masę owoców metodą wagową (PN-90/A-75101/03). Wartości zawarte w niniejszej pracy stanowią średnie z dwóch lat badań, oznaczone w trzech powtórzeniach każdego roku. Istotność różnic pomiędzy wynikami średnimi, na poziomie istotności $\alpha=0,05$, wyliczano przy użyciu programu

komputerowego Statistica PL 9, stosując test *Tukey'a*. Dla analizowanych prób określono również współczynnik korelacji *Pearson'a*.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Średnie zawartości poszczególnych składników w 100 g świeżej masy owoców badanych odmian kształtowały się na poziomie: wapń 15,8-20,9 mg, magnez 10,8-13,5 mg, fosfor 21,5-26,5 mg, sód 0,30-0,41 mg i potas 142,9-189,6 mg. Otrzymane wyniki były zbliżone do uzyskanych przez *Markiewicza* i współpr. (8) oraz *Szteke* i współpr. (4). Zawartość wapnia otrzymana w niniejszej pracy kształtowała się na nieco niższym poziomie niż podaje literatura (3, 8-11). Zbliżone do niniejszych wartości dla magnezu oraz fosforu przedstawili *Kunachowicz* i współpr. (9, 10) oraz *Markiewicz* i współpr. (8). W owocach badanych odmian truskawek zawartość sodu była niższa, a potasu wyższa, w odniesieniu do wartości przedstawionych przez *Kunachowicza* i współpr. (9, 10) oraz *Łosia-Kuczerę* i *Piekarską* (12).

W 2004 roku zaobserwowano dodatnie korelacje pomiędzy wapniem i magnezem (0,77) oraz wapniem i fosforem (0,82). Pierwszą współzależność potwierdza *Szteke* i współpr. (4); druga nie została opisana w dostępnej literaturze. Natomiast inne współzależności opisane przez powyższego autora (4), nie wystąpiły w badanych owocach. Zaobserwowany w niniejszej pracy synergizm występowania wymienionych pierwiastków dotyczył wyłącznie 2004 roku, mógł więc być wynikiem zewnętrznych oddziaływań atmosferycznych, bądź agronomicznych. Wybrane odmiany truskawek porównywano pod względem zawartości badanych makroelementów w suchej masie owoców. Wartości średnie, uzyskane z dwóch lat badań, przedstawiono w tabeli I.

Tabela 1. Zawartość makroelementów w owocach truskawek [mg/100g suchej masy]

Table 1. Content of macroelements in strawberry fruits [mg/100g of dry weight]

Odmiany	Wapń (Ca)	Magnez (Mg)	Fosfor (P)	Sód (Na)	Potas (K)
Camarosa	173,8±7,3 ^{bcd}	103,8±3,1 ^{ab}	234,8±11,8 ^a	3,17±0,18 ^{ab}	1512±44 ^{abcd}
Dukat	180,9±5,3 ^{bcde}	106,8±3,9 ^{ab}	215,3±5,3 ^a	3,01±0,12 ^{ab}	1449±50 ^{abc}
Elsanta	170,4±3,1 ^{bc}	106,1±2,7 ^{ab}	218,9±11,8 ^a	3,46±0,19 ^b	1604±44 ^{bcde}
Heros	190,2±6,4 ^{cde}	110,6±2,7 ^{abc}	222,5±16,0 ^a	2,98±0,33 ^{ab}	1473±34 ^{abcd}
Honeoye	207,3±15,4 ^{ef}	122,7±3,1 ^c	232,9±11,0 ^a	4,08±0,11 ^c	1656±37 ^{cde}
Kama	160,4±3,1 ^{ab}	106,5±3,7 ^{ab}	214,0±5,6 ^a	2,97±0,08 ^{ab}	1443±45 ^{ab}
Kent	224,3±15,4 ^f	116,8±6,6 ^{abc}	232,4±14,5 ^a	3,41±0,18 ^b	1523±42 ^{abcd}
Onebor	200,8±3,2 ^{def}	117,5±2,4 ^{bc}	234,6±9,8 ^a	2,98±0,20 ^{ab}	1748±19 ^e
Polka	137,7±7,1 ^a	118,2±6,1 ^{bc}	213,4±7,4 ^a	2,68±0,15 ^a	1662±69 ^{de}
Senga Sengana	168,2±8,6 ^{bc}	112,0±4,7 ^{abc}	227,2±6,3 ^a	3,15±0,19 ^{ab}	1475±78 ^{abcd}
Thuriga	173,8±10,1 ^{bcd}	101,4±1,7 ^a	220,6±17,3 ^a	3,18±0,19 ^{ab}	1330±41 ^a

Wartości w tej samej kolumnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie ($p < 0,05$).

Zaobserwowano istotne różnice w zawartości badanych pierwiastków pomiędzy odmianami. Zawartość wapnia wynosiła od 137,7 mg/100g s.m. dla odmiany 'Polka', do 224,3 mg/100g s.m. dla odmiany 'Kent'. Stwierdzono, iż owoce odmian 'Kent', 'Honeoye' oraz 'Onebor' charakteryzują się najwyższą, spośród badanych odmian, zawartością wapnia, wynoszącą powyżej 200,0 mg w 100g suchej masy owoców.

Zawartość magnezu w suchej masie badanych owoców wynosiła od 101,4 mg do 122,7 mg/100g. Istotnie wyższą od pozostałych odmian, zawartość magnezu, stwierdzono dla owoców odmiany 'Honeoye'. Ponadto wysoką zawartością omawianego pierwiastka charakteryzowały się owoce odmian 'Polka', 'Onebor' oraz 'Kent' (ponad 116 mg/100 g s.m.).

Stwierdzono, iż zawartość fosforu w suchej masie owoców nie była zróżnicowana istotnie statystycznie dla badanych odmian i wynosiła od 213,4 do 234,8 mg w 100 g. Najwyższą, wynoszącą ponad 230 mg fosforu w 100g suchej masy owoców, zaobserwowano w odmianach 'Camarosa', 'Onebor', 'Honeoye' oraz 'Kent'.

Analizowana zawartość sodu wynosiła od 2,68 mg do 4,08 mg w 100 g suchej masy owoców. Stwierdzono, iż jedynie owoce odmiany 'Honeoye' charakteryzują się istotnie wyższą zawartością badanego pierwiastka. Wysoką zawartość sodu, wynoszącą ponad 3,4 mg w 100g s.m., stwierdzono ponadto dla odmian 'Elsanta' oraz 'Kent'.

Zawartość potasu w suchej masie owoców truskawek kształtowała się na poziomie od 1330 do 1748 mg w 100g. Najwyższe wartości dotyczące badanego pierwiastka stwierdzono w owocach odmian 'Onebor', 'Polka', 'Honeoye' i 'Elsanta'.

WNIOSKI

Wykazano, iż owoce wybranych odmian truskawek różnią się pod względem zawartości badanych makroelementów. Stwierdzono, iż najbardziej zasobnymi w badane pierwiastki były owoce odmian: 'Kent' – o wysokiej zawartości wapnia, magnezu, sodu i potasu, 'Honeoye' – magnezu, sodu, wapnia, fosforu i potasu, 'Onebor' – potasu, fosforu, wapnia i magnezu, 'Polka' – magnezu i potasu, a także 'Elsanta', które wyróżniały się pod względem zawartości sodu i potasu.

J. E. Bojarska, R. Zadernowski, E. Tońska

MACROELEMENTS OF STRAWBERRY FRUITS

Summary

The determination of macroelements, such as calcium, magnesium, phosphorus, sodium and potassium, was made in fruits of chosen eleven cultivars of strawberries. The content of calcium and magnesium were determined by flame atomic absorption spectrometry. The sodium and potassium in fruits were determined by the emission technique, phosphorus by spectrophotometric methods. Concentrations of macroelements in the analyzed fruits differed significantly, depending on the variety.

The contents of Ca, Mg, P, Na and K were, respectively, as follows: 160,4-200,8, 101,4-122,7, 213,4-234,8, 2,68-4,08 and 1330-1748 mg per 100 g of dry weight of fruits.

PIŚMIENNICTWO

1. *Olędzka R.*: Wpływ metali i innych substancji obcych na biodostępność mikroelementów. *Bromatol. Chem. Toksykol.*, 1999; 33 (3): 207-213.- 2. *Brzozowska A.*: Składniki mineralne w żywności człowieka, Wyd. AR, Poznań, 2002; 23- 3. *Sikorski Z.E.*: Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywnościowych, Wyd. WNT, Warszawa, 1994; 80-81.- 4. *Szteke B., Jędrzejczak R., Ręczajska W.*: Charakterystyka składu mineralnego owoców truskawek. *Pr. Inst. Lab. Bad. Przem. Spoż.*, 2006; 61: 27-38.- 5. *Grembecka M., Pankowska A., Gallas-Chrulska A., Szefer P.*: Owoce jako niezbędny składnik zdrowej diety człowieka. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009; 42 (3): 782-786.- 6. *Whiteside P., Miner B.*: *Pye Unicam Atomic Absorption Data Book*, Pye Unicam LTD, Cambridge, England, 1984.- 7. *Żegarska Z.*: Ćwiczenia z analizy żywności, Wyd. UWM, Olsztyn, 2000.- 8. *Markiewicz E., Zadernowski R., Tońska E., Bojarska J.E.*: Zawartość wybranych makroelementów w owocach, Konferencja Naukowa „Proekologiczna produkcja sadownicza z uwzględnieniem roślin mniej znanych”, Olsztyn, 25-26 czerwca 2009.- 9. *Kunachowicz H., Nadolna I., Iwanow K., Przygoda B.*: Wartość odżywcza wybranych produktów spożywczych i typowych potraw, Wyd. PZWL, Warszawa, 1997; 74-77.- 10. *Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K.*: Tabele wartości odżywczej produktów spożywczych, Wyd. IŻŻ, Warszawa, 1998; 527-534.
11. *Piekarska J., Łoś-Kuczera M.*: Skład i wartość odżywcza produktów spożywczych, Wyd. PZWL, Warszawa, 1983; 211.- 12. *Łoś-Kuczera M., Piekarska J.*: Skład i wartość odżywcza produktów spożywczych, Część II-VII, Wyd. PZWL, Warszawa, 1988.

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

Justyna E. Bojarska¹⁾, Ryszard Zadernowski¹⁾, Elżbieta Tońska²⁾

MIKROELEMENTY OWOCÓW TRUSKAWEK

¹⁾Katedra Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
Kierownik: prof. dr hab. E. J. Borowska

²⁾Katedra Towaroznawstwa i Analizy Żywności
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
Kierownik: prof. dr hab. E. Gujska

Oznaczono zawartość żelaza, cynku, miedzi i manganu w owocach jedenastu wybranych odmian truskawki. Analizy wykonano techniką płomieniowej spektrometrii absorpcji atomowej. Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu komputerowego Statistica PL 9.0. W celu określenia istotności różnic pomiędzy wynikami przeprowadzono analizę wariancji (ANOVA), na poziomie $\alpha=0,05$, stosując test Tukey'a. Zawartość badanych mikroelementów w owocach różniła się istotnie, w zależności od odmiany truskawek. Otrzymane wartości Fe, Zn, Cu i Mn kształtowały się, odpowiednio, na poziomie: 2,73-5,95, 0,89-1,28, 0,44-1,74 i 1,73-2,87 mg w 100 g suchej masy owoców.

Hasła kluczowe: mikroelementy, owoce, truskawki, odmiany.

Key words: microelements, fruits, strawberries, varieties.

Mikroelementy to pierwiastki, których zawartość w organizmach żywych wynosi poniżej 0,01%. Należą do nich m.in. żelazo, cynk, miedź, mangan, fluor, jod, selen, chrom. Dzielne zapotrzebowanie na te niezbędne składniki jest niższe niż 100 mg/osobę (1). Jednak te niewielkie ilości mają istotny wpływ na funkcjonowanie organizmu ludzkiego: wchodzą w skład związków o podstawowym znaczeniu dla procesów metabolicznych (np. Fe, Zn, Cu), spełniają rolę regulatorów reakcji zachodzących w organizmie człowieka (np. Se, Mn, Cr) i inne (2, 3).

Truskawki, należące do owoców jagodowych, łatwo pobierają z gleby składniki mineralne, wobec czego są surowcem o znacznej ich zawartości (4). Jak donoszą Szteke i współpr. (5), sezon wegetacyjny i rejon pobrania próbek w niewielkim stopniu wpływają na średnią zawartość metali w truskawkach. Wyjątek stanowiła wyższa zawartość żelaza w próbkach pochodzących z województwa kujawsko-pomorskiego oraz kadmu z województwa małopolskiego.

Polska jest czołowym producentem owoców truskawek w Europie i na świecie. Wynikająca z tego faktu dostępność omawianych owoców stwarza potrzebę ich oceny jakościowej. Za cel pracy przyjęto porównanie owoców najbardziej powszechnych w Polsce odmian truskawek pod względem ich zasobności w wybrane pierwiastki śladowe – żelazo, cynk, miedź i mangan.

MATERIAŁ I METODY

W pracy badano owoce jedenastu odmian truskawek (*Fragaria x ananassa* D.): ‘Camarosa’, ‘Dukat’, ‘Elsanta’, ‘Heros’, ‘Honeoye’, ‘Kama’, ‘Kent’, ‘Onebor’ (‘Marmolada’), ‘Polka’, ‘Senga Sengana’ i ‘Thuriga’. W celu ich obiektywnego porównania pod względem składu chemicznego owoców, starano się zredukować czynniki mogące mieć dodatkowy wpływ na badane parametry. Owoce pozyskiwano z poletek doświadczalnych założonych w Jarotach k/Olsztyna, na glebie gliniastej III klasy bonitacyjnej. Próbkę materiału badawczego pobierano w latach 2004-2005, z roślin losowo wybranych z każdej odmiany. Owoce selekcjonowano, szypułkowano, myto i trzykrotnie przepłukiwano wodą destylowaną. Następnie owoce osuszano, zamrażano i składowano do czasu przeprowadzenia analiz w temperaturze -20°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$).

W celu oznaczenia zawartości wybranych pierwiastków próbki mineralizowano w mieszaninie kwasów azotowego i nadchlorowego (3:1). Mineralizację przeprowadzono w elektrycznym aluminiowym bloku grzejnym z programowaniem temperatury (VELP DK 20 – formy VELP Scientifica, Włochy), w ciągu 4-6 godzin, podnosząc stopniowo temperaturę od 120°C do 200°C . Otrzymany bezbarwny mineralizat przenoszono do kolb miarowych o objętości 50 ml i uzupełniano wodą dejonizowaną do kreski. Równoległe z próbkami badanymi przygotowano próbki odczynnikowe.

Zawartość Fe, Zn, Cu i Mn w mineralizatach oznaczono techniką płomieniowej spektrometrii absorpcji atomowej (płomień acetylen-powietrze) według metody opisanej przez *Whiteside i Miner* (6). Oznaczenia wykonano przy użyciu spektrometru absorpcji atomowej Unicam 939 Solar – Anglia, wyposażonego w stację danych Optimus, korekcję tła (lampa deuterowa) oraz odpowiednie lampy katodowe.

Ponadto oznaczono suchą masę owoców metodą wagową (PN-90/A-75101/03). Wartości zawarte w niniejszej pracy stanowią średnie z dwóch lat badań, oznaczone w trzech powtórzeniach każdego roku. Istotność różnic pomiędzy wynikami średnimi, na poziomie istotności $\alpha=0,05$, wyliczano przy użyciu programu komputerowego Statistica PL 9.0, stosując test *Tukey'a*.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Średnie zawartości poszczególnych składników w 100 g świeżej masy owoców badanych odmian kształtowały się na poziomie: żelazo 0,32-0,68 mg, cynk około 0,11 mg, miedź 0,05-0,16 mg, mangan około 0,22 mg. Otrzymane wyniki korespondują z danymi literaturowymi (5, 7-12). Jednocześnie inni autorzy (4, 13-15) podają wyższą, niż otrzymana w niniejszej pracy, zawartość cynku w świeżej masie owoców truskawek. Zawartość miedzi, opisana przez powyższych autorów, kształtowała się nieco niżej niż stwierdzono w niniejszym doświadczeniu, mianowicie na poziomie 0,04 mg/100 g części jadalnych. Ponadto istotnie, bo

niemal czterokrotnie, wyższą zawartość manganu stwierdził *Markiewicz* i współpr. (14).

Wybrane odmiany truskawek porównywano pod względem zawartości badanych mikroelementów w suchej masie owoców. Wartości średnie, uzyskane z dwóch lat badań, przedstawiono w tabeli I.

Tabela I. Zawartość mikroelementów w owocach truskawek [mg/100 g suchej masy]

Table I. Content of microelements in strawberry fruits [mg/100 g of dry weight]

Odmiany	Żelazo (Fe)	Cynk (Zn)	Miedź (Cu)	Mangan (Mn)
Camarosa	5,30±0,65 ^{de}	0,89±0,08 ^a	1,06±0,06 ^f	1,79±0,08 ^a
Dukat	2,74±0,25 ^a	0,93±0,04 ^{ab}	0,44±0,05 ^a	2,06±0,17 ^{abc}
Elsanta	3,62±0,43 ^{ab}	0,94±0,04 ^{ab}	0,80±0,05 ^{de}	1,97±0,06 ^{abc}
Heros	3,83±0,88 ^b	1,00±0,15 ^{ab}	0,87±0,07 ^e	1,91±0,08 ^{ab}
Honeoye	3,93±0,69 ^b	1,13±0,05 ^{bc}	0,60±0,07 ^{bc}	2,31±0,09 ^c
Kama	5,96±0,82 ^e	1,13±0,07 ^{bc}	0,50±0,06 ^{ab}	1,91±0,05 ^{ab}
Kent	3,47±0,20 ^{ab}	1,04±0,05 ^{ab}	1,74±0,14 ^g	2,87±0,34 ^d
Onebor	5,11±1,16 ^{cde}	1,28±0,03 ^c	0,74±0,04 ^{cde}	2,22±0,04 ^{cd}
Polka	4,03±0,47 ^b	0,94±0,05 ^{ab}	0,58±0,07 ^{ab}	1,81±0,09 ^a
Senga Sengana	4,27±0,75 ^{bc}	0,97±0,08 ^{ab}	0,83±0,04 ^e	1,96±0,09 ^{abc}
Thuriga	4,46±0,95 ^{bcd}	0,91±0,04 ^{ab}	0,65±0,08 ^{bcd}	1,74±0,05 ^a

Wartości w tej samej kolumnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie ($p < 0,05$).

Stwierdzono istotne różnice w zawartości badanych pierwiastków pomiędzy odmianami. Zawartość żelaza w suchej masie owoców truskawek wahała się od 2,73 do 5,95 mg żelaza/100g. Największą jego zawartość, ponad 5,0 mg w 100 g suchej masy, stwierdzono w owocach odmian ‘Kama’, ‘Camarosa’ i ‘Onebor’. Owoce odmiany ‘Dukat’ charakteryzowały się natomiast znacznie niższą zawartością omawianego składnika, stanowiącą około 50% najwyższej zaobserwowanej wielkości. Zawartość cynku w badanych owocach truskawek kształtowała się na poziomie od 0,89 mg do 1,28 mg w 100 g suchej masy. Pod względem ilości omawianego pierwiastka wyróżniały się owoce odmian ‘Onebor’, ‘Kama’ i ‘Honeoye’ (ponad 1,1 mg/100 g s.m.). Stwierdzono znaczne zróżnicowanie zawartości miedzi w suchej masie owoców badanych odmian truskawek. Istotnie wyższą zawartość badanego pierwiastka zaobserwowano w owocach odmian ‘Kent’ oraz ‘Camarosa’, gdzie wartość miedzi zanotowana dla owoców ‘Kenta’ (1,74 mg/100 g s.m.) była dwukrotnie wyższa od średniej zawartości omawianego pierwiastka w owocach pozostałych badanych odmian. Owoce truskawek zawierały średnio od 1,73 do 2,87 mg manganu w 100 g suchej masy. Stwierdzono, iż najwyższą zawartością manganu, wynoszącą ponad 2,2 mg w 100 g s.m., charakteryzowały się owoce odmian ‘Kent’, ‘Honeoye’ oraz ‘Onebor’.

WNIOSKI

Uzyskane wyniki pozwalają domniemywać, iż zawartość mikroelementów w owocach truskawek jest zależna od ich odmiany. Spośród badanych odmian, owoce 'Kamy' wyróżniły się pod względem wysokiej zawartości żelaza i cynku, 'Kenta' – miedzi i manganu, 'Onebora' – cynku, żelaza i manganu, 'Camarosy' – żelaza i miedzi oraz 'Honeoye' – manganu i cynku.

J. E. Bojarska, R. Zadernowski, E. Tońska

MICROELEMENTS OF STRAWBERRY FRUITS

Summary

The determination of ferrum, zinc, copper and manganese, was made in fruits of chosen eleven cultivars of strawberries. The analysis was determined by flame atomic absorption spectrometry. Obtained results of researches were statistically analyzed using the Statistica 9.0 PL (StatSoft Poland) program. In order to indicate significance of differences between samples analysis of variance (ANOVA) with Tukey's test of $p=0.05$ significance level was used. The concentrations of microelements in the analyzed fruits differed significantly, depending on the variety of strawberries. The contents of Fe, Zn, Cu and Mn were, respectively, as follows: 2.73-5.95, 0.89-1.28, 0.44-1.74 and 1.73-2.87 mg per 100 g of dry weight of fruit.

PIŚMIENICTWO

1. Śmigielska H., Lewandowicz G., Gawęcki J.: Biopierwiastki w żywności. Przem. Spoż., 2005; 7: 28-32.– 2. Olędzka R.: Wpływ metali i innych substancji obcych na biodostępność mikroelementów. Bromatol. Chem. Toksykol., 1999; 33 (3): 207-213.– 3. Brzozowska A.: Składniki mineralne w żywieniu człowieka. Wyd. AR, Poznań, 2002; 23.– 4. Wojciechowska-Mazurek M., Zawadzka T., Karłowski K., Starska K., Ćwiek-Ludwicka K., Brulińska-Ostrowska E.: Zawartość ołowiu, kadmu, rtęci, cynku i miedzi w owocach z różnych regionów Polski. Roczn. PZH, 1995; 46 (3): 223-238.– 5. Szteke B., Jędrzejczak R., Ręczajska W.: Charakterystyka składu mineralnego owoców truskawek. Pr. Inst. i Lab. Bad. Przem. Spoż., 2006; 61: 27-38.– 6. Whiteside P., Miner B.: Pye Unicam Atomic Absorption Data Book, Pye Unicam LTD, Cambridge, England, 1984.– 7. Cabrera C., Lorenzo M.L., Lopez M.C.: Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of cadmium, copper, iron, lead and selenium in fruit slurry: Analytical Application to nutritional and toxicological quality control. J. AOAC Intern., 1995; 78 (4): 1061-1067.– 8. Ellen G., van Loon J.W., Tols K.: Heavy metals in vegetables grown in the Netherlands and in domestic and imported fruits. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 1990; 190: 34-39.– 9. Falandyś J., Kotecka W.: Zawartość manganu, miedzi, cynku i żelaza w owocach woj. gdańskiego i elbląskiego. Bromatol. Chem. Toksykol., 1993; 26 (3): 171-173.– 10. Kunachowicz H., Nadolna I., Iwanow K., Przygoda B.: Wartość odżywcza wybranych produktów spożywczych i typowych potraw. Wyd. PZWL, Warszawa, 1997; 74-77.

11. Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K.: Tabele wartości odżywczej produktów spożywczych. Wyd. IŻŻ, Warszawa, 1998; 527, 534.– 12. Łoś-Kuczera M., Piekarska J.: Skład i wartość odżywcza produktów spożywczych, Część II-VII, PZWL, Warszawa, 1988.– 13. Marzec Z., Kunachowicz H., Iwanow K., Rutkowska U.: Tabele zawartości pierwiastków śladowych w produktach spożywczych. Pr. IŻŻ, Warszawa, 1992; 90.– 14. Markiewicz E., Zadernowski R., Tońska E., Bojarska J.E.: Zawartość wybranych makroelementów w owocach. Konf. Nauk. „Proekologiczna produkcja sadownicza z uwzględnieniem roślin mniej znanych”, Olsztyn, 2009.– 15. Zalewski W., Oprządek K., Syrocka K., Lipińska J., Jaroszyńska J.: Zawartość pierwiastków szkodliwych dla zdrowia w owocach i warzywach uprawianych w województwie siedleckim. PZH, 1994; 45 (1-2): 19-26.

Ewa Stasiuk, Piotr Przybyłowski

ZAWARTOŚĆ WAPNIA I MAGNEZU W PRÓBKACH MLEKA RÓŻNEGO POCHODZENIA

Katedra Towaroznawstwa i Zarządzania Jakością
Wydział Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa Akademii Morskiej w Gdyni
Kierownik: prof. dr hab. inż. *P. Przybyłowski*

Wapń i magnez należą do pierwiastków alkalicznych, które są obecne w żywności. Źródłem wapnia w diecie człowieka jest głównie mleko i produkty mleczarskie. Celem tej pracy było porównanie zawartości wapnia i magnezu występujących w próbkach mleka różnego pochodzenia. Materiał badawczy stanowiło mleko kobiece (10), mleko krowie (10), mleko owcze (10), mleko, kozie (10) oraz mleko kobyłe (2).

Hasła kluczowe: wapń, magnez, mleko kobiece, mleko ssaków.

Key words: calcium, magnesium, woman milk, mammal milk.

W obecnych czasach coraz więcej uwagi poświęca się żywieniu człowieka. Powstają nowe produkty, które są kierowane do konkretnych grup konsumentów, aby poprzez odpowiednie żywienie przeciwdziałać określonym chorobom. Np. zagrożenie osteoporozą jest szczególnie ważne dla kobiet w wieku pomenopauzalnym. Związane jest to z pobieraniem wapnia z kości, co powoduje ich rzeszotowanie. Wapń jest też pierwiastkiem bardzo ważnym w okresie dojrzewania człowieka, wtedy gdy kształtowany jest jego kościec. Z kolei magnez jest pierwiastkiem obecnym w organizmie człowieka i wpływa na działanie układu nerwowego oraz krwionośnego. Pozostaje on też w pewnej równowadze z wapniem i w przypadku zbyt dużego spożycia magnezu w stosunku do wapnia istnieje możliwość hamowania wzrostu kości (1-3). Dlatego też ważne jest dostarczanie organizmowi ludzkiemu wapnia i magnezu. Źródłem obu tych metali, szczególnie wapnia, jest mleko i jego przetwory, a zwłaszcza sery dojrzewające. Celem tej pracy było określenie i porównanie zawartości wapnia i magnezu w próbkach mleka różnych ssaków oraz w próbkach mleka kobiecego.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiło mleko kobiece (10 próbek) oraz mleko pochodzące od takich ssaków, jak: krowy (10 próbek), kozy (10 próbek), owce (10 próbek) i kobyły (2 próbki). Kobiety pochodziły z różnych stron Polski i były w wieku 19-41

lat. Mleko było pobierane od piątej do dziewiątej doby po porodzie. Mleko ssaków pochodziło z gospodarstw zlokalizowanych w województwie pomorskim. W każdym gospodarstwie pobierano po dwie próbki od zwierząt w różnym wieku i innym okresie laktacji.

Wapń i magnez oznaczano za pomocą spektrometrii atomowej z atomizacją płomieniową (płomień acetylen – powietrze). Wapń analizowano techniką emisyjną (przy długości fali 422,7 nm) a magnez absorpcyjną (przy długości fali 202,6 nm). Próbkę mleka mineralizowano za pomocą mineralizacji mikrofalowej ciśnieniowej na mokro. Do mineralizacji pobierano 2 ml mleka i dodawano 5 ml kwasu azotowego (HNO_3). Przeprowadzono dwie serie mineralizacji. Każda próbka była analizowana powtórnie. Próbkę odniesienia stanowił standard roboczy.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wyniki badań zawartości wapnia i magnezu dla różnych próbek mleka przedstawiono w tabeli I.

Tabela I. Średnia zawartość wapnia i magnezu w próbkach mleka

Table I. The average content of calcium and magnesium in samples of milk

Rodzaj mleka	Zawartość wapnia [mg/dm^3]		Zawartość magnezu [mg/dm^3]	
	Zakres	Średnia zawartość \pm SD	Zakres	Średnia zawartość \pm SD
Kozie (n=10)	662-1064	827 \pm 141	109-182	136 \pm 23
Kobyle (n=2)	494-556	525	56-77	65
Krowie (n=10)	684-1095	801 \pm 141	84-135	106 \pm 19
Owce (n=10)	871-1750	1258 \pm 281	119-229	171 \pm 34
Kobiece (n=10)	120-263	171 \pm 40	22-35	28 \pm 4

Najwyższe zawartości wapnia wykazywały próbki mleka owczego – średnio 1258 mg/l (zakres 871-1750 mg/l). Stosunkowo niska była zawartość wapnia w mleku krowim, średnio tylko 801 mg/l. W grupie tej były jednak największe różnice między poziomem minimalnym i maksymalnym (odpowiednio 684 i 1095 mg/l). Z danych literaturowych wynika, że zawartość wapnia w mleku krowim kształtowała się na wyższych poziomach – ok. 1400 mg/l (4, 5). Z kolei mleko kobyle wykazywało zawartość wapnia średnio na poziomie 525 mg/l, jednak tu liczność próbek była mała (n=2). Analizując poziomy zawartości wapnia w badanych próbkach mleka można zauważyć, że najniższą ilość tego pierwiastka zawierało mleko kobiece – średnio 171 mg/l. Mleko kobiece było pobierane do badań w pierwszej fazie laktacji.

Z kolei analizując zawartość magnezu w próbkach badanego mleka ssaków stwierdzono także najwyższą ilość tego pierwiastka w mleku owczym – średnio na poziomie 171 mg/l (zakres 119-229 mg/l). Nieco mniejsze ilości magnezu

wykazywały próbki mleka koziego – średnio 136 mg/l (zakres 109-182 mg/l). Z kolei w mleku krowim zawartość magnezu wyniosła średnio - 106 mg/l (zakres 84 - 135 mg/l). Podobne zawartości magnezu w mleku krowim stwierdzili *Rodriguez* i współpr. oraz *Moreno-Rojas* i współpr. (4, 5). Natomiast w mleku kobyli stwierdzono jeszcze niższy poziom magnezu - średnio 65 mg/l, zaś najmniejszą ilość tego pierwiastka wykazywało mleko kobiece, w którym średnia zawartość wynosiła 28 mg/l, przy zakresie 22-35 mg/l.

Z przeprowadzonych badań dotyczących diet ludzi starszych i studentów wynika, że nie zawsze z pożywieniem dostarczana jest odpowiednia ilość wapnia i magnezu. Stąd też popularna jest suplementacja diety preparatami zawierającymi te minerały. Nie zawsze wiedza na temat minerałów jest dostateczna. Dlatego też zdarzają się sytuacje, że pomimo przyjmowania suplementów diety braku wapnia i magnezu w diecie człowieka nie są dostatecznie uzupełniane (6, 7).

Jak podaje *Zmarlicki* (3) najwięcej wapnia w diecie dostarczają sery dojrzewające. Mleko kozie i owcze i ich przetwory (głównie sery), oprócz mleka krowiego i jego przetworów, coraz częściej są produktami dostępnymi w sklepach dla konsumentów. Można więc sądzić, że wprowadzając sery owcze do diety poprawi się bilans wapnia i magnezu w organizmie ludzkim.

WNIOSKI

1. Spośród badanych próbek mleka ssaków najwyższą zawartość wapnia i magnezu wykazywały próbki mleka owczego.

2. Do uzupełnienia wapnia i magnezu w diecie najlepiej nadaje się mleko owcze oraz jego przetwory.

E. Stasiuk, P. Przybyłowski

CONTENT OF CALCIUM AND MAGNESIUM IN SAMPLES OF MILK DIFFERENT ORIGIN

Summary

In this paper the contents of calcium and magnesium in samples of human milk and other mammals' milk have been presented. Animals' milk has been collected from Pomerania Region and human milk has been collected from women from 19 to 41 years old. Examination of calcium and magnesium was done by atomic spectrometry. Samples of cow milk contained lower level of calcium than those presented in the literature. Ewe milk contained the greatest amount of calcium and magnesium and therefore ewe milk is good source of those minerals in human diet.

PIŚMIENNICTWO

1. *Hamulka J., Wawrzyniak A., Starzak-Jankowska E.*: Udział suplementów w spożyciu składników mineralnych przez dzieci w wieku szkolnym. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2010; 43 (1) 51-59.– 2. *Markiewicz-Żukowska R.*: Stężenie magnezu w surowicy osób starszych z regionu Podlasia. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2010; 43 (3) 349-353.– 3. *Zmarlicki S.*: Mleko i przetwory mleczne jako źródło

wapnia. *Przem. Spoż.*, 2009; 63 (10), 42-46.– 4. *Moreno-Rojas R., Amaro-Lopez A., Garcia-Gimeno H., Zurera-Cosano G.*: Effect of Manchego- type cheese-making process on contents of mineral elements. *Food Chem.*, 1995; 53: 435-439.– 5. *Rodriguez Rodriguez E.M., Sanz Alacjos M., Diaz Romero C.*: Mineral concentrations in cow's milk from the Canary Island. *J. Food. Comp. Anal.*, 2001; 14: 419-430.– 6. *Marzec Z., Koch W., Marzec A.*: Wpływ suplementacji preparatami witaminowo-mineralnymi na całkowite pobranie wapnia i magnezu w grupie studentów lubelskich uczelni. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2010; 43 (3): 287-292.– 7. *Saran A., Duda G.*: Ocena wiedzy osób starszych dotycząca witamin i składników mineralnych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2010; 43 (1): 60-65.

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

Maria Jeżewska, Małgorzata Kulczak, Iwona Błasińska

ZAWARTOŚĆ SOLI W WYBRANYCH KONCENTRATACH OBIADOWYCH

Oddział Koncentratów Spożywczych i Produktów Skrobiowych w Poznaniu
Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie
Dyrektor Oddziału: dr inż. *M. Remiszewski*, prof. IBPRS

W pracy badano zawartość soli (chlorku sodu) w wybranych koncentratkach zup instant, zup do gotowania, zup typu II dań z dużą ilością makaronu oraz sosów. Poziom zawartości tego składnika w suchych produktach był zróżnicowany zarówno między grupami badanych koncentratów, jak i między asortymentami w danej grupie. Otrzymane wyniki wykazały, że uwzględnienie jednej porcji potrawy z badanych koncentratów w dziennym jadłospisie pokrywa: w przypadku zup instant i zup do gotowania 31,0-39,7%, w przypadku zup typu II dań z dużą ilością makaronu 45,8-67,5%, a w przypadku sosów 11,7-16,7% maksymalnego spożycia soli określonego przez WHO.

Hasła kluczowe: zawartość soli (chlorku sodu), koncentraty obiadowe, metoda Mohra, zalecenia WHO dotyczące spożycia soli.

Key words: salt (sodium chloride) contents, dinner dry mixes, salt determination, WHO recommendation.

Sód należy do niezbędnych składników pożywienia. Odgrywa ważną rolę w wielu procesach metabolicznych zachodzących w organizmie człowieka. Bierze udział w zapewnieniu właściwego ciśnienia krwi, odpowiedniej równowagi osmotycznej w płynach ustrojowych, uczestniczy w transporcie aminokwasów, cukrów i niektórych witamin, reguluje równowagę kwasowo-zasadową (1, 2).

Głównym źródłem sodu w żywności jest sól spożywcza. W żywieniu ludzi sól jest ważnym czynnikiem smakotwórczym, a jej zawartość w posiłkach lub potrawach decyduje o ich akceptowalności konsumpcyjnej. Sól jest też składnikiem technologicznym w produkcji np. pieczywa, serów dojrzewających, przetworów mięsnych, kiszzonek, a także czynnikiem konserwującym i higienicznym, ograniczającym rozwój niepożądaną mikroflory w wielu produktach spożywczych. Nadmierne spożycie soli może jednak prowadzić do przyspieszenia procesów miażdżycowych, rozwoju choroby niedokrwiennej serca, zwiększenia ryzyka udaru mózgu (1-3).

W krajach rozwiniętych gospodarczo, w tym również w Polsce, dzienne spożycie soli jest nadmiernie wysokie, wynosi 15-18 g i przekracza 3-krotnie, określoną

przez Światową Organizację Zdrowia WHO, wartość maksymalnego dziennego spożycia wynoszącą 5-6 g na osobę (1-6).

Sól kuchenna dostarcza ok. 90% ogólnej zawartości sodu w racjach pokarmowych, przy czym 50-60% pochodzi z dodatku tego składnika w procesach kulinarnych i doprawiania przy stole, 30-40% z produktów przetwarzanych przemysłowo, do których sól dodano w procesie technologicznym, a tylko 10% soli jest pochodzenia naturalnego (1, 4, 7).

Wśród produktów spożywczych wytwarzanych przemysłowo znaczną grupę stanowią koncentraty spożywcze w formie suchej. Są one przykładem wysoko przetworzonej żywności wygodnej o dużej trwałości, uzyskanej dzięki niskiej zawartości wody. Mają już trwałe miejsce na naszym rynku i nadal rozwijają się dynamicznie. Jedną z ważniejszych grup tych produktów są koncentraty obiadowe: zupy, sosy, buliony, rosół, drugie dania obiadowe, przyprawy (8, 9). Produkty te, mimo że są postrzegane jako niezbyt korzystne żywieniowo, ze względu na znaczną zawartość soli dodanej (2, 3, 6, 10), wśród konsumentów cieszą się dużą popularnością. Znajdują zastosowanie zarówno w gospodarstwach domowych jak i w placówkach zbiorowego żywienia, a także w turystyce oraz w cateringu, stanowiąc najczęściej wygodne uzupełnienie tradycyjnej diety. Ich zalety to duża różnorodność, łatwe i szybkie przygotowanie do spożycia, niewielki ciężar i wysoka trwałość przechowalnicza (8, 9).

Celem pracy było oznaczenie zawartości soli w wybranych koncentratkach obiadowych w formie suchej i poznanie jaką ilość zalecanego dziennego pobrania soli pokrywa spożycie porcji potraw z nich przyrządzonych.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły rynkowe koncentraty obiadowe: zupy instant typu gorący kubek (żurek z grzankami, pomidorowa z makaronem, rosół z kury z makaronem, barszcz czerwony, zupa serowa z grzankami), zupy do gotowania (żurek i barszcz biały), zupy typu II dań obiadowych z dużą ilością makaronu (rosół z kurczaka, grzybowa, barszcz czerwony, pomidorowa, zupa chińska łagodna, zupa chińska pikantna), sosy (pieczeniowy jasny, pieczeniowy ciemny, pieczarkowy). Produkty te, pochodzące od tych samych producentów, kupowano cyklicznie w jednej z wiodących sieci sklepów na terenie Poznania w latach 2008-2009.

Zawartość soli oznaczano metodą *Mohra* zgodnie z PN-A-79011-7:1998 (11). Zasada metody polega na wyekstrahowaniu soli z produktu gorącą wodą i miareczkowaniu chlorków (sodu, potasu i innych metali alkalicznych) mianowanym roztworem azotanu srebra wobec chromianu potasu jako wskaźnika. Zgodnie ze wzorem podanym w powyższej normie, oznaczone tą metodą chlorki przeliczano na chlorek sodu.

Zawartość soli badano: w zupach instant typu gorący kubek w pięciu, w zupach typu II dań obiadowych z dużą ilością makaronu w czterech, a w zupach do gotowania i w sosach w trzech niezależnych seriach produktów, wykonując

oznaczenia dla każdego wyrobu w danej serii w 2 powtórzeniach. Wyniki przedstawiono jako średnie z badanych serii każdego produktu, wraz z zakresem zawartości (min.-max.).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wyniki badań zawartości soli (chlorku sodu) w suchych koncentratkach obiadowych przedstawiono w tabeli I, a ilość soli w porcji potraw przyrządzonych z badanych produktów oraz udział jednej porcji każdej z potraw w realizacji dziennego spożycia soli zalecanego przez WHO przedstawiono w tabeli II.

Tabela I. Zawartość soli (chlorku sodu) w koncentratkach obiadowych

Table I. Salt (sodium chloride) contents in dinner dry mixes

Nazwa produktu	Zakres zawartości soli (min.-max.), g/100g	Średnia zawartość soli g/100g
ZUPY INSTANT TYPU GORĄCY KUBEK		
Żurek z grzankami	10,66 – 12,61	11,55
Pomidorowa z makaronem	8,16 – 9,49	8,87
Rosół z kury z makaronem	17,68 – 18,86	18,48
Barszcz czerwony	14,91 – 16,35	15,57
Serowa z grzankami	11,67 – 13,13	12,50
ZUPY DO GOTOWANIA		
Żurek	14,72 – 15,78	15,25
Barszcz biały	14,17 – 14,64	14,47
ZUPY TYPU II DAŃ Z DUŻĄ ILOŚCIĄ MAKARONU		
Rosół z kurczaka	5,26 – 6,06	5,66
Grzybowa	4,97 – 5,72	5,35
Barszcz czerwony	4,53 – 5,55	5,23
Pomidorowa	6,13 – 6,72	6,43
Chińska łagodna	4,08 – 5,11	4,70
Chińska pikantna	4,50 – 4,82	4,66
SOSY		
Pieczeniowy jasny	12,26 – 14,35	13,35
Pieczeniowy ciemny	12,71 – 13,61	13,04
Pieczarkowy	8,18 – 9,92	9,29

Zawartość soli w suchych produktach była zróżnicowana, zarówno między grupami badanych koncentratów, jak i między asortymentami w danej grupie (tab. I). Najniższe średnie zawartości soli stwierdzono w grupie koncentratów zup typu II dań, z dużą ilością makaronu, od 4,66 g/100g (zupa chińska pikantna) do 6,43 g/100g (zupa pomidorowa). W pozostałych grupach koncentratów średnie zawartości soli były 2-3 krotnie wyższe. W grupie zup instant, w zależności od

asortymentu, wynosiły od 8,87 g/100g (zupa pomidorowa z makaronem) do 18,48 g/100g (rosół z kury z makaronem). Zbliżonym poziomem soli, od 14,47 g/100g do 15,25 g/100g cechowała się grupa zup do gotowania, a w grupie koncentratów sosów - sosy pieczeniowe jasny i ciemny, które zawierały średnio 13,35 g/100g i 13,04 g/100g soli.

Tabela II. Zawartość soli w porcji potraw przyrządzonych z koncentratów

Table II. Salt contents in one portion of ready to eat dishes

Nazwa produktu	Wielkość porcji (g koncentratu/cm ³ wody)	Zawartość soli w porcji potrawy (g)	Udział porcji potrawy w realizacji dziennego maksymalnego spożycia soli ^{x)} (%)
ZUPY INSTANT TYPU GORĄCY KUBEK			
Żurek z grzankami	17/200	1,96	32,3
Pomidorowa z makaronem	21/200	1,86	31,0
Rosół z kury z makaronem	11/200	2,03	33,8
Barszcz czerwony	12/200	1,87	31,2
Serowa z grzankami	19/200	2,38	39,7
ZUPY DO GOTOWANIA			
Żurek	15,3/250	2,33	38,8
Barszcz biały	13,3/250	1,92	32,0
ZUPY TYPU II DAŃ Z DUŻĄ ILOŚCIĄ MAKARONU			
Rosół z kurczaka	61/320	3,45	57,5
Grzybowa	62/320	3,32	55,3
Barszcz czerwony	66/320	3,45	57,5
Pomidorowa	63/320	4,05	67,5
Chińska łagodna	59/320	2,77	46,2
Chińska pikantna	59/320	2,75	45,8
SOSY			
Pieczeniowy jasny	7,5/75	1,00	16,7
Pieczeniowy ciemny	7,5/75	0,98	16,3
Pieczarkowy	7,5/75	0,70	11,7

x) według WHO – 6g.

Zróznicowany poziom zawartości soli w suchych koncentratkach wynikał ze składu surowcowego, różnego dla badanych grup koncentratów i asortymentów w danej grupie, a także z różnych, ustalonych przez producentów i podanych na opakowaniu, ilości suchych produktów przewidzianych na określoną ilość wody potrzebną do ich przyrządzenia. Na przykład w grupie zup instant, porcja zupy pomidorowej z makaronem stanowiła 21 g koncentratu na 200 cm³ wody, a rosółu z kury z makaronem czy barszczu czerwonego była prawie 2-krotnie niższa (odpowiednio 11 g i 12 g), na tę samą ilość wody, natomiast w grupie sosów, w których wielkość porcji była taka sama dla wszystkich trzech asortymentów,

zróżnicowana zawartość soli pomiędzy sosami pieczeniowymi, a sosem pieczarkowym mogła wynikać ze zdecydowanie różnego ich składu surowcowego (tab. II).

Średnie zawartości soli w przeliczeniu na określone przez producentów porcje gotowych do spożycia potraw były zróżnicowane w badanych grupach koncentratów obiadowych, co wynikało z różnych wielkości porcji poszczególnych potraw. Najwięcej soli w porcji potrawy od 2,75 g do 4,05 g dostarczały zupy typu II dań z dużą ilością makaronu, a najmniej sosy od 0,70 g do 1,00 g, natomiast poziom soli w porcjach zup instant i zup do gotowania był zbliżony i wynosił, w zależności od asortymentu, od 1,86 g do 2,28 g (tab. II). Zawartości soli w badanych zupach były zbliżone do danych cytowanych przez *Barylko-Pikielną* i *Jawor-Kuleszę* (12) oraz *Salmon* (13).

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że uwzględnienie jednej porcji potrawy przyrządzonej z badanych koncentratów w dziennym jadłospisie pokrywa od 11,7% do 67,5% maksymalnego spożycia soli (tab. II), określonego przez WHO na poziomie 6g (3, 5). Ze względu na wielkość porcji największy udział w realizacji tego poziomu mają zupy typu II dań z dużą ilością makaronu od 45,8% do 67,5% oraz zupy instant i zupy do gotowania od 31,0% do 39,7%, a najmniejszy sosy od 11,7 do 16,7%. Wartości te, w odniesieniu do badanych grup koncentratów zup, były podobne do podanych przez *Wojtasik*, *Przygodę* i *Kunachowicz* (6).

Dania gotowe, do których zalicza się, między innymi, obiadowe koncentraty spożywcze, według różnych autorów (2, 3, 14), należą do produktów o wysokiej zawartości soli, co potwierdziły również wyniki uzyskane w niniejszej pracy. Badania prowadzone w Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, w Oddziale Koncentratów Spożywczych i Produktów Skrobiowych w Poznaniu w latach 2009-2010 wykazały, że istnieje możliwość zmniejszenia ilości soli w koncentratyach zup, II dań obiadowych i sosów nawet o 30-50%. Dzięki zastosowaniu substytutów soli kuchennej (soli sodowo-potasowej) i odpowiednio dobranych, indywidualnie do każdego produktu, kompozycji ziół i przypraw roślinnych, otrzymano produkty o cechach sensorycznych porównywalnych z odpowiednimi produktami zawierającymi zwyczajową ilość soli (15).

WNIOSKI

1. Przeprowadzone badania dowodzą, że potrawy przygotowane z analizowanych koncentratów zup pokrywają, w zależności od asortymentu, od 31,0% do 67,5% maksymalnego spożycia soli określonego przez WHO.

2. Znajomość zawartości soli w produktach spożywczych przetwarzanych przemysłowo, do których należą koncentraty obiadowe, może pomóc konsumentom w kontroli jej spożycia i komponowaniu prawidłowej diety.

M. Jeżewska, M. Kulczak, I. Błasińska

THE SALT CONTENTS IN SELECTED DINNER DRY MIXES

Summary

The objective of the study was determination of salt (sodium chloride) contents in selected instant soups, dry soup mixes, dry soup mixes with noodles and dry sauce mixes. Level of salt contents were different among the investigated samples of products. The differences were caused by different kinds of ingredients and different amount of dry mixes per dose of water needed for preparation ready to eat product. The average salt contents per one portion of ready to eat dishes were ranged as bellow: in instant soups 1,86-2,38 g, cooked soups 1.92-2.33 g, soups with noodles 2.75-4.05 g and sauces 0.70-1.00 g. The results showed, that in daily diet, one of above dinner type dishes covered 31.0-39.7%, 45.8-67.5% and 11.7-16.7% of maximum daily intake recommended by WHO in case of instant soups and cooked soups, soups with noodles and in case of sauces respectively.

PIŚMIENNICTWO

1. *Barylko-Pikielna N., Jawor-Kulesza M.*: Sód w żywności oraz kierunki jego racjonalnego ograniczenia, Pr. IŻŻ 62, Warszawa, 1993.- 2. Instytut Żywności i Żywienia: Narodowy Program zapobiegania Nadwadze i Otyłości oraz przewlekłym chorobom niezakaźnym poprzez poprawę żywienia i aktywności fizycznej na lata 2007-2011 (POL-HEALTH). Zadanie: „działania na rzecz zmniejszenia spożycia soli w Polsce”. Warszawa 2009, http://www.izz.waw.pl/images/stories/PDF/3b-wytyczne_poprawka.pdf.- 3. *Słowik E.*: Czy zalecenie redukcji soli w żywności to biurokratyczny bezsens przychodzący z Brukseli? Przegl. Piekar. Cukiern., 2009; 8: 12-15.- 4. *Szafulewa W.*: Ile soli w diecie (i w chlebie), Przegl. Piekar. Cukiern., 2010; 4: 10-13.- 5. *Brzozowska A.*: Składniki mineralne. W: *Żywnienie człowieka. Podstawy nauki o żywieniu* (t.1). *Gawęcki J.* (red. nauk.), PWN, Warszawa, 2010.- 6. *Wojtasik A., Przygoda B., Kunachowicz H.*: Zawartość soli w produktach spożywczych i posiłkach [http://www.izz.waw.pl/index.php?option=com_content &view=article &id=248&Itemid=5&lang=pl](http://www.izz.waw.pl/index.php?option=com_content&view=article&id=248&Itemid=5&lang=pl).- 7. *Rutkowska U., Wojtasik A.*: Składniki mineralne w żywności i racjach pokarmowych. W: *Składniki mineralne w żywieniu człowieka*. *Brzozowska A.* (red.). Wyd. AR, Poznań, 1999.- 8. *Słowiński W., Remiszewski M.*: Koncentraty spożywcze, żywność wygodna i szybka, Przem. Spoż., 1996; 8: 24-29.- 9. *Świdorski F., Waszkiewicz-Robak B.*: Koncentraty obiadowe i desery w proszku. W: *Żywność wygodna i żywność funkcjonalna*. *Świdorski F.* (red.), Wyd. WNT, Warszawa, 1999.- 10. *Makarewicz-Wujec M., Kozłowska-Wojciechowska M.*: Kiełki, zupki w proszku, jarmuż, <http://resmedica.pl/pl/archiwum/zdart30012.html>, 2000.

11. PN-A-79011-7: 1998 Koncentraty spożywcze. Metody badań. Oznaczanie zawartości chlorku sodu.- 12. *Barylko-Pikielna N., Jawor-Kulesza M.*: Mniej soli a smacznie i zdrowo. Praktyczne wskazówki ograniczenia spożycia soli. Wyd. PTNŻ, Warszawa, 1991.- 13. *Salmon J.*: Kuchnia niskosolna. Edycja polska. Agencja Informacyjna SA, Warszawa, 1995.- 14. *Czerwińska D., Czerniawska A.*: Ocena spożycia sodu z uwzględnieniem soli kuchennej jako jego źródła w wybranej populacji warszawskiej. *Roczn. PZH*, 2007; 58 (1): 205-210.- 15. *Jeżewska M., Kulczak M., Błasińska I., Łuczak H., Białas M., Remiszewski M.*: Opracowanie receptur i technologii koncentratów spożywczych o obniżonej zawartości soli (chlorku sodowego). Dokumentacja z pracy naukowo-badawczej, OK IBPRS, Poznań, 2010 (praca niepublikowana).

Adres: 61-316 Poznań, ul. Starołęcka 40.

*Jolanta Soroczyńska¹⁾, Katarzyna Socha¹⁾, Bogdan Łazarczyk²⁾,
Maria H. Borawska¹⁾*

DIETA A STĘŻENIE KADMU W KRWI PACJENTÓW Z GUZAMI ŚLINIANEK

¹⁾ Zakład Bromatologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
Kierownik: prof. zw. dr hab. n. farm. *M. H. Borawska*

²⁾ Oddział Otolaryngologii Wojewódzkiego Szpitala Zespolonego
im. J. Śniadeckiego w Białymstoku
Ordynator: dr n. med. *B. Łazarczyk*

Celem badań była ocena wpływu częstości spożycia poszczególnych grup produktów spożywczych na stężenie Cd w krwi 71 pacjentów z guzami ślinianek. Z badanymi pacjentami przeprowadzono ankietę dotyczącą częstości spożywania poszczególnych grup produktów spożywczych. Stężenie Cd w krwi oznaczono metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją elektrotermiczną w kuwecie grafitowej z korekcją tła Zeemana. Wykazano różnice istotne statystycznie ($p < 0,04$) pomiędzy stężeniem Cd w krwi pacjentów w grupie badanej w stosunku do grupy kontrolnej. Nawyki żywieniowe w 45% wpływały na stężenie Cd w krwi badanych pacjentów z guzami ślinianek.

Hasła kluczowe: kadm, dieta, guzy ślinianek, atomowa spektrometria absorpcyjna.
Key words: cadmium, diet, salivary gland tumors, atomic absorption spectrometry.

Kadm (Cd) należy do pierwiastków szkodliwych, który pobierany w nadmiernych dawkach z pożywieniem i wodą pitną, podlega kumulacji w wybranych narządach, głównie w wątrobie i nerkach (1). Udowodniono jego działanie kancerogenne i genotoksyczne (pęknięcia nici DNA, mutacje, uszkodzenia chromosomów, transformacje komórek, hamowanie naprawy DNA) (2). Interakcje Cd z pierwiastkami niezbędnymi dla organizmu człowieka takimi jak: selen, cynk, miedź, żelazo, magnez i wapń mają wpływ na zmiany morfologiczne i czynnościowe w różnych narządach (3). Guzy ślinianek występują stosunkowo rzadko. Według różnych autorów stanowią od około 1% do 3% wszystkich guzów w obrębie głowy i szyi (4, 5), w Polsce zapadalność na nowotwory gruczołów ślinowych waha się w granicach 0,1% do 0,2% wszystkich nowotworów i występuje między 4 a 7 dekadą życia (6, 7). Umiejscawiają się one głównie w dużych gruczołach ślinowych i w blisko 80% dotyczą ślinianki przyusznej,

następnie podżuchwowej, rzadziej podjęzykowej i małych gruczołów jamy ustnej, zatok przynosowych, gardła i krtani (5).

Celem badań była ocena wpływu częstości spożycia poszczególnych grup produktów spożywczych na zawartość Cd w krwi pacjentów z guzami ślinianek pochodzenia nowotworowego i zapalnego.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiła krew pełna pobrana od 71 pacjentów z guzami ślinianek w wieku od 20 do 78 lat (średnia wieku: 49,7 lat) hospitalizowanych na Oddziale Otolaryngologii Wojewódzkiego Szpitala Zespołowego w Białymstoku. W grupie kontrolnej przebadano krew od 17 zdrowych osób w wieku 20 do 58 lat (średnia wieku: 37,2 lat). Krew pobierano na czczo do próżniowych zestawów typu vacutainer. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej UMB i badanych pacjentów.

Z badanymi pacjentami przeprowadzono ankietę dotyczącą częstości spożywania poszczególnych grup produktów spożywczych według kwestionariusza opracowanego przez Instytut Żywności i Żywienia i Instytut Kardiologii (8) w modyfikacji *Borawskiej* i współpr. Kwestionariusz zawierał listę następujących produktów spożywczych: pieczywo białe/razowe/słodkie, potrawy mączne, kasze, ryż, mleko i napoje mleczne, sery białe, podpuszczkowe, dojrzewające i topione, mięso, drób, podroby, wyroby wędliniarskie, wędliny luksusowe, boczek, smalec i słonina, konserwy mięsne i rybne, ryby świeże, jaja, masło, margaryny, oleje, ziemniaki, warzywa surowe, warzywa gotowane, produkty z nasion strączkowych, owoce, cukier, dżemy, miód, napoje, piwo, wino, wódka, kawa, herbata. Spożycie danego produktu 2-3 razy w tygodniu i więcej uznawano za częste. Spożywanie produktu raz w tygodniu i mniej przyjmowano za rzadkie. Wyjątek stanowiły ryby, konserwy rybne i mięsne oraz miód, których spożywanie 1 raz w tygodniu i więcej uznawano za częste.

Krew odbiałczano przy pomocy 1 mol/l kwasu azotowego (V), dodawano 1% Triton X-100 jako środek powierzchniowo czynny i rozcieńczano 0, 1 mol/l kwasem azotowym (V). Stężenie Cd oznaczono metodą ASA z atomizacją elektrotermiczną w kuwecie grafitowej z korekcją tła *Zeemana*, przy długości fali 228,8 nm, na aparacie Z-5000 firmy Hitachi. Dokładność użytych metod oznaczania pierwiastków weryfikowano na certyfikowanym materiale odniesienia – krwi pełnej, SeroAS MR9067. Zakład Bromatologii UMB od 1999 roku uczestniczy w międzylaboratoryjnych badaniach w zakresie oznaczania pierwiastków organizowanych przez Państwowy Instytut Higieny i Instytut Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie za pomocą programu komputerowego Statistica v. 6.1. Do porównań między grupami zastosowano test *U Manna-Whitney`a*, gdyż badane zmienne nie podlegały rozkładowi normalnemu. Za poziom istotności przyjęto $p < 0,05$. W analizie nawyków żywieniowych

zastosowano metodę korelacji porządku rang *Spearmana*, a w badaniach dotyczących wpływu częstości spożycia poszczególnych produktów na zawartość Cd w krwi zastosowano metodę regresji wielorakiej, krokowej postępującej.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Średnie stężenie Cd w krwi pacjentów z guzami ślinianek wynosiło $4,881 \pm 3,29 \mu\text{g/l}$ i było istotnie wyższe ($p < 0,04$) niż w grupie kontrolnej - $3,157 \pm 2,51 \mu\text{g/l}$. (tab. I.). Kadm zaliczany są do pierwiastków toksycznych. Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem uznała kadm w roku 1993 za czynnik rakotwórczy dla ludzi (grupa 1) w klasyfikacji IARC (9). Badania epidemiologiczne dowiodły, że istnieje zależność między ekspozycją na działanie Cd a zachorowalnością na nowotwory płuc, prostaty, trzustki, nerek (10). Częstość występowania nowotworów zarówno łagodnych jak i złośliwych ślinianki przyusznej jest większa u ludzi mieszkających w mieście niż na wsi (7, 11). Rozwijający się przemysł i postępująca urbanizacja powoduje zanieczyszczenie środowiska, a w dalszej konsekwencji - żywności.

Tabela I. Stężenie Cd w krwi pacjentów z guzami ślinianek

Table I. The concentration of Cd in blood of patients with salivary gland tumors

L.p.	Badana grupa	n	Cd ($\mu\text{g/l}$) Średnia \pm SD (min. – max.)
1	Grupa kontrolna	17	$3,157 \pm 2,51$ (0,157 – 6,452)
2	Pacjenci z guzami ślinianek	71	$4,881 \pm 3,29$ (0,578 – 13,547)
p _{1/2}			0,04*

p - poziom istotności; SD – odchylenie standardowe.

W dietach Polaków największe ilości Cd pochodzą z produktów zbożowych, ziemniaków i warzyw (około 75% całkowitego pobrania Cd) oraz produktów mięsnych (ponad 15% Cd) (12, 13). Analiza regresji wielorakiej wykazała, że na stężenie Cd w krwi pacjentów z guzami ślinianek w 45% wpływało dodatkowo częste spożywanie serów dojrzewających, podpuszczkowych i topionych, kasz, ryżu oraz drobiu a ujemnie – częste spożywanie jaj i wędlin luksusowych. Wykazano również metodą korelacji porządku rang *Spearmana*, że istotny wpływ na zawartość Cd miało przede wszystkim częste spożywanie kasz i ryżu, a nie serów podpuszczkowych dojrzewających i topionych oraz drobiu. Ponadto, kiedy osoby często spożywające jaja podzielono na często i rzadko spożywające wędliny luksusowe stwierdzono, że to spożycie jaj decydowało o niższym poziomie Cd w krwi, a nie spożycie wędlin luksusowych. Wyniki przedstawiono w tabeli II.

Tabela II. Analiza regresji wielorakiej wpływu częstości spożycia produktów spożywczych na zawartość Cd w krwi pacjentów z guzami ślinianek

Table II. Stepwise multiple linear regression analysis of influence of frequency consumption of food products on content of Cd in blood in patients with salivary gland tumors

L.p.	Produkt spożywczy	Współczynnik β (błąd standardowy)	Poziom istotności p	Model R^2
1	Kasze, ryż	0,290 (0,111)	0,011	0,45
2	Sery podpuszczkowe, dojrzewające i topione	0,258 (0,114)	0,028	
3	Drób	0,226 (0,101)	0,030	
4	Wędliny luksusowe	- 0,232 (0,108)	0,036	
5	Jaja	- 0,213(0,102)	0,041	

W czasie procesów technologicznych stosowanych podczas przygotowywania i obróbki produktów spożywczych może dojść do zanieczyszczenia ich pierwiastkami toksycznymi (14). Częste spożywanie produktów zbożowych ma prawdopodobnie związek ze wzrostem stężenia Cd w krwi, co potwierdzają badania przeprowadzone na terenie Polski (15). Natomiast u pacjentów, którzy często spożywali jaja, zaobserwowano ujemny wpływ na jego stężenie w krwi. We wcześniejszych badaniach stwierdzono, że spożywanie jaj dodatnio wpływało na poziom selenu i cynku w surowicy badanych pacjentów (16). Selen jest pierwiastkiem, który tworzy trudno rozpuszczalne selenki Cd, nie pozwalając na ich udział w procesach biochemicznych w ustroju i wydalając je z organizmu, tym samym pełniąc funkcje detoksykacyjną (17). Cynk natomiast pełni rolę ochronną przed toksycznym działaniem Cd. *Brzóska* i współpracownicy sugerują, że poprzez regularną podaż cynku możliwe jest wpływanie na metabolizm i działanie Cd w organizmie (18). Wobec tego częste spożywanie jaj mogło obniżyć poziom Cd w krwi.

WNIOSKI

1. Stężenie Cd w krwi pacjentów z guzami ślinianek jest istotnie wyższe w porównaniu do stężenia Cd u ludzi zdrowych.
2. Nawyki żywieniowe mają wpływ na stężenie Cd w krwi w 45 procentach.

J. Soroczyńska, K. Socha, B. Łazarczyk, M. H. Borawska

DIET AND CONTENT OF CADMIUM IN BLOOD OF PATIENTS WITH SALIVARY GLAND TUMORS

Summary

The aim of this study was to estimate the influence of dietary habits on the content of Cd in blood of 71 patients with salivary gland tumors. Food-frequency questionnaires were implemented to collect the dietary data. The level of Cd was determined by electrothermal atomic absorption spectrometry with

Zeeman background correction (Hitachi, Japan). We observed differences in the content of Cd in blood between the examined patients and control group. Dietary habits have influence on content of Cd in blood in 45%.

PÍSMIENNICTWO

1. *Nabrzyski M.*: Toksykologiczna ocena wybranych metali śladowych w żywności; w: Problemy jakości analizy śladowej w badaniach środowiska przyrodniczego. Wyd. Edukacyjne Zofii Dobkowskiej, Warszawa, 1998. – 2. *McMurray C.T., Tainer J.A.*: Cancer, cadmium and genome integrity. *Nat. Genet.*, 2003; 34: 239-241. – 3. *Brzóška M.M., Jurczuk M., Moniuszko-Jakoniuk J.*: Interakcje kadmu z wybranymi biopierwiastkami. *Terapia*, 1997; 5: 28-30. – 4. *Eveson J. W., Cawson R.A.*: Salivary gland tumours: a review of 2410 cases with particular reference to histological types, site, age, and sex distribution. *J. Oral Pathol.*, 1985; 146: 51-58. – 5. *Licitra L., Grandi C., Prott F.J., Schornagel J.H., Bruzzi P., Molinari P.*: Major and minor salivary gland tumors. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2003; 45: 215-225. – 6. *Borejko J., Cichočka-Szumilin J., Jegliński T.*: Wyniki pooperacyjnego leczenia promieniami X guzów złośliwych dużych gruczołów ślinowych. *Komunikaty Naukowe XXVIII Zjazdu PTOL w Lublinie 1971.* – 7. *Sikorowa L., Meyza J.W.*: Guzy ślinianek. Warszawa, 1989. – 8. *Sygnowska E., Waśkiewicz A., Pardo B.*: Zmiany zwyczajowego sposobu żywienia populacji Warszawy objętej programem Pol-MONICA w latach 1984-93. *Żyw. Człow. Metab.*, 1997; 24: 234 - 248. – 9. International Agency for Research on Cancer. Cadmium and cadmium compounds. Lyon. International Agency for Research on Cancer, 1993, 119-220. – 10. *Seńczuk W.*: Toksykologia współczesna. PZWL, Warszawa, 2006.

11. *Spitz M.R., Tilley B.C., Batsakis J.G., Gibeau J.M., Newell G.R.*: Risk factor for major salivary gland carcinoma. A case comparison study. *Cancer*, 1984; 54: 1854-1859. – 12. *Barylko-Pikielna N.*: Chemical contaminants in food-Poland – present situation and future perspective; w: Reports on International Conferences on Food and Nutrition Regulations held at National Food and Nutrition Institute. *L. Szponar, W. Sekuła* (red.), Warszawa, 1994. – 13. *Wawrzyniak A., Pawlička J.*: Ocena pobrania kadmu z żywnością w gospodarstwach domowych w Polsce w latach 1993-1997. *Roczn. PZH*, 2000; 51: 269-277. – 14. *Nabrzyski M.*: Wybrane metale śladowe jako zanieczyszczenia żywności; w: Problemy jakości analizy śladowej w badaniach środowiska przyrodniczego, *A. Kabata-Pendias i B. Szteke* (red.), Wyd. Edukacyjne Zofii Dobkowskiej, Warszawa, 1998. – 15. *Kot A., Zaręba S.*: Zawartość kadmu i ołowiu w produktach zbożowych. *Żyw. Człow. Metab.*, 2007; 34: 889-895. – 16. *Borawska M.H., Soroczyńska J., Socha K., Łazarczyk B.*: The influence of dietary habits on content of selenium, manganese and zinc of patients with salivary glands tumors and inflammations. *Fresen. Environ. Bull.* 2010; 19 (2a): 362-367. – 17. *Diplock A.T., Watkins W.J., Hewison M.*: Selenium and heavy metals. *Ann. Clin. Res.*, 1986; 18: 55-60. – 18. *Brzóška M.M., Moniuszko-Jakoniuk J.*: Interactions between cadmium and zinc in the organism. *Food Chem. Toxicol.*, 2001; 39: 967-989.

Adres: 15-089 Białystok, Kilińskiego 1.

Katarzyna Stoś, Bogumiła Krygier, Aneta Głowala, Mirosław Jarosz

SKŁAD WYBRANYCH SUPLEMENTÓW DIETY W ŚWIETLE OBOWIĄZUJĄCYCH WYMAGAŃ

Zakład Żywności i Suplementów Diety Instytutu Żywności i Żywienia w Warszawa
Kierownik Zakładu: dr inż. K. Stoś, prof. nadzw. IŻŻ

Suplementy diety są skoncentrowanym źródłem witamin lub składników mineralnych lub innych substancji wykazujących efekt odżywczy lub inny fizjologiczny, których zadaniem jest uzupełnianie normalnej diety. W związku z intensywnie rozwijającym się rynkiem suplementów diety i brakiem szczegółowych wymagań dotyczących maksymalnych poziomów witamin i składników mineralnych, a także list dozwolonych innych składników zasadne wydaje się prowadzenie badań dotyczących analizy składu suplementów diety wprowadzanych do obrotu w Polsce. Celem pracy była analiza składu i przeznaczenia wybranych suplementów diety i środków specjalnego przeznaczenia żywieniowego. Materiał do badań stanowiła dokumentacja 100 środków spożywczych opiniowanych w Instytucie Żywności i Żywienia w 2009 r. Analiza składu produktów wykazała, iż największą grupę stanowiły produkty zawierające wyłącznie składniki roślinne (27%), kolejną grupę produkty zawierające kwasy omega-3 w połączeniu z innymi składnikami (14%). Istotną grupę stanowiły również produkty witaminowo-mineralne (13%), witaminowo-roślinne (11%) i mineralno-roślinne (10%).

Słowa kluczowe: suplementy diety, środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego, witaminy, składniki mineralne, składniki roślinne.

Key words: food supplements, food for particular nutritional uses, vitamins, minerals, plant components.

W Polsce w ostatnich latach rośnie zainteresowanie konsumentów suplementami diety. Z badania przeprowadzonego przez TNS OBOP (2008 r.) wynika, że co piąty Polak (22%) sięga po preparat wzbogacający dietę. Krajowe badania przeprowadzone przez Instytut Żywności i Żywienia w 2000 roku w gospodarstwach domowych wykazały, że suplementy stosowało 20% osób. W tej grupie znajdowały się najczęściej małe dzieci oraz osoby powyżej 60 roku życia (1). W Wieloośrodkowym Ogólnopolskim Badaniu Stanu Zdrowia Ludności (program WOBASZ) przeprowadzonym w próbie losowej osób w wieku 20-74 lata stosowanie suplementów zadeklarowało 12% kobiet i 5% mężczyzn (2).

Suplementami diety są środki spożywcze, których celem jest uzupełnianie normalnej diety, będące skoncentrowanym źródłem witamin lub składników mineralnych lub innych substancji wykazujących efekt odżywczy lub inny fizjologiczny (3). Szczegółowe wymagania dotyczące tej grupy środków spożywczych regulują rozporządzenie Ministra Zdrowia w sprawie składu oraz oznakowania suplementów diety (4), rozporządzenie Komisji Europejskiej 1170/2009 (5) oraz Dyrektywa 2002/46/WE Parlamentu Europejskiego i Rady (14). W świetle obowiązujących przepisów do suplementów diety mogą być stosowane następujące witaminy: A, D, E, K, B₁, B₂, niacyna, kwas pantotenowy, B₆, kwas foliowy, B₁₂, biotyna, witamina C, oraz składniki mineralne: wapń, magnez, żelazo, miedź, jod, cynk, mangan, sód, potas, selen, chrom, molibden, fluorki, chlorki, fosfor, bor i krzem (4, 5). Zarówno w kraju, jak i w Unii Europejskiej brak jest natomiast szczegółowych wymagań dotyczących maksymalnych poziomów witamin i składników mineralnych, a także list dozwolonych innych składników, w tym roślinnych. Obowiązujące regulacje prawne (4) wskazują, iż przy ustalaniu poziomów maksymalnych witamin i składników mineralnych w dziennej zalecanej przez producenta porcji spożywanego suplementu diety należy wziąć pod uwagę: górne bezpieczne poziomy witamin i składników mineralnych ustalone na podstawie naukowej oceny ryzyka, spożycie witamin i składników mineralnych wynikające z innych źródeł diety, z uwzględnieniem żywności wzbogacanej, a także zalecane spożycie witamin i składników mineralnych dla populacji.

Coraz częściej pojawia się więc pytanie o bezpieczeństwo ich stosowania. W świetle tych zapisów producenci suplementów diety mogą stosować w dziennych dawkach poziomy składników odżywczych wyższe od poziomów zalecanego dziennego spożycia. W związku z powyższym uzasadnione wydaje się prowadzenie badań dotyczących analizy składu produktów wprowadzanych do obrotu w Polsce.

Celem pracy była analiza składu i przeznaczenia wybranych suplementów diety i środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego wprowadzanych do obrotu w kraju.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do analizy stanowiła dokumentacja 100 środków spożywczych w tym suplementów diety (89%) i środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego (11%), zawierających w swoim składzie witaminy i/lub składniki mineralne i inne substancje o działaniu odżywczym i innym fizjologicznym, opiniowanych w Instytucie Żywności i Żywienia w 2009 roku. Analizując skład i przeznaczenie suplementów diety wzięto pod uwagę również środki spożywcze specjalnego przeznaczenia żywieniowego mając na względzie obserwowaną tendencję przekwalifikowywania suplementów diety do grupy środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego. Do przeprowadzenia analizy składu wybranych suplementów diety posłużono się danymi o produktach

znajdującymi się w bazie danych Instytutu, uwzględniając ich skład ilościowy i jakościowy, przeznaczenie i sposób użycia.

Poziomy witamin i składników mineralnych analizowano w odniesieniu do wartości zalecanego dziennego spożycia (RDA) dla celów znakowania (4) oraz górnych bezpiecznych poziomów spożycia (UL) (6, 7).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wśród 100 analizowanych produktów największą grupę stanowiły produkty zawierające wyłącznie składniki roślinne (27%). Kolejną grupę stanowiły produkty zawierające kwasy omega-3 w połączeniu z innymi składnikami (14%). Opiniowane produkty zawierały również kombinację witamin, składników mineralnych i składników roślinnych (witaminowo-mineralne – 13%, witaminowo-roślinne – 11% i mineralno-roślinne – 10%) (ryc. 1).

Szczegółowej analizie poddano produkty pod względem minimalnych i maksymalnych zawartości witamin (tab. I) i składników mineralnych (tab. II).

Maksymalne poziomy witamin w opiniowanych produktach pokrywały od 167% RDA (witamina E i kwas pantotenowy) do 1250% RDA (niacyna).

Maksymalne poziomy witamin rozpuszczalnych w tłuszczach w dziennej porcji produktu w odniesieniu do RDA wynosiły od 167% RDA (witamina E) do 400% RDA (witamina D). Wartości te nie przekraczały poziomów UL.

Maksymalna zawartość witaminy C wynosiła 281% RDA. W przypadku witaminy B₆ i kwasu foliowego w opiniowanych produktach maksymalne ilości wynosiły 707% RDA dla witaminy B₆ i 400% RDA dla kwasu foliowego i nie przekraczały poziomów UL.

Najwyższe zawartości witamin z grupy B, dla których nie ustalono UL: tiaminy, ryboflawiny, B₁₂, kwasu pantotenowego oraz biotyny wynosiły od 167% RDA (kwas pantotenowy) do 360% RDA (witamina B₁₂).

Spośród witamin znajdujących się w opiniowanych produktach tylko w przypadku niacyny (kwas nikotynowy) maksymalny poziom w dziennej dawce (200 mg) przekraczał wartość UL (10 mg). Taka zawartość niacyny była zaproponowana przez producenta dla środka spożywczego specjalnego przeznaczenia medycznego kierowanego dla osób dorosłych ze wskazaniami: miażdżyca, obniżenie cholesterolu oraz homocysteiny, w nadwadze i otyłości. Należy zauważyć, iż dla produktów specjalnego przeznaczenia medycznego prawo przewiduje możliwość modyfikacji jednego lub więcej tych składników odżywczych, która stała się konieczna ze względu na zamierzone zastosowanie danego środka spożywczego (10).

Zgodnie z aktualnym stanem wiedzy na podstawie danych o spożyciu w krajach Wspólnoty Europejskiej ocenia się, iż nie ma zagrożenia związanego z ryzykiem przekroczenia UL w przypadku witaminy B₁, B₂, B₁₂, biotyny, kwasu pantotenowego, witaminy K. Wśród składników, dla których istnieje ryzyko

związane z nadmiernym spożyciem i ryzykiem przekroczenia UL wymienia się witaminę A, β -karoten, wapń, miedź, fluor, jod, żelazo, mangan, cynk (7).

Badania *Flynn* i współpr. (15) dotyczące oceny spożycia żywności, w tym żywności wzbogacanej i suplementów diety w wybranych krajach Europy wykazały, iż ryzyko wysokiego spożycia większości składników jest relatywnie niskie. Jednak wyjątek stanowią retinol, cynk, jod, miedź i magnez. Stwierdzono, iż dzieci są grupą najbardziej narażoną na wysokie spożycie składników w kontekście przekroczenia UL.

W grupie produktów opiniowanych w Instytucie w 2009 r. maksymalne zawartości składników mineralnych w dawce dziennej pokrywały od 0,6% RDA dla potasu do 750% RDA dla cynku i w większości przypadków nie przekraczały poziomów UL (tab. II). Wyjątek stanowił suplement diety przeznaczony dla osób dorosłych w celu pogłębienia procesu opalania zawierający w dziennej dawce 75 mg cynku, co stanowiło 700% RDA i przekraczało poziom UL (25 mg).

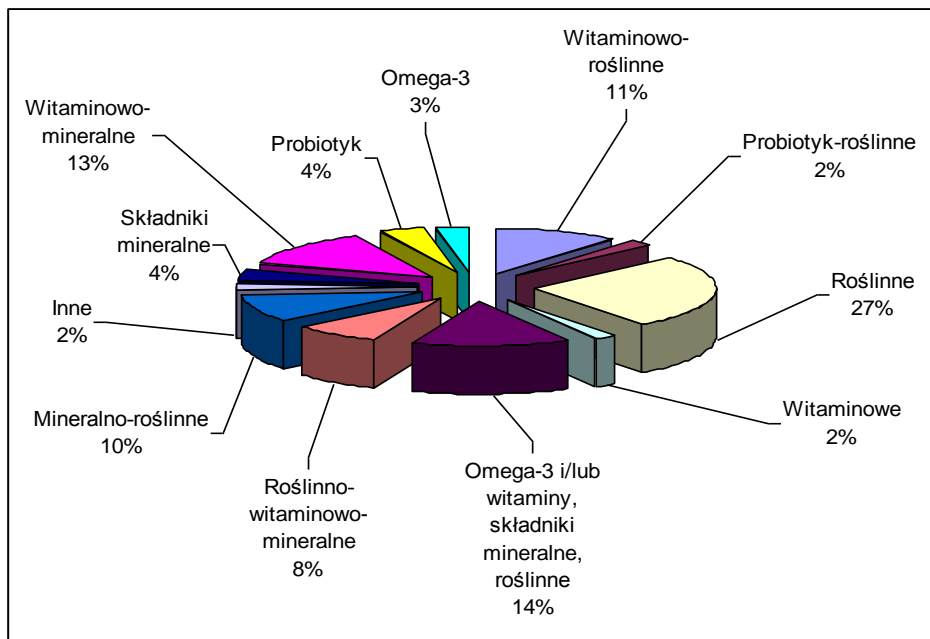
Suplementacja diety witaminami i składnikami mineralnymi w wielu przypadkach może przyczynić się do lepszej realizacji zaleceń żywieniowych. Jednak należy pamiętać o istniejącym ryzyku spożycia nadmiernych ilości witamin i składników mineralnych, które może wywołać skutki uboczne. Istnieją doniesienia, iż stosowanie dużych dawek niektórych witamin, przekraczających górne bezpieczne poziomy nie przynosi korzyści, a może być nawet szkodliwe dla zdrowia. Wartość UL nie jest poziomem zalecanym, do którego należy dążyć przy prawidłowym żywieniu. Dieta powinna pokrywać zalecane dzienne spożycie w celu zachowania zdrowia (9). Suplementacja indywidualna, bez potwierdzenia rzeczywistych potrzeb (np. wyniku konsultacji lekarskiej lub dietetycznej) może prowadzić do jednoczesnego wybierania na rynku produktów wzbogacanych, a także stosowania kilku preparatów jednocześnie, będących skoncentrowanym źródłem tych samych składników, co stwarza może ryzyko przekroczenia górnych bezpiecznych poziomów spożycia.

Badania *Hamulki* i współpr. wykazały, iż 22% badanych kobiet w czasie ciąży stosowało kilka preparatów jednocześnie, dostarczając zbyt dużych ilości, zwłaszcza witaminy A, D, B₁, B₆ oraz jodu i żelaza (11).

Badania *Jarosza* i współpr. wykazały, iż 36% badanych kobiet ciężarnych przyjmowało duże dawki kwasu foliowego (1200-1400 μ g dziennie), co wynikało z jednoczesnego przyjmowania kilku preparatów (12).

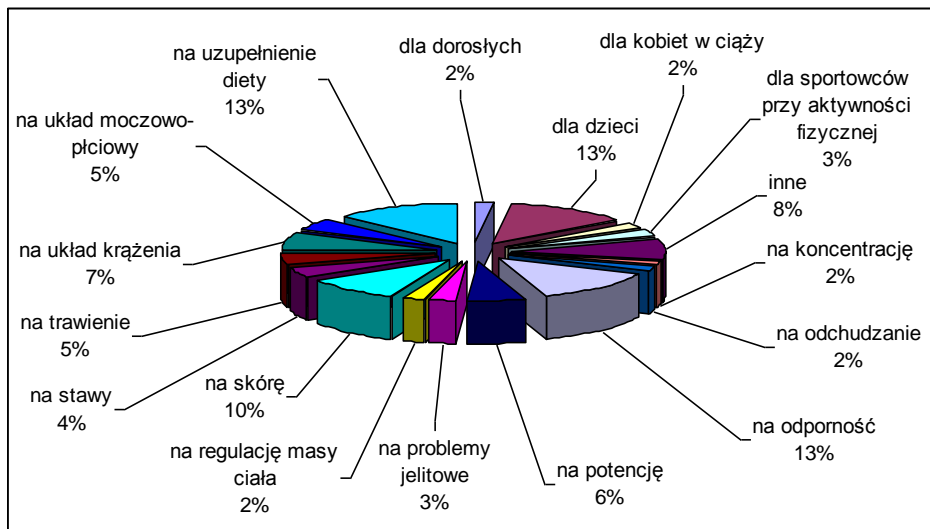
Niewłaściwe stosowanie suplementów diety (np. przyjmowanie większych dawek niż zalecił producent, nieuzasadniona suplementacja), brak rzetelnej informacji na etykiecie dotyczącej przeciwwskazań do stosowania, możliwości interakcji z innymi składnikami żywności lub lekami oraz stosowanie dwóch lub większej ilości suplementów diety jednocześnie może wiązać się z ryzykiem wystąpienia niekorzystnych działań na organizm człowieka (13).

Suplementy diety przeznaczone dla różnych grup osób mogą zawierać te same składniki. Można przypuszczać, iż konsumenci przy zakupie oprócz składu suplementów kierują się również ich przeznaczeniem. Suplementy diety opiniowane w 2009 r. przeanalizowano również pod kątem przeznaczenia (ryc. 2).



Ryc. 1. Produkty opiniowane przez IŻŻ w 2009r. z uwzględnieniem składu.

Fig.1. Classification of food supplements according to the composition by NFNI in 2009.



Ryc. 2. Podział suplementów diety i środków specjalnego przeznaczenia opiniowanych w IŻŻ w 2009r. ze względu na przeznaczenie.

Fig. 2. Classification of food supplements according to the purpose of use by NFNI in 2009.

Tabela I. Minimalne i maksymalne poziomy witamin w przeliczeniu na dzienną porcję produktu

Table I. Classification of food supplements according to the purpose of use by NFNI in 2009

Witamina	Minimalna ilość	Maksymalna ilość	RDA**	% RDA	UL (EFSA)*
Witamina A	50 µg	1500 µg	800 µg	188%	3000 µg
Witamina B ₁	0,5 mg	2,8 mg	1,1 mg	255%	brak danych
Witamina B ₂	0,4 mg	3 mg	1,4 mg	214%	brak danych
Witamina B ₆	0,3 mg	9,9 mg	1,4 mg	707%	25 mg
Witamina B ₁₂	0,15 µg	9 µg	2,5 µg	360%	brak danych
Witamina C	9 mg	225 mg	80 mg	281%	brak danych
Witamina D	2,5 µg	20 µg	5 µg	400%	50 µg
Witamina E	2 mg	20 mg	12 mg	167%	300 mg
Kwas pantotenowy	0,9 mg	10 mg	6 mg	167%	brak danych
Biotyna	22,5 µg	0,15 mg	50 µg	300%	brak danych
Niacyna (kw. nikotynowy)	2,7 mg	200 mg	16 mg	1250%	10 mg
Kwas foliowy	50 µg	800 µg	200 µg	400%	1000 µg
UL (EFSA)*- Tolerable upper levels for vitamins and minerals (EFSA), Brussels 2006					
RDA**- zalecane dzienne spożycie określone w rozporządzeniu Ministra Zdrowia (4)					

Tabela II. Minimalne i maksymalne poziomy składników mineralnych w przeliczeniu na dzienną porcję produktu

Table II. Minimum and maximum levels of minerals in daily portion of certain food supplements

Składnik mineralny	Minimalna ilość	Maksymalna ilość	RDA**	%RDA	UL (EFSA)*
Selen	10 µg	60 µg	55 µg	109%	300 µg
Chrom	25 µg	200 µg	40 µg	500%	brak danych
Wapń	50 mg	1000 mg	800 mg	125%	2500 mg
Magnez	45 mg	162 mg	375 mg	43%	250 mg
Potas	6,5 mg	12,5 mg	2000 mg	0,6%	brak danych
Cynk	2,25 mg	75 mg	10 mg	750%	25 mg
Żelazo	7 mg	14 mg	14 mg	100%	brak danych
Jod	75 µg	200 µg	150 µg	133%	600 µg
Mangan	0,75 mg	3 mg	2 mg	150%	brak danych
Miedź	250 µg	2 mg	1 mg	200%	5 mg
Molibden	25 µg	200 µg	50 µg	400%	600 µg
UL (EFSA)*- Tolerable upper levels for vitamins and minerals (EFSA), Brussels 2006					
RDA**- zalecane dzienne spożycie określone w rozporządzeniu Ministra Zdrowia (4)					

Największy odsetek stanowiły produkty uzupełniające dietę (13%), dla dzieci (13%), produkty na odporność (13%), na skórę 10%. Pozostałe grupy produktów stanowiły poniżej 10%.

Reasumując należy podkreślić, iż u osób zdrowych stosujących zbilansowaną dietę nie ma uzasadnienia do stosowania suplementów diety. Nie ma również jednoznacznych dowodów naukowych na stosowanie suplementów w profilaktyce

przewlekłych chorób niezakaźnych (9). Zgodnie z obecnym stanem wiedzy, należy zalecać racjonalny sposób żywienia zapewniający pokrycie zapotrzebowania na wszystkie potrzebne składniki pokarmowe np. na witaminy antyoksydacyjne, poprzez spożywanie olejów roślinnych, owoców i warzyw. Odpowiednia i zróżnicowana dieta powinna, w normalnych warunkach, dostarczać wszystkich składników odżywczych, niezbędnych dla prawidłowego rozwoju i zachowania zdrowia, w ilościach spełniających normy, ustalone i zalecane na podstawie ogólnie przyjętych danych naukowych. W przypadku niedoboru w diecie witamin i składników mineralnych, a także zwiększonego zapotrzebowania na nie, można rozważyć stosowanie suplementów diety. Droga ta winna być jedną z alternatyw prawidłowego żywienia. Należy jednak pamiętać, iż suplementy diety nie mogą być traktowane jako zamiennik zróżnicowanej diety, a decyzję o ich stosowaniu wskazanym byłoby skonsultować z lekarzem i/lub dietetykiem. Duży nacisk powinien być położony na bezpieczeństwo i rzetelną informację o suplementach diety.

WNIOSKI

1. Analiza 100 produktów opiniowanych w IŻŻ w 2009 roku wykazała, iż największą grupę stanowiły produkty zawierające w swoim składzie wyłącznie składniki roślinne (27%). Znaczne ilości stanowiły również produkty zawierające w swoim składzie składniki roślinne wraz z witaminami i/lub składnikami mineralnymi.

2. Maksymalne poziomy witamin i składników mineralnych w opiniowanych produktach pokrywały dla witamin od 167% RDA (witamina E i kwas pantotenowy) do 1250% RDA (niacyna), a dla składników mineralnych od 0,6% RDA (potas) do 750% RDA (cynk).

3. Stwierdzono przekroczenie poziomów UL w dziennych porcjach w przypadku cynku i niacyny.

4. Najczęściej suplementy diety przeznaczone były do stosowania na odporność (13%), w celu uzupełnienia diety (13%), dla dzieci (13%), na skórę (10%).

K. Stoś, B. Krygier, A. Głowała, M. Jarosz

THE COMPOSITION OF SELECTED FOOD SUPPLEMENTS ON THE BASIS OF ACTUAL REQUIREMENTS

Summary

Food supplements are the concentrated sources of vitamins or minerals, or other substances with a nutritional or other physiological effect, whose task it is to supplement the normal diet. In connection with intensively developing market of food supplements and the lack of detailed requirements regarding maximum levels of vitamins and minerals, as well as the list of other allowed components it seems appropriate to conduct studies on the analysis of the composition of food supplements marketed in

Poland. The purpose of the paper was an analysis of the composition and destination of selected supplements and foodstuffs for particular nutritional uses. Material for analysis was 100 records of these, evaluated by the Institute of Food and Nutrition in 2009. Analysis of the composition of the products showed that the largest group were the products containing only vegetable ingredients (27%), the next group consisted of products containing omega-3 fatty acids in combination with other ingredients (14%). An important group were also vitamin-mineral (13%), vitamin-plant (11%) and mineral-plant (10%) products.

PIŚMIENNICTWO

1. Szponar L, Stoś K, Oltarzewski M.: Suplementy diety – możliwości ich wykorzystania w prewencji wybranych niedoborów żywieniowych. *Żyw. Człow. Metab.*, 2004; 31 (Supl. I): 441-446.
2. Ogólnopolskie i regionalne rozproszenie głównych czynników ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego. Wyniki Wieloośrodkowego Ogólnopolskiego Badania Stanu Zdrowia Ludności. Program WOBASZ. *Kardiol. Pol.*, 2005; 63 (Supl. 4): S601-S685.
3. Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz. U. z 2006 r. Nr 17, poz. 1225 ze zm.).
4. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 9 października 2007 r. w sprawie składu oraz oznakowania suplementów diety (Dz. U. Nr 196 poz. 1425 ze zm.).
5. Rozporządzenie Komisji Nr 1170/2009 z dnia 30 listopada 2009 r. zmieniające dyrektywę 2002/46/EC oraz rozporządzenie nr 1925/2006 w zakresie listy witamin i składników mineralnych i ich form, które mogą być dodawane do żywności, w tym suplementów diety (OJ L 314, 1.12.2009, p. 36).
6. Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals, Report European Food Safety Authority, 2006.
7. Orientation paper on the setting of maximum and minimum amounts for vitamins and minerals in foodstuffs. Document prepared by Directorate-General Health and Consumer Protection, 2007.
8. Stoś K, Jarosz M, Bogusz-Kaliś W, Ziółkowska I, Osipiuk G.: Food supplements – analysis of composition and labelling of the certain groups of products. *J. Pre-Clin. Clin. Res.*, 2010; 4 (2) (w druku).
9. Jarosz M, Bulhak-Jachymczyk B.: Normy żywienia człowieka. Podstawy prewencji otyłości i chorób niezakaźnych. IŻŻ, PZWŁ, Warszawa, 2008.
10. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 16 września 2010 r. w sprawie środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego (Dz. U. 2010 Nr 180 poz. 1214).
11. Hamulka J, Wawrzyniak A, Pawłowska R.: Ocena spożycia witamin i składników mineralnych z suplementami diety przez kobiety w ciąży. *Roczn. PZH*, 2010, 61 (3).
12. Jarosz M, Wierzejska R.: Suplementacja kwasem foliowym diet kobiet ciężarnych. *Żyw. Człow. Metab.*, 2007; 34 (5): 1499-1508.
13. Jarosz M, Stoś K, Respondek W, Wolnicka K.: Suplementy diety – korzyści i zagrożenia. *Standardy Med.*, 2008 (Supl. 35); t. 10.
14. Dyrektywa 2002/46/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 10 czerwca 2002 r. w sprawie zbliżenia ustawodawstw państw członkowskich odnoszących się do suplementów żywnościowych (L 183/51).
15. Flynn A, Hirvonen T, Mensink G.B.M., Ocke M.C., Serra-Majem L, Stoś K, Szponar L, Tetens L, Turrini A, Fletcher R, Wildemann T.: Intake of selected nutrients from foods, from fortification and from supplements in various European countries. *Food Nutr. Res.*, 2009 (Suppl. 53), doi: 340/fnr.v53i0.2038.

Małgorzata Piecyk, Iwona Lyczko, Anna Bzducha-Wróbel, Mieczysław Obiedziński

OCENA WYBRANYCH SUPLEMENTÓW DIETY WNKT POD WZGLĘDEM UDZIAŁU KWASÓW OMEGA-3

Zakład Oceny Jakości Żywności Wydziału Nauk o Żywności
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. *M. Obiedziński*

Celem pracy była ocena deklaracji producenta oraz analiza udziału kwasów tłuszczowych z grupy omega-3 w siedmiu rodzajach suplementów diety. Weryfikując deklaracje producentów stwierdzono, że część z nich była niezrozumiała i wprowadzała konsumenta w błąd. W przypadku wyników uzyskanych w ramach analizy kwasów tłuszczowych z rodziny omega-3 dla badanych preparatów wykazywały one częściową zgodność z informacją zamieszczoną przez producenta na opakowaniu. W badanych preparatach udział procentowy kwasów eikozapentaenowego i dokozaheksaenowego był różnicowany. Zawierał się w granicach 3,8-19,0% oraz 4,2-16,4%, odpowiednio dla EPA i DHA. Większość zbadanych preparatów charakteryzowała się wyższym udziałem kwasu EPA niż DHA.

Hasła kluczowe: kwasy tłuszczowe omega-3, omega-6, suplementy diety, DHA, EPA.

Key words: omega-3 fatty acids, omega-6 fatty acids, diet supplements.

Niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe (NNKT) z serii omega-3 i omega-6 odgrywają szczególnie ważną rolę w organizmie człowieka. Stanowią istotny składnik fosfolipidów błon komórkowych i organelli wewnątrzkomórkowych. Przykładowo, kwas dokozaheksaenowy (DHA) jest składnikiem tkanki nerwowej, kory mózgowej czy siatkówki oka (1).

Z badań przeprowadzonych wśród dorosłych mieszkańców Warszawy w 2004 roku wynika, że dzienne spożycie EPA (kwas eikozapentaenowy) i DHA (kwas dokozaheksaenowy) wynosi ok. 150 mg na dobę, przy czym średnie spożycie DHA to ok. 96 mg, zaś EPA 61 mg na dzień (2). Takie wyniki wskazują na niski poziom omawianych kwasów tłuszczowych w diecie, co spowodowane jest przede wszystkim niewielkim spożyciem ryb i ich przetworów. Aby skorygować ten niekorzystny bilans, należałoby zatem zwiększyć konsumpcję ryb morskich.

Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) zaleca spożywanie tygodniowo 1-2 porcji ryb, które powinny dostarczać od 200 do 500 mg EPA i DHA (3). Natomiast osoby z wykrytą niedokrwinną chorobą serca, zgodnie z rekomendacją American Heart Association, powinny dostarczać organizmowi łącznie 1g EPA i DHA dziennie (4).

Wygodnym rozwiązaniem, pozwalającym uzupełnić niedobór WNKT w diecie, jest stosowanie suplementów diety (5). W ostatnich latach obserwujemy wzrost zainteresowania konsumentów tego typu produktami, dlatego tak ważna jest odpowiednia jakość oferowanych na rynku suplementów oraz wiarygodność deklaracji producenta, co do ich składu.

W związku z powyższym celem niniejszej pracy była ocena poprawności deklaracji producentów oraz jakości wybranych suplementów diety kwasów tłuszczowych z grupy omega-3 pod względem udziału deklarowanych WNKT.

MATERIAŁ I METODY

Materiał doświadczalny stanowiło siedem dostępnych na rynku warszawskim suplementów diety wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Wybrane parametry deklarowane na opakowaniu zamieszczono w tabeli I.

Analizę estrów metylowych kwasów tłuszczowych (FAME) prowadzono zgodnie z metodyką podaną w normie AOCS Ce 1h-05 (6) wykorzystując technikę chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem mas (GC/MS, QP-2010S, Shimadzu). Kwasy tłuszczowe zawarte w analizowanych próbkach poddawano transestryfikacji (0,5M KOH w metanolu). Rozdział FAME przebiegał w kolumnie kapilarnej z fazą stacjonarną Sptm – 2560 (100 m, 0,25 mm x 0,20 μm).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Pierwszym etapem pracy była ocena poprawności informacji podanych przez producentów na opakowaniach suplementów będących przedmiotem niniejszych badań (tab. I). Stwierdzono, że niektóre deklaracje zawierały błędy oraz mogły być nieczytelne dla przeciętnego konsumenta. Przykładem jest preparat nr 2, dla którego podana przez producenta zawartość procentowa kwasów EPA i DHA, odpowiednio 18% i 12%, nie odpowiadała ich zawartości masowej, czyli 150 mg i 75 mg w przeliczeniu na kapsułkę. Inny błąd dotyczył kwasów omega-3. Podana na etykiecie informacja sugerowała występowanie 200 mg kwasów tłuszczowych omega-3 w kapsułce, przy czym po zsumowaniu wartości liczbowych dotyczących kwasów EPA (150 mg) i DHA (75 mg), kwasów należących do serii omega-3, otrzymujemy wartość o 25 mg większą.

Wyznaczony udział kwasów omega-3 w preparatach nr 6 i 7 (tab. II) był zbliżony do deklaracji (30%) oraz do wartości uzyskanych w badaniach różnych gatunków łososia atlantyckiego, tj. od 18% do 26% (7).

Tabela I. Wybrane parametry deklarowane na opakowaniach badanych suplementów

Table I. Chosen parameters declared on labels of studied supplements

Suplement		1	2	3	4	5	6	7
Masa kapsułki [mg]		500	-	503	-	1350	1190	1540
PUFA	%	42,2*	-	22*	-	-	-	-
	g/kapsułkę	0,211	-	0,110	-	-	0,34	-
omega-6	%	29,6*	-	-	-	-	-	-
	g/kapsułkę	0,148	0,045	-	-	-	-	-
omega-3	%	12,4*	-	34*	-	-	30**	30**
	g/kapsułkę	0,062	0,2	0,085	-	-	-	-
EPA	%	-	18***	18*	-	18**	-	-
	g/kapsułkę	-	0,15	0,045	0,18	0,18	-	-
DHA	%	-	12***	12*	-	12**	-	-
	g/kapsułkę	-	0,075	0,030	0,12	0,12	-	-
Deklarowane źródło oleju		Olej wątluszowy z dorsza (175 mg) i olej z wiesiołka (172,5 mg)	Olej z kryla (500 mg fosfolipidów)	Olej z ryb (250 mg) i oliwa z oliwek (250 mg)	Olej z ryb (sardynki, makrela śledź, łososia anchois) 1000mg	Olej z ryb 1000mg	Olej z łososia 800mg	Olej z łososia 1000mg

*- wyrażone w g/ 100g produktu, **- wyrażone w g/100 oleju, ***- brak informacji czy procent odnosi ilość do 100g produktu końcowego czy oleju.

Tabela II. Udział omega-3, omega-6, EPA i DHA w badanych suplementach

Table II. Percentage [%] of omega 3, omega 6, DHA and EPA in the pull of fatty acids in analyzed supplements

Suplement	1	2	3	4	5	6	7
Omega 6	4,8 ± 0,0	1,6 ± 0,1	5,0 ± 0,0	1,3 ± 0,1	2,6 ± 0,2	1,6 ± 0,0	1,5 ± 0,1
Omega 3	8 ± 0,0	15,3 ± 0,0	12,8 ± 0,3	30,0 ± 1,9	42,7 ± 0,0	33,0 ± 0,6	27,9 ± 0,0
EPA	3,8 ± 0,0	10,8 ± 0,1	8,1 ± 0,3	18,5 ± 0,8	15,2 ± 1,8	19,0 ± 0,4	17,6 ± 0,4
DHA	4,2 ± 0,0	4,5 ± 0,1	4,7 ± 0,0	11,4 ± 1,1	16,4 ± 0,5	12,4 ± 0,2	10,3 ± 0,1

Zgodnie z danymi źródłowymi (8), udział EPA w oleju z kryla kształtuje się na poziomie ok. 17,4%, co jest wartością zbliżoną do deklarowanej przez producenta preparatu nr 2 (18%). Uzyskane wyniki analizy suplementu nr 2 wskazały jednak, że udział EPA był w nim na poziomie jedynie 10,8%. Ilość EPA w preparacie nr 1 okazała się bardziej zbliżona do poziomu tego kwasu w oleju z nasion wiesiołka, tj. ok. 1,4% (9), niż do zawartości w oleju wątluszowym, czyli ok. 9% (10). Potwierdza to wcześniej postawioną tezę, że w suplemencie nr 1 było więcej oleju z nasion wiesiołka. Natomiast wysoki udział EPA w puli kwasów tłuszczowych w preparatach nr 4 i 5, może sugerować, że do produkcji tych suplementów posłużono się przede wszystkim olejem z sardynki, w którym zawartość tego kwasu waha się

od 6,9 do 18,9% (11). Udział EPA w preparatach 6 i 7, zawierających olej z łososia, był większy od wartości podawanych w literaturze, tj. 4-7,2% (7,8).

Zawartość DHA w preparacie nr 2 była trzykrotnie niższa od podawanej w literaturze dla oleju z kryla, tj. 12,4% (8). Natomiast w oleju z łososia jego udział wynosi średnio 11,1%, co jest wartością zbliżoną do stwierdzonej w preparatach nr 6 i 7. W preparacie nr 1 źródłem DHA prawdopodobnie był olej z dorsza, bowiem olej z nasion wiesiołka nie zawiera tego kwasu (9), podczas gdy w oleju wątluszowym jego zawartość wynosi 10,7% (10). W przypadku preparatu nr 3 źródłem DHA był olej rybny, podobnie jak kwasu EPA. Zgodnie z deklaracją producenta suplement ten wytworzony był z oleju rybnego oraz oliwy z oliwek, która zawiera tylko nieznaczne ilości omega-3 (ok. 0,7%) (12). Wysoki udział DHA w puli kwasów tłuszczowych w suplementach nr 4 i 5 można tłumaczyć dużą zawartością tego kwasu w oleju z makreli 35,2% DHA (13) i sardynek 16,4 do 32,5% (11), użytych do produkcji wyżej wymienionych preparatów.

Kolanowski i Mówińska (14) oceniali jakość 3 suplementów diety kwasów tłuszczowych z grupy omega-3 i omega-6, sprawdzając sumaryczną zawartość PUFA z grupy omega-3 oraz oddzielnie EPA i DHA, a uzyskane wyniki, w przeciwieństwie do tych otrzymanych w niniejszej pracy potwierdzały zgodność wartości deklarowanej przez producenta z wartością rzeczywistą. Jednak porównując materiał badawczy, zbadane w niniejszej pracy suplementy charakteryzowały się większą różnorodnością i obejmowały także preparaty z tzw. „niższej półki”.

WNIOSKI

Analiza deklaracji składu badanych suplementów WNKT wykazała, że w przypadku trzech preparatów przedstawione informacje mogły być niejasne, a przez to niezrozumiałe dla przeciętnego konsumenta. Bazowały bowiem na założeniu, że konsument wie, które z deklarowanych kwasów należą do rodziny omega-3. Niektóre informacje na etykiecie wprowadzały konsumenta w błąd, bowiem podany udział procentowy poszczególnych składników nie zgadzał się z ich deklarowaną zawartością. Wyniki uzyskane w ramach analizy kwasów tłuszczowych z rodziny omega-3 dla badanych preparatów wykazywały częściową zgodność z deklaracją producenta. Tylko w niektórych przypadkach wartość podana na opakowaniu odpowiadała wartości rzeczywistej. Profil kwasów tłuszczowych sześciu z badanych suplementów diety odpowiadał profilowi kwasów tłuszczowych typowemu dla surowców, które wykorzystano do produkcji danego suplementu. Większość zbadanych preparatów charakteryzowała się wyższym udziałem kwasu EPA niż DHA, co wskazuje na mniej korzystny bilans uwzględniając prozdrowotne oddziaływanie tych kwasów.

M. Piecyk, I. Łyczko, A. Bzducha-Wróbel, M. Obiedziński

EVALUATION OF CHOSEN DIET SUPPLEMENTS OF PUFA IN RESPECT OF OMEGA-3 FATTY ACID PORTION

Summary

The aim of the work was to evaluate the producer's declaration as well as to analyze the portion of omega-3 fatty acids in seven diet supplements. On the basis of verification of manufacturers' declarations it was stated that a few of them were incomprehensible and misinform consumers. In case of results of omega -3 fatty acids analysis in studied preparations they showed partial agreement with the producer information on the label. In investigated supplements the percentage portion of eicosapentaenoic acids and the docosaheksaenoic acid were diverse. It was between 3.8 - 19.0 % and 4.2 - 16.4 %, adequately for EPA and DHA. The majority of examined preparations characterized the higher part of EPA than DHA.

PIŚMIENNICTWO

1. Kolanowski W., Świdorski F.: Wielonienasycone kwasy tłuszczowe z grupy n-3 (n-3 PUFA). Korzystne działanie zdrowotne, zalecenia spożycia, wzbogacanie żywności. *Żyw. Człow. Metab.*, 1997; 24 (2): 49-61.-
2. Kolanowski W., Uchmann Z., Świdorski F.: Oszacowanie poziomu długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w diecie dorosłych mieszkańców Warszawy. *Brom. Chem. Toksykol.*, 2004; 37 (2): 137-144.-
3. Psota Tricia L.: Dietary Omega-3 fatty Acids Intake and Cardiovascular Risk. *Am. J. Cardiol.*, 2006; 98S: 3-18.-
4. DeFilippis P. A.: Understanding omega-3's. *Am. Heart J.*, 2006; 151: 564-570.-
5. Jaworska D., Kolanowski W.: Aktualne poglądy na temat wzbogacania żywności w wielonienasycone kwasy tłuszczowe omega-3. *Żyw. Człow. Metab.*, 2005; 32 (Supl. 1): 481-487.-
6. AOCs Official Method Ce 1h-05: Determination of cis-, trans-, saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in vegetable or non-ruminant animal oils and fats by capillary GLC, 2005.-
7. Kaushik, S. J., G. Corraze, J. Radunz-Neto, L. Larroquet, and J. Dumas: Fatty acid profiles of wild brown trout and Atlantic salmon juveniles in the Nivelle basin. *J. Fish Biol.*, 2006; 68: 1376-1387.-
8. Tou Janet C., Jaczynski Jacek, Chen Yi-Chen: Krill for human consumption: nutritional value and potential health benefits. *Nutr. Rev.*, 2007; 65 (2): 63-77.-
9. Peiretti P. G., Palmegiano G. B., Masoero G.: Chemical composition, organic matter digestibility and fatty acid content of evening primrose (*Oenothera paradoxa*) during its growth cycle. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2004; 116: 293-299.-
10. Guil-Guerrero J. L., Belarbi El-Hassan: Purification process for cod liver oil polyunsaturated fatty acids. *JAOCs*, 2001; 78 (5): 480.
11. Shirai N., Terayama M., Takeda H.: Effect of season on the fatty acid composition and free amino acid content of the sardine *Sardinops melanostictus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, Part B, 2002; 131: 387-393.-
12. Vognild E., Elvevoll E.O., Brox J., Olsen R.L., Barstad H., Aursand M., Osterud B.: Effects of dietary marine oils and olive oil on fatty acid composition, platelet membrane fluidity, platelet responses, and serum lipids in healthy humans. *Lipids*, 1998; 33 (4): 427-429.-
13. Ozogul Y., Ozogul F., Alagoz S.: Fatty acid profiles and fat contents of commercially important seawater and freshwater fish species of Turkey: A comparative study. *Food Chem.*, 2007; 103: 217-223.-
14. Kolanowski W., Mówińska W.: Ocena jakości żywieniowej suplementów długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3 obecnych na polskim rynku farmaceutycznym. *Brom. Chem. Toksykol.*, 2006, 39 (2): 155-164.

Adres: 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159c.

*Sylwester Czaplicki, Eulalia J. Borowska, Agnieszka Sawczuk,
Radosław Krajewski*

SOKI Z UDZIAŁEM WINOGRON I WINA JAKO ŹRÓDŁO SKŁADNIKÓW BIOAKTYWNYCH

Katedra Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych, Wydział Nauki o Żywności,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Kierownik: prof. dr hab. *E. J. Borowska*

Oznaczono zawartość związków fenolowych ogółem i zawartość trans-rezweratrolu w handlowych sokach z udziałem soku z winogron i winach. Określono ponadto zdolność do wygaszania aktywności rodnika DPPH[•] przez te produkty. Wyniki opracowano statystycznie w oparciu o program StatisticaTM 8.0 PL określając wartości średnie, odchylenia standardowe, współczynniki korelacji oraz istotność różnic w teście Tukey'a.

Hasła kluczowe: soki, wina, polifenole, rezweratrol, DPPH[•].
Key words: juices, wines, polyphenols, resveratrol, DPPH[•].

Owoce winogron, oraz produkty z nich otrzymane, jak soki i wina, charakteryzują się znaczną zawartością składników bioaktywnych, a dominującymi są związki fenolowe (1, 2). Wielu autorów podkreśla występowanie w produktach z winogron rezweratrolu, który wykazuje m.in. właściwości przeciwtłeniające, antynowotworowe, przeciwgrzybiczne, antywirusowe, antibakteryjne oraz silne przeciwzapalne (3, 4). Rezweratrol i inne stilbeny wytwarzane są przez rośliny w odpowiedzi na stres wywołany czynnikami mechanicznymi, bądź też infekcjami grzybowymi lub promieniowaniem UV (5). Wg *Shakibaei* i współpr. (6) stężenie rezweratrolu w skórce i nasionach winogron jest dużo większe niż w miąższu. Szczególnie bogate w ten związek są ciemne winogrona (7). Szerokie spektrum biologicznego oraz farmakologicznego działania zwłaszcza formy *trans*-rezweratrolu, skierowało uwagę wielu badaczy na produkty zawierające rezweratrol. Na jego obecność w sokach z winogron wskazują m.in. *Romero- Pérez* i współpr. (8) oraz *Dani* i współpr. (2). W winach, zwłaszcza czerwonych występowanie rezweratrolu stwierdzili m.in. *Sun* i współpr. (9) oraz *Wang* i współpr. (10).

Mimo wielu informacji wskazujących na dużą częstotliwość występowania rezweratrolu w tych produktach, wg niektórych autorów (2) rezweratrol jest wytwarzany przede wszystkim przez winogrona uprawiane w systemie ekologicznym. Natomiast winogrona z upraw konwencjonalnych nie zawierają tego

związku lub zawierają ilości śladowe (2). Mając to na uwadze podjęto badania mające na celu określenie zawartości związków fenolowych ogółem, zawartości *trans*-rezweratrolu oraz właściwości przeciwutleniających kilku soków i win, dostępnych na rynku krajowym.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły 4 soki handlowe: z czerwonych winogron, z białych winogron, bananowo- winogronowy i winogronowo- porzeczkowy oraz 4 wina gronowe: czerwone półwytrawne włoskie Sole D'Italia, czerwone półwytrawne hiszpańskie El Sol, czerwone półwytrawne kalifornijskie Carlo Rossi oraz białe półwytrawne hiszpańskie Don Solis. Analizie poddano po trzy opakowania każdego produktu, które zakupiono w sieci handlowej Olsztyna w 2010 roku.

W produktach oznaczono: zawartość polifenoli wg AOAC (11) poprzez pomiar spektrofotometryczny przy długości fali 720 nm, zawartość rezweratrolu wg *Romero-Pérez* i współpr. (12) przy użyciu systemu HPLC serii 1200 firmy Agilent Technologies wyposażonego w pompę czterokanałową oraz detektor fotodiodowy (PDA). Rozdział chromatograficzny prowadzono na kolumnie Synergi Fusion RP-18, 150 x 2,0 mm, 4 μ m w temperaturze 30°C. Podczas analizy zastosowano gradient rozpuszczalników: A) woda: acetonitryl: kwas mrówkowy (98,9:1:0,1), B) acetonitryl:kwas mrówkowy (99,9:0,1). Analizę ilościową przeprowadzono w oparciu o krzywą kalibracyjną. Zdolność wygaszania aktywności rodnika DPPH[•] oznaczono wg *Moure* i współpr. (13). Z każdego opakowania pobrano po trzy próbki, w których analizy wykonano w trzech powtórzeniach (n=9).

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono stosując analizę wariancji z testem *Tukey'a* na poziomie istotności $p < 0,05$, przy użyciu programu komputerowego StatisticaTM 8.0. Ustalono korelacje (r) między pomiędzy zawartością polifenoli a zdolnością wychwytywania wolnych rodników DPPH[•] ($p = 0,05$).

WYNIKI I ICH OMÓWINIE

Analizowane soki i wina charakteryzowały się zbliżonym zakresem związków fenolowych ogółem, odpowiednio dla soków: 2,29-23,43 g/l i dla win: 2,31-21,67 mg/l (tab. I). Najmniejszą ich zawartością charakteryzował się sok z białych winogron oraz wino białe półwytrawne hiszpańskie Don Solis. Należy podkreślić, że zarówno badane przez nas soki, jak i wina, różniły się istotnie statystycznie ($p < 0,05$) pod względem zawartości polifenoli (tab. I).

Tabela 1. Zawartość polifenoli i rezweratrolu oraz aktywność przeciwutleniająca soków i win

Table 1. Content of polyphenols and resveratrol as well as antioxidant activity of juices and wines

Produkt badany	Polifenole (g/l)	Aktywność przeciwutleniająca (μM DPPH /mg polifenoli)	Aktywność przeciwutleniająca (mM DPPH /l wina)	trans-rezweratrol (mg/l wina)
Soki				
Sok z czerwonych winogron	23,43 ^a ± 0,12	4,85 ^a ± 0,09	114,0 ± 7,80	0,075 ± 0,002
Sok z białych winogron	2,29 ^b ± 0,07	0,49 ^b ± 0,03	1,1 ± 0,07	no
Sok bananowo-winogronowy	8,28 ^c ± 0,11	8,35 ^c ± 0,24	69,4 ± 0,54	no
Sok z winogron i czarnej porzeczki	11,45 ^d ± 0,19	6,88 ^d ± 0,21	78,8 ± 4,21	no
Wina				
El Sol	21,67 ^A ± 0,18	6,03 ^{AB} ± 0,09	130,6 ± 8,52	no
Sole D' Italia	17,05 ^B ± 0,10	6,19 ^B ± 0,08	105,6 ± 6,78	0,160 ± 0,014
Carlo Rossi	13,78 ^C ± 0,11	5,56 ^A ± 0,11	76,5 ± 5,42	no
Don Solis	2,31 ^D ± 0,06	0,26 ^C ± 0,02	0,6 ± 0,01	no

Wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami (a, b, c,... lub A, B, C,...) różnią się istotnie statystycznie ($p < 0,05$); wartości prezentowane w tabeli są wartościami średnimi dla $n=9$; no – nie oznaczono.

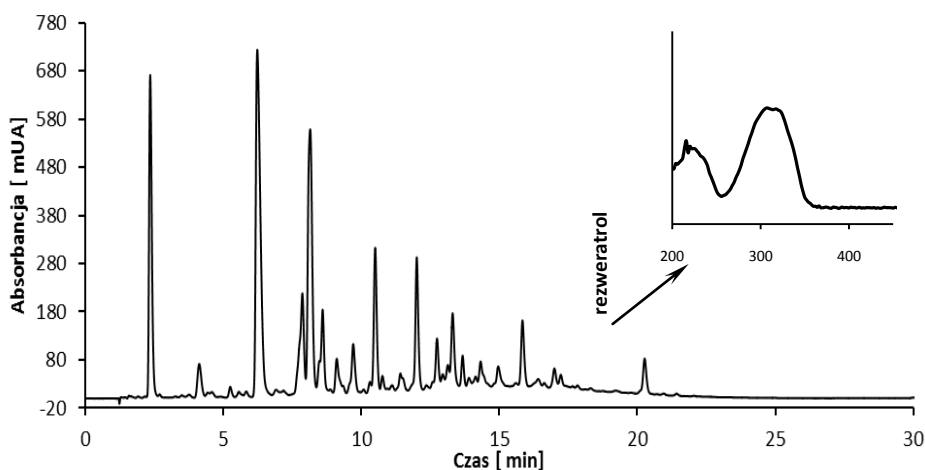
Stężenie związków fenolowych ogółem w analizowanych przez nas sokach oznaczonych z odczynnikiem *Folina-Ciocalteua*, jest zbliżone do wyników uzyskanych przez *Haight i Gump* (14), którzy podają zawartość polifenoli w sokach z czerwonych winogron w zakresie 3,10-23,30 g/l, natomiast w sokach z białych winogron w granicach 0,18-4,15 g/l. Podobnie jak w naszych badaniach, *Stratil i współpr.* (15) stwierdzili największą zawartość polifenoli w winach czerwonych, co wynika przede wszystkim z obecności antocyjanów. Na mniejsze stężenie polifenoli wskazują natomiast *Gawlik i współpr.* (16).

Analiza badanych przez nas produktów wykazała obecność *trans*- rezweratrolu tylko w soku z czerwonych winogron (0,07 mg/l soku) i w winie Sole D' Italia (0,16 mg/l wina) (tab. I). Przedstawiony przykładowo na ryc. 1 chromatogram, wskazuje na obecność formy *trans*- rezweratrolu w winie Sole D' Italia. Wg wielu autorów obecność rezweratrolu w winach uwarunkowana jest w znaczącym stopniu technikami produkcji win i soków, przy czym szczególne znaczenie przypisuje się procesowi maceracji miazgi owocowej (17). Wg *González- Barrio i współpr.* (18) podwyższenie temperatury maceracji miazgi owoców winogron białych spowodowało ponad 20-krotne zwiększenie zawartości rezweratrolu w sokach.

Również środki klarujące i filtry mogą wpływać na zmniejszenie poziomu rezweratrolu i jego pochodnych w sokach i winach (19, 20). *Yasui i współpr.* (21) oznaczyli *trans*- rezweratrol w japońskich sokach winogronowych na poziomie 0,04-0,44 mg/l, natomiast *Soleas i współpr.* (22) w różnych rodzajach soków winogronowych oznaczyli *trans*- rezweratrol w stężeniu 3-15 $\mu\text{g/l}$, przy czym nie wykazali obecności *cis*-rezweratrolu. *Romero- Pérez i współpr.* (23) podają, że w sokach z białych winogron, w zależności od odmiany, *trans*- rezweratrol występuje

na poziomie od 0,003 mg/l do 1,09 mg/l. Jednakże autorzy ci, w swoim doświadczeniu nie wzięli pod uwagę możliwości wystąpienia glikozydowych form tych związków, mianowicie- *trans*-piceidu i *cis*-piceidu. Wcześniej, *Romero-Pérez* i współpracownicy (24) obecność tych form stwierdzili w białych winach. Mniejsze stężenie rezweratrolu w winach białych niż w czerwonych, autorzy tłumaczą brakiem kontaktu nastawu wina ze skórkami winogron białych podczas procesu maceracji i następnie fermentacji. Potwierdzają to m.in. badania *Okuda* i *Yokotsuka* (25), którzy wykazali, że zawartość *trans*-rezweratrolu zarówno w skórkach białych, jak i czerwonych winogron, kształtuje się na zbliżonym poziomie. Informacje literaturowe dotyczące występowania rezweratrolu w sokach z winogron są zróżnicowane. *Dani* i współpracownicy (2) oznaczyli rezweratrol tylko w sokach z czerwonych winogron, w sokach z białych winogron obecności tego związku nie stwierdzili, przy czym większe ilości rezweratrolu zawierały soki uzyskane z winogron uprawianych systemem ekologicznym w porównaniu z uprawą konwencjonalną. Duże ilości rezweratrolu w sokach z winogron, w zakresie 25,9-34,3 mg/l, stwierdzili *de Freitas* i współpracownicy (26). Podają oni jednak jego całkowitą zawartość, włączając izomery *trans*- i *cis*- rezweratrolu oraz *trans*- i *cis*- piceidy tego związku.

Analizowane soki i wina w większości przypadków różniły się istotnie statystycznie ($p < 0,05$) pod względem zdolności wygaszania aktywności rodnika DPPH[•] (tab. I). Odnosząc wyniki na L soku lub wina, największe wartości uzyskano dla produktów z czerwonych winogron. Wyliczone współczynniki korelacji między stężeniem polifenoli a zdolnością wygaszania aktywności DPPH[•] są bardzo wysokie; dla soków $r = 0,96$, a dla win $r = 0,98$. Na występowanie korelacji między tymi wyróżnikami wskazują także i inni autorzy (27).



Ryc. 1. Chromatogram i widmo UV-Vis rezweratrolu wina Sole D'Italia.

Fig. 1. Chromatogram and UV-Vis spectrum of Sole D'Italia wine resveratrol.

WNIOSKI

1. Analizowane soki handlowe zawierające sok z winogron oraz wina charakteryzowały się szerokim zakresem polifenoli; szczególnie dobrym źródłem tych związków są produkty z winogron czerwonych.

2. Soki z winogron czerwonych i wina czerwone odznaczały się także największą zdolnością do wygaszania aktywności rodnika DPPH; między tym wyróżnikiem a stężeniem polifenoli wykazano bardzo wysoką korelację.

3. Wśród ocenianych produktów, obecność *trans*- rezweratrolu stwierdzono w soku z winogron czerwonych oraz w winie Sole D'Italia.

S. Czaplicki, E. J. Borowska, A. Sawczuk, R. Krajewski

JUICES WITH GRAPE FRUITS AND WINES AS SOURCE OF BIOACTIVE SUBSTANCES

Summary

Total phenolic compounds and resveratrol content in commercial juices with addition of grape juice and wines were analyzed. Their ability to DPPH radical scavenging was also specified. The results were statistically prepared with Statistica™ 8.0 PL program. The highest polyphenols content and ability to DPPH radical scavenging were observed in red grape juice and red wine. In red grape juice and Sole D'Italia red wine resveratrol was only observed.

PIŚMIENNICTWO

1. Czech A., Malik A., Pitucha I., Woźnica A.: Porównanie zawartości związków bioaktywnych w winach czerwonych pochodzących z różnych krajów europejskich. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009; 65 (4): 142-148.- 2. Dani C., Oliboni L.S., Vanderlinde R., Bonatto D., Salvador M., Henriques J.A.P.: Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically- or conventionally- produced grapes. *Food. Chem. Toxicol.*, 2007; 45 (12): 2574-2580.- 3. Kim H.J., Chang E.J., Cho S.H., Chung S.K., Park H.D., Choi S.W.: Antioxidative activity of resveratrol and its derivatives isolated from seeds of *Paeonia lactiflora*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2002; 66 (9): 1990-1993.- 4. Wu J.M., Wang Z.R., Hsieh T.C., Bruder J.L., Zou J.G., Huang Y.Z.: Mechanism of cardioprotection by resveratrol a phenolic antioxidant present in red wine. *Intern. J. Molec. Med.*, 2001; 8 (1): 3-17.- 5. Aggarwal B.B., Bhardwaj A., Aggarwal R.S., Seeram N.P., Shishodia S., Takada Y.: Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res.*, 2004; 24 (5A): 2783-2840.- 6. Shakibaei M., Harikumar K.B., Aggarwal B.B.: Resveratrol addition: to die or not to die. *Molec. Nutr. & Food Res.*, 2009; 53 (1): 115-128.- 7. Daniel O., Meier M.S., Schlatter J., Frischknecht P.: Selected phenolic compounds in cultivated plants: ecologic functions, health implications, and modulation by pesticides. *Environ. Health Perspect.*, 1999; 107: 109-114.- 8. Romero-Pérez A.I., Ibern-Gómez M., Lamuela-Raventós R.M., de La Torre-Boronat M.C.: Piceid, the major resveratrol derivative in grape juices. *J. Agric. Food Chem.*, 1999; 47 (4): 1533-1536.- 9. Sun B., Ferrao C., Spranger M. I.: Effect of wine style and winemaking technology on resveratrol levels in wines. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 2003; 18(2): 77-91.- 10. Wang Z., Zou J., Huang Y., Cao K., Xu Y., Wu J. M.: Effect of resveratrol on platelet aggregation in vivo and in vitro. *Chinese Med. J.*, 2002; 115 (3): 378-380.

11. AOAC (Association of the Official Analytical Chemists): Official Methods of Analysis. Washington DC, 1974: 9. 110.- 12. Romero-Pérez A.I., Lamuela-Raventós R.M., Andrés-Lacueva C., de la Torre-Boronat M.C.: Method for the quantitative extraction of the resveratrol and piceid isomers in grape berry skins: Effect of powdery mildew on the stilbene content. *J. Agric. Food Chem.*, 2001; 49

(1): 210-215.- 13. *Moure A., Cruz J. M., Franco D., Dominguez M., Sineiro J., Dominguez H., Núñez M. J., Parajó C.*: Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 2001; 72 (2): 145-171.- 14. *Haight K.G., Gump B.H.*: Red and white grape juice concentrate component ranges. *J. Food Composit. Anal.*, 8 (1): 71-77.- 15. *Stratil P., Kuban V., Fojtova J.*: Comparison of the phenolic content and total antioxidant activity in wines as determined by spectrophotometric methods. Faculty of Agr., Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Czech Republic, 2008; 26 (4): 242-253.- 16. *Gawlik M.B., Nowak L., Baran M.*: Analiza właściwości win produkcji polskiej. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2008; 1:15-20.- 17. *Mattivi F., Reniero F., Korhammer S.*: Isolation, characteristic and evolution in red wine vinification of resveratrol monomers. *J. Agric. Food Chem.*, 1995; 43 (7): 1820-1823.- 18. *González-Barrio R., Vidal-Guevara M.L., Tomás-Barberán F.A., Espín J.C.*: Preparation of a resveratrol-enriched grape juice based on ultraviolet C-treated berries. *Innovative Food Sci. Emerging Technol.*, 2009; 10 (3): 374-382.- 19. *Lamuela-Raventós R.M., Romero-Pérez A.I., Waterhouse A.L., de la Torre-Boronat M.C.*: Direct HPLC analysis of cis- and trans-resveratrol and piceid isomers in Spanish red *Vitis vinifera* wines. *J. Agric. Food Chem.*, 1995; 43 (2): 281-283.- 20. *Soleas G.J., Goldberg D.M., Diamandis E.P., Karumanchiri A., Yan J., Ng E.*: Aderivatized gas chromatographic-mass spectrometric method for the analysis of both isomers of resveratrol in juice and wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1995, 46 (3): 346-352.

21. *Yasui Y., Nakabayashi T., Naito A., Kawaguchi M., Yunoki K., Ohnishi M Ito S.*: Changes in concentration of resveratrol during fermentation of musts from grapes grown in Tokachi. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1997; 48 (1): 129.- 22. *Soleas G.J., Goldberg D.M., Karumanchiri A., Diamandis E.P., Ng E.*: Influences of viticultural and oenological factors on changes in cis- and trans-resveratrol in commercial wines. *J. Wine Res.*, 1995b; 6 (2): 107-121.- 23. *Romero-Pérez A.I., Ibern-Gómez M., Lamuela-Raventós R.M., de La Torre-Boronat M.C.*: Piceid, the major resveratrol derivative in grape juices. *J. Agric. Food Chem.*, 1999; 47 (4): 1533-1536.- 24. *Romero-Pérez A.I., Lamuela-Raventós R.M., Waterhouse A.L., Torre-Boronat M.C.*: Levels of cis- and trans-Resveratrol and Their Glucosides in White and Rose *Vitis vinifera* Wines from Spain. *J. Agric. Food Chem.*, 1996; 44: 2124-2128.- 25. *Okuda T., Yokotsuka K.*: Trans-resveratrol concentrations in berry skins and wines from grapes grown in Japan. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1996; 47 (1): 93-99.- 26. *de Freitas A.A., de Freitas Hirata G., Tonhi C.D., Correia de Costa J.M., Clemente E.*: Resveratrol Contents found in grape juice extracted from *Vitis* sp. Varieties and produced through organic and conventional cultivation systems. *J. Food Technol.*, 2009; 7 (3): 98-101.- 27. *Yang J., Martinson T.E., Liu R.*: Phytochemical profiles and antioxidant activities of vine grapes. *Food Chem.*, 2009; 116 (1): 332-339.

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

Małgorzata E. Zujko, Anna Witkowska, Iwona Mirończuk-Chodakowska

POTENCJAŁ ANTYOKSYDACYJNY HERBATEK OWOCOWYCH

Zakład Technologii i Towaroznawstwa Żywności Uniwersytetu Medycznego
w Białymstoku

Kierownik: dr hab. n. med. A. Witkowska

Oznaczono całkowitą zawartość polifenoli oraz potencjał przeciwutleniający metodą FRAP i DPPH w herbatach owocowych: dzikiej róży, hibiskusa i maliny. Wykazano, że całkowita zawartość polifenoli w naparach owocowych wahała się w zakresie 28-40 mg/100ml, aktywność antyoksydacyjna FRAP – 0,207-0,332 mmol/100ml, zdolność wygaszania rodnika DPPH (EC_{50}) – 2,070-2,712 g/g. Najwyższą zawartością polifenoli i najlepszymi właściwościami przeciwutleniającymi charakteryzowała się herbata z dzikiej róży.

Hasła kluczowe: herbata owocowa, polifenole, aktywność antyoksydacyjna, FRAP, DPPH.

Key words: fruit tea, polyphenols, antioxidant activity, FRAP, DPPH.

Herbata jest jednym z popularniejszych napojów w Polsce, spożywanym w ilości około dwóch filiżanek naparu na osobę dziennie. Oprócz tradycyjnych herbat czarnych, czerwonych, żółtych czy zielonych, w ostatnich latach wzrasta również konsumpcja naparów owocowych, zwyczajowo nazywanych herbatkami owocowymi (1).

Badania dotyczące walorów prozdrowotnych herbat wskazują na ich wysoki potencjał antyoksydacyjny związany z zawartością polifenoli (2, 3). Związki te, ze względu na ich działanie przeciwutleniające, przeciwzapalne i przeciwnowotworowe znajdują zastosowanie w profilaktyce chorób o podłożu wolnorodnikowym (4). Z uwagi na wysokie preferencje konsumentów w stosunku do herbat owocowych i rosnące zainteresowanie żywnością bogatą w naturalne składniki biologicznie aktywne, celem przeprowadzonych badań było określenie właściwości przeciwutleniających i zawartości polifenoli w naparach herbat owocowych dostępnych w handlu detalicznym.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły 3 rodzaje herbat o nazwie handlowej: herbata z dzikiej róży, hibiskusa i maliny (po 3 próbki od różnych producentów). Napary

sporządzono z 1 g suszu w 100 ml wody redestylowanej o temp. 100°C. Herbatki parzono 10 min., zgodnie z zaleceniami producenta, a następnie sączono przez bibułę filtracyjną. W przesączu oznaczono całkowitą zawartość polifenoli, aktywność antyoksydacyjną metodą FRAP oraz zdolność wygaszania rodnika DPPH.

Całkowitą zawartość polifenoli w naparach oznaczono spektrofotometrycznie wg *Singletona* i *Rossi* (5) i wyrażono w przeliczeniu na ekwiwalenty kwasu gallusowego (GAE). Potencjał antyoksydacyjny oznaczono za pomocą metody FRAP (ferric reducing antioxidant potential) wg *Benzie* i *Strain* (6) i wyrażono w mmol/100ml naparu. Zdolność wygaszania rodnika DPPH (rodnik 2,2-difenylo-1-pikrylhydryzylowy) oznaczono wg *Shimada* i współpr. (7). Wyniki wyrażono jako współczynnik EC_{50} (g/g DPPH) określający ilość ekstraktu potrzebnego do redukcji początkowego stężenia syntetycznego rodnika DPPH o 50%. Niższa wartość EC_{50} wskazuje na wyższą efektywność dezaktywacji wolnego rodnika.

Wartości średnie i odchylenia standardowe badanych parametrów obliczono przy pomocy programu komputerowego Statistica 9.0 firmy StatSoft. Do analizy korelacji zastosowano test *Pearsona* i wyznaczono współczynnik korelacji liniowej (r) między zawartością polifenoli i aktywnością antyoksydacyjną naparów. Za poziom istotności przyjęto wartość $\alpha=0,05$.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Tabela 1. Skład badanych herbatk owocowych

Table 1. Composition of fruit teas studied

Nazwa handlowa herbatk owocowych	Producent	Skład herbatk
Dzika róża	A	owoc dzikiej róży (60%), kwiat hibiskusa, jabłko, aronia
	B	owoc dzikiej róży (50%), kwiat hibiskusa, jabłko, owoc bzu czarnego
	C	owoc dzikiej róży (66%), kwiat hibiskusa, owoc bzu czarnego, owoc tarniny
Hibiskus	A	kwiat hibiskusa (100%)
	B	kwiat hibiskusa (100%)
	C	kwiat hibiskusa (100%)
Malina	A	owoc maliny (47%), kwiat hibiskusa, aromaty, liść jeżyny, kwas cytrynowy, owoc bzu czarnego
	B	owoc maliny (47%), kwiat hibiskusa, aromaty, liść jeżyny, kwas cytrynowy, owoc bzu czarnego
	C	owoc maliny (50%), kwiat hibiskusa, aromat

Do badań wytypowano herbatki owocowe wyprodukowane na bazie suszów owocowych o największej zawartości składnika decydującego o nazwie handlowej produktu. Na podstawie analizy składu herbatk (zgodnie z deklaracją producenta)

wykazano, że jedynie herbatka z hibiskusa wyprodukowana została w 100% na bazie kwiatów hibiskusa. Natomiast zawartość owocu dzikiej róży w herbatkach z dzikiej róży wahała się w zakresie 50-66%, a owocu maliny w herbatkach malinowych wynosiła 47-50% w zależności od producenta (tab. I).

Wyniki oceny zawartości polifenoli i aktywności antyoksydacyjnej naparów przedstawiono w tab. II.

Tabela II. Całkowita zawartość polifenoli i aktywność antyoksydacyjna naparów herbatek owocowych

Table II. Total polyphenols content and antioxidant activity of fruit tea infusions

Nazwa handlowa herbatek owocowych	Producent	N	Całkowita zawartość polifenoli (mg/100ml)	Aktywność antyoksydacyjna metoda FRAP (mmol/100ml)	Aktywność antyoksydacyjna metoda DPPH EC ₅₀ (mg/ml)
Dzika róża	A	2	34	0,475	39
	B	2	31	0,307	41
	C	2	19	0,215	39
X _{sr} ± SD			28 ± 8 [†]	0,332 ± 0,13	40 ± 1 ^{**}
Hibiskus	A	2	15	0,146	41
	B	2	24	0,310	53
	C	2	18	0,230	50
X _{sr} ± SD			19 ± 5	0,229 ± 0,08	48 ± 6
Malina	A	2	14	0,208	44
	B	2	14	0,190	46
	C	2	13	0,223	51
X _{sr} ± SD			14 ± 1 [†]	0,207 ± 0,02	47 ± 3 ^{**}

N – liczba powtórzeń; EC₅₀ – stężenie naparu potrzebnego do 50% redukcji początkowego stężenia syntetycznego rodnika DPPH; X_{sr} – średnia arytmetyczna; SD – odchylenie standardowe; [†] – różnica statystycznie istotna przy p<0,04; ^{**} – różnica statystycznie istotna przy p<0,03.

Średnia zawartość polifenoli w herbatkach owocowych wahała się od 14 mg/100ml naparu w herbatkach malinowych do 28 mg/100ml w herbatkach z dzikiej róży. Były to różnice istotne statystycznie (p<0,04). Uzyskane rezultaty dotyczące herbatek z dzikiej róży są zgodne z wynikami innych badań pod względem najwyższej zawartości polifenoli, jednak różnią się pod względem zakresu wartości (8). Obserwacja ta może mieć związek z różnym składem analizowanych herbatek o tej samej nazwie handlowej.

Podobnie jak w przypadku wysokiej zawartości polifenoli, w herbatce z dzikiej róży obserwowano też wysoką aktywność antyoksydacyjną oznaczoną metodą FRAP – 0,332±0,13 mmol/100ml. Natomiast najniższą wartość FRAP wśród herbatek stwierdzono w przypadku herbatki malinowej – 0,207±0,02 mmol/100ml. Uzyskane wyniki stanowią potwierdzenie dla wcześniejszych badań, w których mieszanki herbatek o najwyższej procentowej zawartości dzikiej róży wykazywały najwyższe właściwości antyoksydacyjne (9). Stwierdzono też, że aktywność antyoksydacyjna FRAP jest związana z zawartością polifenoli w naparach (r=0,89,

$p=0,01$), podobnie jak w innych doniesieniach (10). Prawidłowość ta jest związana z faktem, że związki polifenolowe mogą pełnić rolę substancji redukujących, blokujących wolne rodniki lub tworzących kompleksy z metalami katalizującymi reakcje utleniania (11).

Stwierdzono, że badane napary różniły się statystycznie pod względem zdolności do wygaszania rodnika DPPH ($p<0,03$). Zdolność wygaszania rodnika DPPH wyrażona współczynnikiem EC_{50} wahała się w zakresie – 2,070-2,712 g/g. Największą aktywnością charakteryzował się napar z dzikiej róży, podobnie jak w badaniach innych autorów (8).

W porównaniu do tradycyjnych herbat, analizowane herbatki owocowe zawierały niższą zawartość polifenoli i wykazywały niższą aktywność antyoksydacyjną, jednak z uwagi na wysokie preferencje konsumentów w stosunku do tych napojów, stanowić one mogą istotne uzupełnienie diety w naturalne antyoksydanty (12, 13).

WNIOSKI

1. Herbatki owocowe, takie jak malinowa i z dzikiej róży, są w istocie mieszankami suszu z różnych owoców, ale z przewagą składnika ujętego w nazwie handlowej.

2. Najwyższą zawartością polifenoli i najlepszymi właściwościami przeciwutleniającymi charakteryzowała się herbatka z dzikiej róży.

3. Herbatki owocowe mogą stanowić cenne uzupełnienie diety w naturalne antyoksydanty.

M. E. Zujko, A. Witkowska, I. Mirończuk-Chodakowska

ANTIOXIDANT POTENTIAL OF FRUIT TEAS

Summary

This study aimed to measure the total polyphenol content and antioxidant potential with the FRAP method and DPPH radical scavenging activity of fruit tea infusions. It was found that the total polyphenol content ranged – 28-40 mg/100ml, antioxidant potential FRAP was – 207-332 mmol/100ml and DPPH (EC_{50}) – 2.070-2.712 g/g. The rose hip infusions were characterized by the highest total polyphenols contents and antioxidant activities.

PIŚMIENNICTWO

1. Śmiechowska M., Dmowski P., Newerli-Guz J.: Zachowania konsumentów na rynku herbaty. *Hand. Wewn.*, 2002; 43 (10): 226-229. – 2. Henning S.M., Niu Y., Lee N.H., Thames G.D., Minutti R.R., Wang H., Go V.L.W., Heber D.: Bioavailability and antioxidant activity of tea flavanols after consumption of green tea, black tea, or a green tea extract supplement. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004; 80: 1558–64. – 3. Su X., Duan J., Jiang Y., Duan X., Chen F.: Polyphenolic profile and antioxidant activities of oolong tea infusion under various steeping conditions. *Int. J. Mol. Sci.*, 2007; 8: 1196-205. – 4. Yao L.H., Jiang Y.M., Shi J., Tomás-Barberán F.A., Datta N., Singanusong R., Chen S.S.: Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 2004; 59: 113–22. – 5. Singleton

V.L., Rossi J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic - phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1965; 16: 144-58. – 6. 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: 70-6. – 7. Shimada K., Fujikawa K., Yahara K., Nakamura T.: Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J. Agric. Food Chem.*, 1992; 40: 945-8. – 8. Szlachta M., Malecka M.: Właściwości przeciwutleniające herbatek owocowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2008; 1 (56): 92-102. – 9. Piljac-Žegarac J., Valek L., Stipčević T., Martinez S.: Electrochemical determination of antioxidant capacity of fruit tea infusions. *Food Chem.*, 2010; 121: 820-825. – 10. Zujko M.E., Witkowska A.M.: Antioxidant potential and polyphenol content of selected food. *Int. J. Food Prop.*, 2011; 14: 300-308.

11. Oszmiański J.: Polifenole jako naturalne przeciwutleniacze w żywności. *Przem. Spoż.*, 1995; 3: 94-96. – 12. Almajano M.P., Carbó R., Jiménez J.A.L., Gordon M.H.: Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chem.*, 2008; 108: 55-63. – 13. Saura-Calixto F., Serrano J., Goni I.: Intake and bioaccessibility of total polyphenols in whole diet. *Food Chem.*, 2007; 101 (2): 492-501.

Adres: 15-054 Białystok, ul. Mieszka I 4B.

Przemysław Dmowski, Maria Śmiechowska, Aleksandra Prystupa

AKTYWNOŚĆ ANTYOKSYDACYJNA WYBRANYCH NAPARÓW *ILEX PARAGUARIENSIS* DOSTĘPNYCH NA RYNKU TRÓJMIASTA

Katedra Towaroznawstwa i Zarządzania Jakością Akademii Morskiej w Gdyni
Kierownik: prof. dr hab. P. Przybyłowski

W pracy oznaczono aktywność antyoksydacyjną oraz zawartość witaminy C w naparach yerba mate (Ilex paraguariensis) dostępnych na rynku Trójmiasta. Wykazano, że sposób przygotowania naparu ma istotny wpływ, zarówno na aktywność antyoksydacyjną, jak i na zawartość witaminy C.

Hasła kluczowe: yerba mate, aktywność antyoksydacyjna, witamina C.
Key words: yerba mate, antioxidant activity, vitamin C.

Ilex paraguariensis St. Hilaire, potocznie nazywana mate lub yerba mate jest rośliną pochodzącą z Ameryki Południowej. Wyróżnia się kilka gatunków botanicznych krzewu *I. paraguariensis*: *I. brevicuspis* Reisseck; *I. theezans* C. Martius ex Reisseck; *I. microdonta* Reisseck; *I. dumosa* Reisseck var. *dumosa*; *I. taubertiana* Loes; *I. pseudobuxus* Reisseck; *I. integerrima*; oraz *I. argentina* Lillo (1, 2). Ze względu na specyficzne wymagania agrarne oraz warunki uprawy krzewu *I. paraguariensis* uprawiane i konsumowane są głównie w Argentynie, Brazylii, Paragwaju oraz Urugwaju, gdzie ponad 30% populacji wypija więcej niż 1 litr napoju w ciągu doby (3, 4, 5). W Polsce napój ten nie jest jeszcze zbyt powszechnie spożywany. Z badań własnych wynika, że ok. 30% respondentów nigdy jeszcze nie konsumowało mate.

Ze względu na swoje właściwości lecznicze oraz wartości odżywcze yerba mate spożywana jest w postaci naparów lub wywarów (6). Suszone listki oraz niewielkie gałązki *I. paraguariensis* wykorzystywane są do przygotowywania dwóch głównych rodzajów naparów *chimarrão* oraz *tereré* (5, 7). Wyciąg z *I. paraguariensis* wykorzystywany jest jako fitoterapeutyk do leczenia nadwagi i otyłości, a także, ze względu na zawartości witamin i składników mineralnych, kofeiny, teofiliny oraz teobrominy w suplementach diety. Yerba mate spożywana w tradycyjny sposób (500 ml) zawiera 260 mg kofeiny (8). Związki zawarte w yerba mate wykazują także działanie przeciwko chorobom układu krążenia, raka piersi, przetyku, przewodu pokarmowego, raka płuc i skóry (1, 2, 7, 9). Suche liście yerba mate zawierają m.in. kwas chlorogenowy i jego izomery, kwas kawowy oraz chinowy. W yerba mate obecne są również rutyna, kwercetyna i kemferol (10, 11).

Celem podjętych badań było oznaczenie zawartości witaminy C oraz aktywności antyoksydacyjnej w naparach yerba mate zakupionych na terenie Trójmiasta.

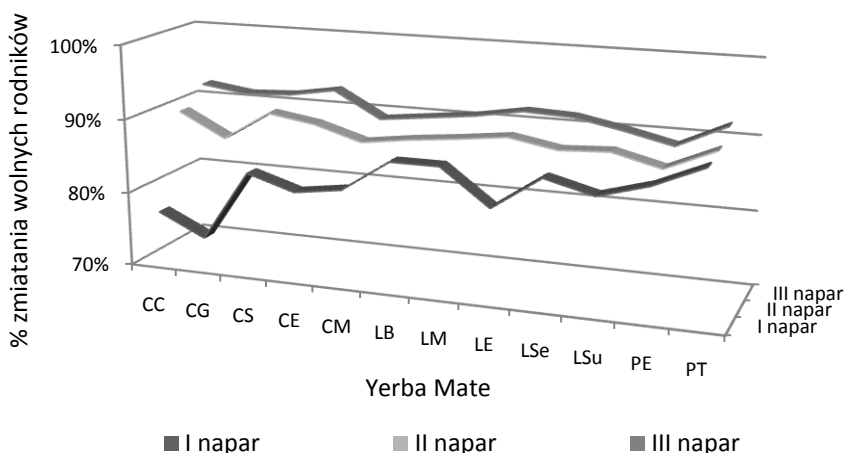
MATERIAŁ I METODY

W nawiązaniu do celu zakres pracy obejmował oznaczenie zawartości witaminy C metodą Tillmansa oraz oznaczenie aktywności antyoksydacyjnej w ekstraktach wodnych yerba mate przy użyciu DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl). Do 1 ml próbki herbaty dodano 2ml rozpuszczonego w metanolu DPPH. Po upływie 30 minut dokonano pomiaru absorbancji ($\lambda=517$ nm). Aktywność antyoksydacyjną przedstawiono jako procent zmiatania wolnych rodników.

Materiał do badań stanowiły produkty yerba mate zakupione na terenie Trójmiasta. Łącznie przeanalizowano 12 próbek. Próbkę zakodowano i przygotowano napary. W tym celu odważono 3 g yerba mate i zalano do 100 ml wodą o temperaturze 85 °C. Po upływie 3 minut ekstrakt przesączono do innego naczynia a pozostałą część ponownie zalano wodą. Proces powtórzono trzykrotnie. Oznaczenia wykonano w dwóch powtórzeniach. Uzyskane wyniki badań opracowano przy użyciu programu Statistica 6.0.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Aktywność antyoksydacyjną, wyrażoną jako procent zmiatania wolnych rodników przedstawiono na ryc. 1.



Ryc. 1. Aktywność antyoksydacyjna badanych próbek yerba mate.

Fig. 1. Radical-scavenging activity of the Yerba Mate samples.

Analizując uzyskane dane można stwierdzić, że najniższą aktywnością antyoksydacyjną, bez względu na krotność parzenia, charakteryzują się napary CC oraz CG. Procent zmiatania wolnych rodników dla wymienionych próbek, w pierwszym naparze nie przekroczył 80% i wynosił odpowiednio ok. 77% oraz 74%. Najwyższą aktywnością antyoksydacyjną wykazały próbki PE, PT, LB oraz LM, których procent zmiatania wolnych rodników, dla pierwszego naparu, był najwyższy i wynosił ponad 89%. Podobne relacje zaobserwowano przy każdym kolejnym parzeniu. Dodatkowo analiza wariancji jednoczynnikowej ($p=0,05$) wykazała statystycznie istotne różnice w aktywności antyoksydacyjnej w zależności od krotności zaparzania (ANOVA, $F_{3,28}=21,7$, $p<0,05$). Każdy kolejny napar charakteryzował się wyższą zdolnością do zmiatania wolnych rodników. Średnia aktywność antyoksydacyjna wynosiła odpowiednio 83,7±4,74% dla naparów przygotowanych w pierwszym parzeniu, 88,8±1,22% w drugim oraz 90,9±1,21% w trzecim. W przypadku naparów przygotowanych poprzez trzykrotne zalanie wodą, aktywność antyoksydacyjna wzrastała o około 10% w stosunku do naparów przygotowanych poprzez pierwsze zalanie. Uzyskane wyniki mogą świadczyć o tym, że większość substancji bioaktywnych przechodzi do naparu w trakcie drugiego a nawet trzeciego parzenia.

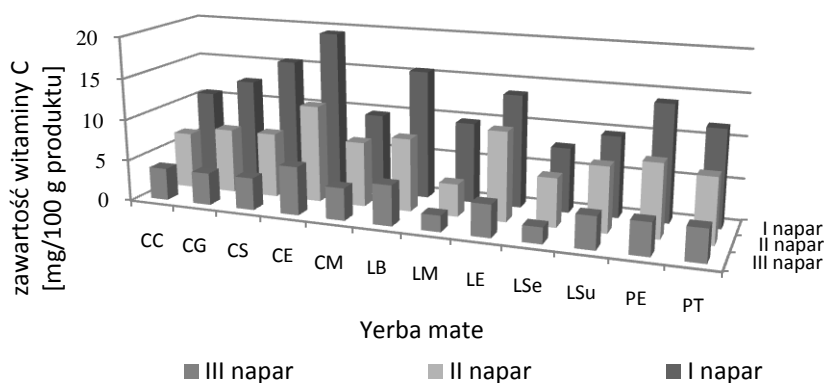
Porównując otrzymane w pracy wyniki z danymi literaturowymi prezentowanymi przez innych autorów, należy zwrócić uwagę na występujące trudności. Autorzy stosują różne metody ekstrakcji (metanolem, wodą) oraz różne sposoby prezentacji uzyskanych wyników, przez co trudno jest odnosić wyniki własne do wyników z innych prac eksperymentalnych.

Podobny procent zmiatania wolnych rodników w yerba mate wskazał *Bastos* i współpr. (12). Ponadto wykazali ponadto, że aktywność antyoksydacyjna mate (90,45±0,22% zmiatania wolnych rodników) jest wyższa niż zielonej herbaty (88,36±0,76% zmiatania wolnych rodników).

Również *Newell* i współpr. (13) wskazali, że mate (13,1 nmol TEAC/ μ g ekwiwalentu kwasu galusowego) charakteryzuje się większym potencjałem antyoksydacyjnym niż herbata zielona (9,1 nmol TEAC/ μ g ekwiwalentu kwasu galusowego). Natomiast *Wolosiak* i współpr. (14), oznaczając aktywność przeciwutleniającą badanych naparów mate w stosunku do ABTS uzyskali wyniki na poziomie ok. 100 mg Troloxu/100 ml naparu co stanowiło ok. 140 mg Troloxu/g s.m. produktu.

Kolejnym oznaczanym parametrem w badanych próbkach mate była zawartość witaminy C (ryc. 2). Z danych zaprezentowanych na rysunku 2 wynika zależność odwrotna od tej przedstawionej powyżej. Najwięcej witaminy C oznaczono w naparach uzyskanych z pierwszego zaparzania. Wartości te były nawet dwukrotnie wyższe niż w naparach uzyskanych poprzez kolejne zaparzanie. Najwyższą zawartość witaminy C oznaczono w naparach mate CE, CS oraz LB – odpowiednio ok. 19 mg/100g dla CE oraz ok. 15 mg/100 g dla CS i LB. Natomiast najniższe w próbce LSe (ok. 8 mg/100 g produktu - dla I naparu). Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała znaczący wpływ krotności zaparzania (pośrednio

czasu parzenia) na zawartość witaminy C (ANOVA, $F_{3,28}=42,37$, $p<0,05$). Średnia zawartość witaminy C wynosiła odpowiednio $12,5\pm 3,3$ mg/100 g dla naparów przygotowanych w pierwszym parzeniu, $7,9\pm 2,02$ mg/100 g w drugim oraz $3,8\pm 1,05$ mg/100 g w trzecim. Podobne wyniki zaprezentowali *Gonzalez de Mejia* i współpr. (14). W badanych produktach mate, średnia zawartość witaminy C wynosiła 5,11 mg/100 g produktu.



Ryc. 2. Zawartość witaminy C w badanych próbkach yerba mate.

Fig. 2. The content of vitamin C in the Yerba Mate samples.

WNIOSKI

1. Sposób przygotowania naparu z *Ilex paraguariensis* ma istotny wpływ na aktywność antyoksydacyjną oraz na zawartość witaminy C.

2. W naparach przygotowanych poprzez trzykrotnie zalanie suszu stwierdzono większą zdolność do zmiatania wolnych rodników przy jednoczesnym zmniejszeniu zawartości witaminy C.

3. Ze względu na wysoką aktywność antyoksydacyjną, yerba mate może być dobrym źródłem antyutleniaczy w diecie człowieka.

P. Dmowski, M. Śmiechowska, A. Prystupa

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SELECTED BEVERAGES OF *ILEX PARAGUARIENSIS*
AVAILABLE ON THE TRICITIES MARKET

Summary

In the paper the influence of the kind of preparing of Yerba Mate on the radical-scavenging activity and content of vitamin C was presented. It has been reported, that the brewing method of Yerba Mate

had a significant effect on the radical-scavenging activity and the content of vitamin C. Yerba mate brewed for the third time demonstrated a greater radical-scavenging activity and lower levels of vitamin C than brewed for the first and second time.

PÍSMIENNICTWO

1. Filipa R., Lopeza P., Gibertib G., Coussioa J., Ferraro G.: Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. *Fitoterapia*, 2001; 72: 774-778.- 2. Santiago I., Cogoi L., López P., Anesini C., Ferraro G., Filip R.: Study of the bioactive compounds variations during yerba mate (*Ilex paraguariensis*) processing. *Food Chem.*, 2010; 122: 695-699.- 3. Heck C.I., de Mejia E.G.: Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. *J. Food Sci.*, 2007; 72(9): 138-151.- 4. Ebil B., Fernandez R.A., Kozarik J.C., Lupi A., Montagnini F., Nozzi D.: Agroforestry systems with *Ilex paraguariensis* (American holly or yerba mate) and native timber trees on small farms in Misiones, Argentina. *Agroforestry Systems*, 2000; 48: 1-8.- 5. Furgeri C., Nunes T.C.F., Fanaro G.B., Souza M.F.F., Bastos D.H.M., Villavicencio A.L.C.H.: Evaluation of phenolic compounds in mate (*Ilex paraguariensis*) processed by gamma radiation. *Rad. Phys. Chem.*, 2009; 78: 639-641.- 6. Heck C.I., de Mejia E.G.: Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. *J. Food Sci.*, 2007; 72(9): 138-151.- 7. Pagliosa C.M., Vieira M.A., Podesta R., Maraschin M., Bertello-Zeni A.L., Amante E.R., Castanho-Amboni R.: Methylxanthines, phenolic composition, and antioxidant activity of bark from residues from mate tree harvesting (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). *Food Chem.*, 2010; 122: 173-178.- 8. Marx F., Janssens M., Urfer P., Scherer R.: Caffeine and Theobromine Composition of Mat (*Ilex paraguariensis*) Leaves in Five Plantations of Misiones, Argentina. *Pl. Food. Hum. Nutr. Klumer Academic Publishers*. 2003; 1-6.- 9. Zuin V. G., Montero L., Bauer C., Popp P.: Stir bar sorptive extraction and high performance liquid chromatography-fluorescence detection for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Mate teas. *J. Chrom. A*. 2005; 1091: 2-10.- 10. Schinella G., Troiani G., Davila V., Buschiazzo P., Tournier H.: Antioxidant Effect of an Aqueous Extract of *Ilex paraguariensis*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2000; 87: 357-360.

11. Heck C.I., De Mejia E.G.: Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): A Comprehensive Review on Chemistry, Health Implications, and Technological Considerations. *J. Food Sci.*, 2007; 72: 138-151.- 12. Bastos D.H.M., Saldanha L.A., Catharino R.R., Sawaya A.C.H.F., Cunha I.B.S., Carvalho P.O., Eberlin M.N.: Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camelia sinensis*) extracts. *Molecules.*, 2007; 12: 423-432.- 13. Newell A.M.B., Chandra S., Gonzalez de Mejia E.: Ethnic teas and their bioactive components. *Am. Chem. Soc.*, 2007; 127-131.- 13. Wołosiak R., Rudny M., Skrobek E., Worobiej E., Drużyńska B.: Charakterystyka aromatu i właściwości przeciwutleniających wybranych naparów, używek i ziół. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007; 3 (52): 109-118.- 14. Gonzalez de Mejia E., Soo Song Y., Vinicio Ramirez-Mares M.V., Kobayashi H.: Effect of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) tea on topoisomerase inhibition and oral carcinoma cell proliferation. *J. Agric. Food Chem.*, 2005; 53 (6): 1966-1973.

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

Elwira Worobiej, Katarzyna Relidzińska

KAWY ZBOŻOWE – CHARAKTERYSTYKA I WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE

Zakład Oceny Jakości Żywności Wydziału Nauk o Żywności
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. *M. Obiedziński*

W pracy scharakteryzowano podstawowy skład chemiczny wybranych kaw zbożowych dostępnych na polskim rynku oraz określono właściwości przeciwutleniające ich naparów. W badaniach wykorzystano produkty różniące się składem surowcowym, w tym kawy mielone i rozpuszczalne. Zawartość kwasu fitynowego w kawach zbożowych wynosiła od 235 do 360 mg/100 g s.m., a zawartość polifenoli ogółem kształtowała się na poziomie 0,9-1,9 g/100 g s.m. Najwyższą zawartością tych składników, jak i zdolnością do chelatowania jonów żelaza spośród badanych kaw charakteryzowała się rozpuszczalna kawa z orkisz, choć nie wykazywała ona wysokiej aktywności przeciwrodnikowej wobec kationorodników ABTS⁺.

Hasła kluczowe: kawa zbożowa, polifenole, fityniany, chelatowanie metali, aktywność przeciwrodnikowa.

Key words: cereal coffee, polyphenols, phytates, metal ions chelating, antiradical activity.

Kawa zbożowa jest napojem otrzymywanym ze zbóż, z ewentualnym dodatkiem roślin takich, jak cykorja czy burak cukrowy, który ma właściwości sensoryczne zbliżone do kawy naturalnej, co powoduje że jest ona chętnie spożywana przez osoby, które nie powinny z przyczyn zdrowotnych spożywać zwykłej kawy (m.in. ze względu na zawartość kofeiny). Składniki obecne w surowcach stosowanych do produkcji kawy zbożowej oraz substancje powstające w procesie prażenia tych surowców nadają jej nie tylko odpowiednie walory sensoryczne ale i prozdrowotne. Kawa jako produkt zbożowy jest źródłem błonnika pokarmowego, w którym znaczną część stanowi frakcja rozpuszczalna (1). Jest ona jednym z nielicznych produktów na polskim rynku wzbogacanych w inulinę, poprzez dodatek cykorii (2). Ziarna zbóż, z których jest otrzymywana, są źródłem także innych ważnych ze względów żywieniowych składników, tj.: polifenole, kwas fitynowy. Wymienione związki wykazują właściwości przeciwutleniające m.in. poprzez chelatowanie metali prooksydacyjnych (3).

Celem pracy była charakterystyka składu chemicznego wybranych kaw zbożowych dostępnych na rynku polskim oraz ocena właściwości przeciwutleniających ich naparów.

MATERIAŁ I METODY

W badaniach wykorzystano sześć rodzajów kaw zbożowych różniących się składem surowcowym, w tym kawy mielone i rozpuszczalne. W grupie kaw mielonych oceniano: kawę z orkisz (kawa 1), kawę z jęczmienia, cykorii i buraka cukrowego (kawa 2), oraz kawę otrzymaną z cykorii i żyta (kawa 3), natomiast spośród kaw rozpuszczalnych były to: kawa z orkisz (kawa 4), kawa z jęczmienia, żyta, cykorii, buraków cukrowych (kawa 5), oraz kawa z jęczmienia, słodu jęczmiennego, cykorii i żyta (kawa 6).

W pracy oznaczono podstawowy skład chemiczny tych produktów metodami znormalizowanymi. Polifenole ogółem oznaczano spektrofotometrycznie metodą *Folina-Ciocalteu'a* przy długości fali 700 nm, a wyniki przeliczano na kwas galusowy (4). Zawartość fosforu fitynowego oznaczono spektrofotometrycznie zmodyfikowaną metodą *Thiese'a* (5).

Do oznaczenia zdolności do chelatowania jonów żelaza (6) oraz aktywności przeciwrodnikowej wobec kationorodników ABTS^{•+} (7) przygotowano napary badanych kaw. Napary z kaw rozpuszczalnych (tj. 4, 5 i 6) uzyskano przez naważenie 1,5 g próbki oraz dodanie 100 ml wody o temperaturze 90°C zgodnie z zaleceniem producentów. Natomiast napary z kaw mielonych (tj. 1, 2 i 3) przygotowano z 2 g kawy oraz 100 ml wody o temperaturze 90°C i zaparzano je pod przykryciem przez 5 min., następnie sączono przez karbowany sączek. Próbkki kaw - 2, 3, 4, 6 wymagały dodatkowego rozcieńczenia naparów wodą destylowaną w stosunku 1:1 do oznaczenia właściwości przeciwutleniających. Uzyskane wyniki aktywności przeciwrodnikowej przeliczano na aktywność wyrażoną jako mg Trolox (standard przeciwutleniacza) na 100 ml naparu.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Zawartość popiołu w badanych kawach była dość zróżnicowana i kształtowała się na poziomie 1,8-3,8% s.m. (tab. I). Skrajne wartości tego zakresu uzyskano dla kaw z prażonych ziaren orkisz (odpowiednio dla kawy mielonej i rozpuszczalnej), co prawdopodobnie wynika ze zróżnicowanego procesu ich produkcji.

Kawy zbożowe rozpuszczalne charakteryzowały się większą kwasowością (21,7-22,9° kw.) w porównaniu z kawami mielonymi (12,3-20° kw.), niezależnie od składu surowcowego badanych produktów (tab. I). Zawartość sacharydów bezpośrednio redukujących w badanych kawach zbożowych mieściła się w szerokim zakresie od 2,1 do 20,1% s.m. (tab. I). Najwięcej sacharydów bezpośrednio redukujących oznaczono w kawach zawierających w swoim składzie cykorię i żyto (kawy 3, 5 i 6), przy czym zdecydowanie najbogatsza w te związki była rozpuszczalna kawa 5 - otrzymana z jęczmienia, żyta, cykorii i buraków cukrowych.

Zawartość kwasu fitynowego w kawach zbożowych wynosiła od 235 do 359 mg/100 g s.m., natomiast ilość polifenoli ogółem kształtowała się na poziomie 0,94-

1,86 g/100 g s.m (tab. II). Największą zawartość tych składników, jak i zdolność do chelatowania jonów żelaza (ok. 435 $\mu\text{mol Fe(II)}/100 \text{ g s.m.}$), wykazała rozpuszczalna kawa 4 z orkisz (tab. II). Uzyskane wyniki potwierdzają fakt, że badane związki uczestniczą w działaniu przeciwutleniającym poprzez wiązanie jonów metali przejściowych, w wyniku czego hamują powstawanie bardzo szkodliwych rodników wodorotlenowych (8). Interesujący wydaje się fakt, że najłabsze właściwości chelatujące miała kawa 1, w skład której również wchodziły prażone ziarna orkisz (ok. 313 $\mu\text{mol Fe(II)}/100 \text{ g s.m.}$), z tym że była to kawa mielona. Ilość kwasu fitynowego w badanych kawach orkiszowych jest znacznie mniejsza niż w ziarnie orkisz – 1,17 g/100 g s.m. (9). Podobnie jak w przypadku orkisz, inne surowce do produkcji kaw zbożowych również charakteryzują się wyższą zawartością kwasu fitynowego niż produkt końcowy. Dla przykładu, ziarno żyta czy jęczmienia zawiera odpowiednio: 1120 i 730 mg/100 g s.m. (3). Stwierdzono ponadto, że w kawach zbożowych występują znacznie mniejsze ilości polifenoli w porównaniu z kawami naturalnymi, w których ich oznaczona przez *Wolosiaka* i współpr. (10) zawartość wynosiła od 7 do 20 g/100 g s.m.

Tabela I. Charakterystyka podstawowego składu chemicznego badanych kaw zbożowych

Table I. Characterisation of basic chemical composition of investigated coffees

Produkt	Zawartość wody [g/100 g]	Zawartość popiołu całkowitego [g/100 g s.m.]	Zawartość sacharydów bezpośrednio redukujących [g/100 g s.m.]	Kwasowość ogólna [° kw.]
Kawa 1	7,0 ± 0,1	1,8 ± 0,04	5,1 ± 0,2	20,2 ± 0,5
Kawa 2	6,4 ± 0,1	2,1 ± 0,10	2,1 ± 0,1	12,3 ± 0,4
Kawa 3	6,0 ± 0,1	2,8 ± 0,05	9,3 ± 0,1	13,2 ± 0,1
Kawa 4	5,4 ± 0,1	3,8 ± 0,07	4,1 ± 0,1	21,7 ± 0,5
Kawa 5	4,6 ± 0,1	2,3 ± 0,10	20,1 ± 0,1	22,9 ± 0,1
Kawa 6	3,7 ± 0,1	2,3 ± 0,07	8,1 ± 0,1	22,8 ± 0,5

Tabela II. Zawartość i aktywność związków o właściwościach przeciwutleniających w kawach zbożowych

Table II. The content and activity of antioxidant compounds in cereal coffee

Produkt	Zawartość fosforu fitynowego [mg/100 g s.m.]	Zawartość polifenoli ogółem [g/100 g s.m.]	Zdolność do chelatowania [$\mu\text{mol Fe(II)}/100 \text{ g s.m.}$]	Aktywność przeciwrodnikowa (mg Trolox/100 ml)
Kawa 1	260,0 ± 1,6	1,29 ± 0,01	312,6 ± 1,3	17,0 ± 0,2
Kawa 2	235,2 ± 2,2	1,49 ± 0,03	324,6 ± 0,9	42,6 ± 0,4
Kawa 3	300,4 ± 0,6	1,22 ± 0,06	358,7 ± 1,9	65,8 ± 0,2
Kawa 4	358,7 ± 5,2	1,86 ± 0,02	435,8 ± 1,6	28,6 ± 0,1
Kawa 5	294,0 ± 2,8	0,94 ± 0,01	354,0 ± 1,4	71,0 ± 0,2
Kawa 6	243,9 ± 1,6	1,67 ± 0,04	379,7 ± 1,2	71,3 ± 0,3

Najlepszą zdolność do dezaktywacji rodników ABTS⁺⁺ wykazały próbki kaw zbożowych 3, 5 i 6 (tab. II), składnikami których są m.in. cykorja i żyto (ok. 66-71 mg Trolox/100 ml naparu), najsłabszą natomiast mielona i rozpuszczalna kawa z ziaren orkisz (odpowiednio ok. 17 i 29 mg Trolox/100 ml naparu). Warto zauważyć, że rozpuszczalna kawa 4 z orkisz działała słabiej wobec zastosowanych w badaniu rodników pomimo, że miała najlepszą zdolność do chelatowania jonów żelaza (II) oraz najwyższą zawartość polifenoli i kwasu fitynowego. Wysoka aktywność przeciwrodnikowa wobec ABTS⁺⁺ kaw 3, 5 i 6 może natomiast wynikać z obecności innych związków, powstających z przemian sacharydów w procesie prażenia, np. produktów reakcji *Maillarda* o udowodnionych właściwościach przeciwutleniających (3).

Wyniki badań świadczą o stosunkowo dobrej aktywności przeciwutleniającej kaw zbożowych wobec kationorodników ABTS⁺⁺, choć ma ona o wiele mniejszą wartość niż w przypadku kaw naturalnych - ok. 450-740 mg Trolox/100 ml naparu (10). Mniejsze różnice w aktywności można natomiast zauważyć porównując uzyskane w pracy wyniki z danymi przedstawionymi przez Wołosiaka i współpr. (10) dla naparów chińskiej herbaty zielonej i jej odpowiedników z innych części świata (ok. 30-250 mg Trolox/100 ml naparu).

WNIOSKI

1. Najwyższą zawartością kwasu fitynowego i polifenoli, jak i zdolnością do chelatowania jonów żelaza spośród badanych kaw zbożowych charakteryzowała się rozpuszczalna kawa z orkisz.

2. Wyniki badań świadczą o stosunkowo dobrej aktywności przeciwutleniającej kaw zbożowych wobec kationorodników ABTS⁺⁺, przy czym istotny wpływ na jej poziom ma prawdopodobnie nie tylko obecność naturalnych przeciwutleniaczy, ale także związków powstających w procesie prażenia kaw (np. produktów reakcji *Maillarda*).

E. Worobiej, K. Relidzyńska

CEREAL COFFEES – CHARACTERISTIC AND ANTIOXIDANT PROPRIETIES

Summary

Basic chemical composition of chosen cereal coffees available on Polish market was characterized and antioxidant properties of their brews were determined. In the study, products of different raw material composition were used, including instant and grain coffees. The content of phytic acid in cereal coffees was 235-360 mg/100 g d.m., and total phenolic content 0.9-1.9 g/100 g d.m. The highest content of these components, as well as the ability to chelate iron ions was determined in spelt soluble coffee, but it did not exhibit a high antiradical activity against ABTS radical cations.

PIŚMIENNICTWO

1. *Palasiński J., Cieślík E., Sikora E.*: Zawartość błonnika pokarmowego w surowcach i produktach użytych do produkcji kawy zbożowej oraz w produkcie gotowym. *Żyw. Człow. Metab.*, 2003; 3-4: 931-933.- 2. *Florowska A., Krygier K.*: Zastosowanie nietrawionych oligosacharydów w produktach spożywczych. *Przem. Spoż.*, 2004; 5: 44-47.- 3. *Grajek W.* (red.): *Przeciwutleniacze w żywności*. WNT, 2007; Warszawa.- 4. *Singleton V.L., Rossi J.A.*: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticul.*, 1965; 16: 144-158.- 5. *Thies W.*: Determination of the phytic acid and sinapic acid esters in seeds of rapeseed and selection of genotypes with reduced concentrations of these compounds. *Fat. Sci. Technol.*, 1991; 93: 49-52.- 6. *Lai L. S., Chou S. T., Chao W. W.*: Studies on theantiooxidante activities of Hsian – tsao leaf gum. *J. Agricult. Food Chem.*, 2001; 49: 963-986.- 7. *Re R., Pellergrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.*: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999; 26: 1231-1237.- 8. *Marciniak A., Obuchowski W.*: Prozdrowotne właściwości ziarna zbóż. *Przegl. Zboż. Młyn.*, 2006; 5: 11-13.- 9. *Worobiej E., Wocial M., Piecyk M.*: Porównanie zawartości i aktywności wybranych związków przeciwutleniających w produktach z orkisz, *Brom. Chem. Toksykol.*, 2009; 42: 890-894.- 10. *Wołosiak R., Rudny M., Skrobek E., Worobiej E., Drużyńska B.*: Charakterystyka aromatu i właściwości przeciwutleniających wybranych naparów, używek i ziół. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007; 3: 109-118.

Adres: 02-776 Warszawa, ul Nowoursynowska 159c.

Maria Białas, Hanna Łuczak, Maria Jeżewska

OCENA ZAWARTOŚCI KOFEINY W WYBRANYCH NAPOJACH BEZALKOHOLOWYCH

Oddział Koncentratów Spożywczych i Produktów Skrobiowych w Poznaniu
Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie
Dyrektor Oddziału: dr inż. *M. Remiszewski*, prof. IBPRS

W pracy oznaczono zawartość kofeiny w wybranych napojach bezalkoholowych metodą HPLC. Stwierdzono, że w większości badanych napojów zawartość kofeiny nie przekraczała ilości deklarowanej przez producentów na opakowaniu. Porównano również ile kofeiny dostarcza konsumentowi porcja napojów bezalkoholowych w stosunku do napojów kawowych.

Hasła kluczowe: kofeina, napoje bezalkoholowe, napoje energetyzujące.
Key words: caffeine, soft drinks, energy drinks.

Rynek napojów bezalkoholowych w Polsce przeżywa w ostatnim czasie bardzo dynamiczny rozwój. Wyniki badań przeprowadzonych w kwietniu 2010 roku wskazują, że obecnie wśród preferowanych napojów znajdują się, obok wody i soków, napoje bezalkoholowe, które pije kilka razy w tygodniu ponad połowa Polaków. Napoje te oprócz funkcji gaszenia pragnienia i orzeźwiającej, regulują również gospodarkę wodno-mineralną organizmu. Do tej grupy produktów należą między innymi: napoje niegazowane typu ice tea, napoje gazowane typu cola oraz napoje energetyzujące. Napoje energetyzujące to najprężniejszy segment rynku napojów bezalkoholowych, o który walczy wiele firm, a do konsumentów trafiają wciąż nowe produkty (1-3).

W napojach energetyzujących głównym składnikiem bioaktywnym jest kofeina, pochodząca z zastosowanych surowców lub specjalnie dodawana z uwagi na przeznaczenie i właściwości napojów. Kofeina występuje w sposób naturalny w liściach, ziarnach i owocach co najmniej 63 gatunków roślin na całym świecie. Niewielkie dawki kofeiny korzystnie stymulują aktywność centralnego układu nerwowego. Kofeina zwiększa sprawność myślenia, znosi zmęczenie, przyspiesza przemianę materii, ale przy jej nadmiernym spożyciu może być przyczyną zaburzeń zdrowotnych. Wielkość dawki toksycznej jest trudna do ustalenia ze względu na duże różnice osobnicze. Według danych literaturowych spożycie kofeiny ponad 1000 mg dziennie może być już toksyczne nawet dla zdrowego człowieka (4-6).

Napoje typu ice tea i cola zawierają względnie niewielką ilość kofeiny (do 10 mg/100 ml) w porównaniu do napojów energetyzujących, w których zawartość

kofeiny wynosi około 30 mg/100 ml, ale należy zaznaczyć, że spożywane są nie tylko przez dorosłych. Jest potwierdzone naukowo, że u dzieci spożycie kofeiny w umiarkowanych ilościach nie powoduje wykrywalnych zmian dotyczących aktywności fizycznej ani zdolności do skupiania uwagi. Jednak duże ilości kofeiny u dzieci wrażliwych mogą powodować bóle żołądka, mdłości, bezsenność, przejściowe stany pobudzenia, rozdrażnienia lub niepokoju (7,8).

Sprawa zawartości kofeiny w napojach wywołuje coraz większe dyskusje w wielu krajach. W USA opublikowano w „Journal of Analytical Toxicology” wyniki badań zawartości kofeiny w 10 napojach energetyzujących i 19 napojach gazowanych powszechnie dostępnych na rynku amerykańskim. Według tego raportu zawartość kofeiny w badanych napojach powinna być wyraźnie podana na opakowaniu, aby konsumenci wrażliwi na działanie kofeiny mogli uniknąć ryzyka. W 2002 roku UE określiła, że wszystkie napoje zawierające kofeinę (oprócz herbaty i kawy) w ilości powyżej 150 mg/l muszą posiadać na etykiecie informację „wysoka zawartość kofeiny” (6, 8, 9).

Ze względu na limitowaną ilość kofeiny w napojach bezalkoholowych, konieczne jest oznaczanie tego składnika. W napojach typu cola ilość kofeiny, według aktualnej normy na napoje bezalkoholowe nie powinna przekraczać 15 mg w 100 ml, natomiast w napojach energetyzujących nie może być wyższa niż ilość deklarowana na opakowaniu. W napojach typu ice tea ilość kofeiny nie jest określona przez producenta (6, 9-11).

W związku z powyższym celowe było oznaczanie zawartości kofeiny w wybranych napojach bezalkoholowych i porównanie otrzymanych wyników z ilością kofeiny deklarowaną przez producentów na opakowaniu.

MATERIAŁ I METODY

Badaniami objęto rynkowe napoje bezalkoholowe wyprodukowane przez różnych producentów. Badane napoje podzielono na trzy grupy: napoje typu ice tea (3 produkty), napoje typu cola (3 produkty) oraz napoje energetyzujące (12 produktów, w tym 2 produkty w postaci tabletek musujących do rozpuszczenia w wodzie). W większości badanych napojów bezalkoholowych kofeina dodawana była w procesie technologicznym, za wyjątkiem napojów typu ice tea oraz napoju energetyzującego (Green Up), zawierających kofeinę pochodzącą z naturalnych składników. Na opakowaniach wszystkich badanych napojów energetyzujących zamieszczono deklarację producenta dotyczącą ilości zawartej w nich kofeiny, natomiast napoje typu ice tea i cola nie posiadały takich informacji, za wyjątkiem napoju pepsa cola.

Zawartość kofeiny oznaczano metodą HPLC według opracowanej i zwalidowanej procedury badawczej, która umożliwia oznaczanie kofeiny z powtarzalnością wynoszącą $\leq 6\%$ i dokładnością 80-115%. Do analizy chromatograficznej wykorzystywano chromatograf cieczowy firmy Dionex, wyposażony w detektor UV, stosując długość fali 272 nm. Do rozdzielania używano kolumnę z fazą

odwróconą (RP) Supelcosil LC-18-DB firmy Supelco o wymiarach 250mm x 4,6mm, 5 μ m z kolumnką zabezpieczającą LC-18 i fazę ruchomą metanol/woda (30+70).

Każdy badany napój analizowano co najmniej w dwóch powtórzeniach, a otrzymane wyniki oszacowano wyznaczając ich niepewność rozszerzoną wg programu ProNP „Wyznaczanie niepewności pomiarów” (12).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wyniki oznaczeń zawartości kofeiny w badanych napojach bezalkoholowych oraz deklarację producenta dotyczącą ilości kofeiny w produkcie przedstawiono w tabeli I.

Tabela I. Zawartość kofeiny w napojach bezalkoholowych

Table I. Caffeine contents in soft drinks

Rodzaj napoju	Nazwa napoju	Zawartość kofeiny (mg/100 ml)	Niepewność rozszerzona (mg/100 ml)	Zawartość kofeiny deklarowana przez producenta na opakowaniu (mg/100ml)
Napoje bezalkoholowe niegazowane typu ice tea	Lipton o smaku brzoskwińowym	5,31	$\pm 0,10$	-
	Lipton – zielona herbata jabłkowa	6,36	$\pm 0,12$	-
	Nestea – Tropical Frutis	3,51	$\pm 0,07$	-
Napoje bezalkoholowe gazowane typu cola	Pepsi cola	10,31	$\pm 0,20$	10,0
	Cola	8,38	$\pm 0,16$	-
	Coca cola	9,37	$\pm 0,18$	-
Napoje energetyzujące gazowane	Tiger	30,32	$\pm 0,58$	32,0
	Green up	31,82	$\pm 0,60$	32,0
	BE Power	33,39	$\pm 0,64$	32,0
	Bullit	29,04	$\pm 0,55$	30,0
	Mixxed up classic	29,97	$\pm 0,57$	30,0
	Mixxed up light	26,87	$\pm 0,51$	30,0
	R 20 Basic Level	32,55	$\pm 0,62$	32,0
	N-gine Mojito	29,53	$\pm 0,56$	32,0
	Adrenaline	29,55	$\pm 0,56$	29,0
Intense energy shot	154,42	$\pm 2,93$	80,0	
Napój energetyz. - tabletki musujące do rozp. w wodzie	Plusssz Active	30,45	$\pm 0,58$	30,0
	Power Loading	30,60	$\pm 0,58$	32,0

Zawartości kofeiny w napojach typu ice tea i cola wynosiły odpowiednio od 3,51 mg/100 ml do 6,36 mg/100 ml i od 8,38 mg/100 ml do 10,31 mg/100 ml, natomiast

w napojach energetyzujących od 26,87 mg/100 ml do 33,39 mg/100 ml, a w produkcie skoncentrowanym nawet 154,42 mg/100 ml. W większości badanych napojów zawartość kofeiny była nieznacznie niższa od ilości deklarowanej przez producentów na opakowaniu. W kilku napojach zawartość kofeiny przekraczała ilość kofeiny określoną przez producenta, ale wzrost ten był stosunkowo niewielki i wynosił od 1,5% do 4,3%.

Otrzymane wyniki zawartości kofeiny przeliczono na porcję napoju i porównano je z ilością kofeiny zawartą w filiżance (150 ml) innych napojów zawierających kofeinę takich jak: kawa rozpuszczalna, napój kawowy typu cappuccino czy mix „2 w 1” (13). Analizując wyniki zamieszczone w tabeli II stwierdzono, że porcja napoju energetyzującego dostarcza konsumentowi podobną ilość kofeiny (średnio 68,3 mg) co jedna filiżanka kawy rozpuszczalnej (średnio 66,0 mg), a zawartość kofeiny w tabletkach musujących rozpuszczonych w wodzie i w skoncentrowanym napoju energetyzującym wynosi od 76,3 do 77,2 mg i jest porównywalna z ilością kofeiny zawartą w filiżance napoju kawowego „2 w 1” (średnio 77,4 mg). Wypicie natomiast jednej porcji napoju typu cola jest zbliżone konsumpcji ½ filiżanki kawy rozpuszczalnej. Dużo niższe ilości kofeiny spożywa się wypijając szklanekę napoju typu ice tea (około 13 mg), co jest istotne z uwagi na popularność tych napojów wśród dzieci.

Tabela II. Porównanie zawartości kofeiny w różnych napojach

Table II. Comparison of caffeine contents in selected drinks

Rodzaj napoju	Średnia zawartość kofeiny w napoju (mg/100ml)	Średnia zawartość kofeiny w napoju w proszku (g/100g)	Zawartość kofeiny w 1 porcji napoju (mg)
Napój bezalkoholowy typu ice tea (250 ml)	5,1	-	12,7
Napój bezalkoholowy gazowany typu cola (250 ml)	9,4	-	23,5
Napój energetyzujący (250 ml)	27,3	-	68,3
Tabletki musujące (1 tabletkę rozpuszczoną w 250 ml wody)	30,5	-	76,3
Skoncentrowany napój energetyzujący (50 ml)	154,4	-	77,2
Kawa rozpuszczalna (2,2 g/ 150 ml) ¹⁾	-	3,0	66,0
Napój kawowy typu cappuccino (15g/150 ml) ²⁾	-	0,33	49,5
Napój kawowy typu Mix „2 w 1 (18g/150 ml) ²⁾	-	0,43	77,4

¹⁾ sposób przygotowania kawy rozpuszczalnej według (14), ²⁾ sposób przygotowania napojów według przepisu podanego na opakowaniu.

WNIOSKI

Oceniając jakość rynkowych napojów bezalkoholowych pod względem zawartości kofeiny stwierdzono:

1. W większości badanych napojów oznaczona zawartość kofeiny nie przekracza ilości deklarowanej przez producentów na opakowaniu.

2. Porcja napoju energetyzującego dostarcza konsumentowi podobną ilość kofeiny (średnio 74 mg) co jedna filiżanka kawy rozpuszczalnej lub napoju kawowego (średnio 64 mg), natomiast dużo niższe ilości kofeiny spożywa się wypijając szklankę napoju bezalkoholowego typu ice tea lub cola (poniżej 25 mg).

M. Białas, H. Łuczak, M. Jeżewska

THE ASSESSMENT OF CAFFEINE CONTENTS IN SELECTED SOFT DRINKS

Summary

The objective of the study was the determination of caffeine content in some selected soft drinks and comparison of the obtained results to caffeine contents declared on the label of market products. Soft drinks as: ice tea, cola and energy drink types were investigated by HPLC method based on own validating procedure. The results showed that caffeine contents in soft drinks types like ice tea and cola ranged from 3.51mg/100ml to 6.36mg/100ml and from 8.38mg/100ml to 10.31mg/100ml respectively, however caffeine contents in energy drinks ranged from 26.87mg/100ml to 33.39mg/100ml and in concentrated product were 154.42mg/100ml. Almost in all investigated samples, obtained results were higher than caffeine amount declared on the product labels. The caffeine content in one dose of a soft drink to one dose of a coffee beverage was also compared.

PIŚMIENNICTWO

1. Anonim: Jakie napoje piją Polacy. *Przem. Spoż.*, 2010; 6: 41.- 2. *Tarant Sz., Całujek J.*: Segmentacja konsumentów na rynku napojów bezalkoholowych (na przykładzie miasta Poznania). *Przem. Ferment. Owoc. Warz.*, 2005; 1: 21-22.- 3. *Rój A., Stasiuk E.*: Oznaczenia jakościowe w zakresie zawartości aspartamu i jego metabolitów w napojach gazowanych bezalkoholowych z zastosowaniem techniki HPLC. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009; 62 (3): 543-547.- 4. *Mastłowska J.*: Instrumentalne metody identyfikacji i oznaczania składników żywności. Część II. *Wyd. Politechniki Łódzkiej, Łódź*, 1998.- 5. *Zawadzka R.*: Kofeina – rachunek szans i rozczarowań. *Przegl. Piek. Cukier.*, 2007; 7: 102-103.- 6. *Wierzejska R.* i in.: Napoje energetyzujące – ich skład i przeznaczenie. *Przem. Spoż.*, 2002; 10: 42-45.- 7. *Sikora E.*: Napoje energetyzujące – korzyści i zagrożenia. *Przem. Ferment. Owoc. Warz.*, 2008; 3: 8.- 8. Anonim: Prawo żywnościowe. Ostrzeżenie o kofeinie na etykietach. *Przem. Ferment. Owoc. Warz.*, 2006; 5: 32.- 9. *Hoffman M., Świdorski F.*: Napoje energetyzujące i ich składniki funkcjonalne. *Przem. Spoż.*, 2008; 9: 8-13.- 10. PN- A -79032:1993 Napoje bezalkoholowe gazowane.

11. *Stasiuk E., Rój A.*: Zawartość kofeiny w napojach energetyzujących. Materiały konferencyjne z XXXVII Sesji Naukowej Komitetu Nauk o Żywności PAN, Gdynia 2006; 319.- 12. *Izidorczyk J.*: Program ProNP „Wyznaczanie niepewności pomiarów” Biuro Naukowo-Techniczne Józef Izidorczyk, 2001.- 13. *Białas M., Łuczak H., Przygoński.*: Zawartość kofeiny w wybranych napojach kawowych w proszku. *Bromat. Chem. Toksykol.* 2009; 62(3): 426-430.- 14. PN- A -94019:2007 Kawa rozpuszczalna. Wymagania i metody badań.

Ewa Stasiuk

ZAWARTOŚĆ OŁOWIU I KADMU W NAPOJACH ENERGETYZUJĄCYCH KUPIONYCH W SKLEPACH TRÓJMIASTA

Katedra Towaroznawstwa i Zarządzania Jakością,
Wydział Przedsiębiorczości i Towaroznawstwa Akademii Morskiej w Gdyni
Kierownik: prof. dr hab. inż. *P. Przybyłowski*

Ołów i kadm są metalami ciężkimi oraz wskaźnikami zanieczyszczenia żywności i środowiska naturalnego człowieka. Celem tej pracy było określenie poziomu zawartości ołowiu i kadmu w próbkach napojów energetyzujących kupionych w trójmiejskich sklepach. Napoje podzielono na trzy kategorie cenowe. Oszacowano też pobranie ołowiu i kadmu zakładającienne spożycie tych napojów – 0,5 litra. Napoje energetyzujące nie stanowiły zagrożenia zdrowotnego ze względu na zawartość ołowiu i kadmu.

Hasła kluczowe: ołów, kadm, napoje energetyzujące, absorpcja atomowa.
Key words: lead, cadmium, energy beverages, atomic absorption.

Rynek napojów bezalkoholowych w Polsce w ostatnich latach bardzo się rozwinął. Wzrosło spożycie wód, soków, nektarów i napojów owocowych i owocowo-warzywnych (1). Pojawiły się też nowe rodzaje napojów, w tym napoje energetyzujące i napoje izotoniczne. Stanowią one jeszcze stosunkowo mały segment rynku, ale o dużym potencjale wzrostu. Napoje energetyzujące należą do grupy napojów funkcjonalnych i mają za zadanie mobilizować organizm ludzki do dłuższego wysiłku fizycznego i psychicznego. Jest to możliwe dzięki takim składnikom napojów jak: kofeina i tauryna a także takim jak: inozytol, glukuronolakton i karnityna. Działanie napojów energetyzujących na człowieka jest nadal przedmiotem wielu badań (2).

Ołów i kadm są wskaźnikami zanieczyszczenia środowiska i żywności. Są szkodliwe dla zdrowia i kumulują się w organizmie człowieka (3). Dlatego też poziomy zanieczyszczenia żywności ołowiem i kadmem są limitowane poprzez regulacje krajowe i europejskie (4, 5). Celem tej pracy było oznaczenie poziomu zanieczyszczeń ołowiem i kadmem napojów energetyzujących oraz oszacowanie pobrania tych metali z ich codziennym spożyciem.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły napoje energetyzujące kupione w trójmiejskich sklepach w 2009 r. w trzech seriach badawczych. Podzielono je na trzy kategorie

cenowe: I – do 2 zł, II – od 2zł do 3,5 zł, III – powyżej do 3,5 zł. W pierwszej grupie były napoje: Crazy Wolf, Carrefour, Kick, Max Power. W drugiej grupie były napoje: Bullit, R20, Tiger, XL zaś w III grupie cenowej były: Burn, Red Bull, Adrenaline Rush, Orlen Team. Wszystkie napoje zakodowano.

Ołów i kadm oznaczano za pomocą absorpcyjnej spektrometrii atomowej z atomizacją w kuwecie grafitowej. Ołów analizowano przy długości fali 283,3 nm, kadm – przy długości fali 228,8 nm. Próbkę napojów odgazowywano, potem mineralizowano za pomocą mineralizacji mikrofalowej ciśnieniowej na mokro. Do mineralizacji pobierano 5 ml napoju i dodawano 5 ml kwasu azotowego do analiz śladowych (HNO₃). Próbkę odniesienia stanowił wewnętrzny wzorzec laboratoryjny. Odzysk dla ołowiu wynosił – 104%, dla kadmu 94%.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wyniki badań zawartości ołowiu i kadmu dla próbek napojów energetyzujących przedstawiono w tabeli I.

Tabela I. Średnia zawartość ołowiu i kadmu w próbkach napojów energetyzujących

Table I. The average content of lead and cadmium in samples of energy drink

Grupa napojów	Kod napojów	Zawartości ołowiu [$\mu\text{g}/\text{dm}^3$]		Zawartości kadmu [$\mu\text{g}/\text{dm}^3$]	
		Zakres	Średnia \pm SD	Zakres	Średnia \pm SD
I	1	36,5-40,6	39,1 \pm 2,1	3,77-5,52	4,49 \pm 0,81
	2	28,4-46,4	38,3 \pm 7,5	1,73-3,90	3,10 \pm 0,97
	3	42,1-163,2	83,5 \pm 56,4	4,02-4,37	4,21 \pm 0,19
	4	36,5-39,7	38,3 \pm 1,8	3,71-4,25	4,11 \pm 0,41
II	1	42,2-49,2	45,1 \pm 3,4	3,78-7,85	5,19 \pm 1,96
	2	42,7-44,2	43,3 \pm 0,9	4,26-4,89	4,50 \pm 0,33
	3	20,8-44,7	36,6 \pm 11,2	2,73-4,12	3,36 \pm 0,59
	4	43,8-46,7	45,6 \pm 1,5	3,71-4,25	3,94 \pm 0,25
III	1	42,7-78,9	60,9 \pm 14,8	4,37-39,98	17,09 \pm 16,18
	2	39,7-85,0	55,4 \pm 20,9	1,29-3,64	2,41 \pm 0,99
	3	44,1-49,1	46,0 \pm 2,4	3,23-5,68	4,39 \pm 1,03
	4	43,8-46,7	45,6 \pm 2,1	3,71-4,25	3,94 \pm 0,81

Analizując zawartości ołowiu w próbkach napojów energetyzujących stwierdzono, że najwyższy średni poziom ołowiu miał napój 3 z I grupy – 83,5 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ (zdecydowała o tym seria pierwsza). Najniższy poziom prezentował napój energetyzujący 2 grupy I i napój 4 grupy I – 38,3 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$.

Analizując zawartości kadmu w próbkach napojów energetyzujących stwierdzono, że najwyższy średni poziom kadmu miał napój 1 z III grupy – 17,09 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ (zdecydowała o tym seria pierwsza). Najniższy poziom prezentował napój energetyzujący 2 grupy III – 2,41 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$.

Zdecydowana większość analizowanych napojów zawierała do kilkudziesięciu $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. Porównując zawartość ołowiu w badanych napojach do limitów ustalonych przez Komisję Wspólnoty Europejskiej (tylko w stosunku do soków owocowych i nektarów) - 0,050 mg/kg, można stwierdzić, że tylko trzy średnie zawartości ołowiu

nie przekraczały tego limitu (5). Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 30 IV 2004 r. ustala też taki sam limit, chociaż wcześniejsze z 2003 r. dopuszczało większe zawartości (0,1 mg Pb/kg). Żadna z próbek nie przekroczyła dopuszczalnego limitu.

Większość analizowanych napojów energetyzujących zawierała kilka $\mu\text{g Cd/dm}^3$. Jedynie napój 1 grupy III miał średnio kilkanaście $\mu\text{g Cd/dm}^3$. Komisja Wspólnoty Europejskiej nie ustaliła limitu dla kadmu w napojach. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z 2003 r. dopuszczało 0,01 mg Cd/kg napoju i według tego limitu wszystkie próbki oprócz jednej nie przekraczały tej wartości. Pojawiają się jednak głosy nad dalszym obniżeniem limitu zawartości kadmu w środkach spożywczych (6).

Dla bezpieczeństwa zdrowia człowieka ważne jest oszacowanie wielkości pobrania metali ciężkich wraz z pożywieniem w określonym przedziale czasowym. Służy temu wskaźnik PTWI (provisional tolerance weekly intake) czyli tygodniowe tolerowane pobranie metali. Dla ołowiu Europejski Komitet Ekspertów FAO/WHO ds. żywności ustalił PTWI na poziomie 0,025 mg/kg masy ciała, zaś dla kadmu na poziomie 0,007 mg/kg masy ciała (3). Oszacowanie pobrania ołowiu i kadmu z napojów energetyzujących przedstawiono w tabeli II. Założono, że osoba dorosła waży 70 kg a nastolatek – 40 kg oraz, że wypijają oni 0,5 litra napoju energetycznego dziennie (2 puszki po 250 ml). Założono, że dzieci nie powinny spożywać napojów energetyzujących (nie zawsze tak jest).

Tabela II. PTWI dla ołowiu i kadmu i szacowanie pobrania metali z napojów (0,5 litra napoju dziennie przez tydzień)

Table II. PTWI for lead and cadmium and assessment of intake of metals from beverages (0,5 liter of beverages per day for week)

Ołów					
PTWI	Najwyższa średnia zawartość w napoju	Osoba dorosła o wadze 70 kg		Nastolatek o wadze 40 kg	
		Tolerowane tygodniowe pobranie	% PTWI	Tolerowane tygodniowe pobranie	% PTWI
0,025 mg/kg masy ciała	0,0835 mg/dm ³	1,75 mg	16,7%	1,0 mg	29,2%
Kadm					
PTWI	Najwyższa średnia zawartość w napoju	Osoba dorosła o wadze 70 kg		Nastolatek o wadze 40 kg	
		Tolerowane tygodniowe pobranie	% PTWI	Tolerowane tygodniowe pobranie	% PTWI
0,007 mg/kg masy ciała	0,0171 mg/dm ³	0,49 mg	12,2%	0,28 mg	21,4%

Z obliczeń wynika, że napoje nie stanowią znaczącego źródła ołowiu i kadmu dla człowieka dorosłego. Podobnie jest z nastolatkiem. Jedynie nastolatki z niedowagą mogą być zagrożone niebezpiecznym oddziaływaniem ołowiu i kadmu na organizm człowieka.

WNIOSKI

1. Napoje energetyzujące (z trzech grup cenowych) nie przekraczają zawartości ołowiu i kadmu dopuszczalnych przez prawodawstwo krajowe i europejskie.

2. Oszacowanie pobrania ołowiu i kadmu z analizowanych napojów energetyzujących (z trzech grup cenowych) w diecie nie stanowi zagrożenia dla osoby dorosłej i nastolatka.

E. Stasiuk

CONTENT OF LEAD AND CADMIUM IN ENERGY DRINKS SOLD IN TRI-CITY SHOPS

Summary

In this paper the contents of lead and cadmium in energy beverages sold in Tri-city shops are presented. Energy drinks have been examined in three series after process of mineralization. The examination of contents of lead and cadmium has been analyzed with the use of atomic absorption spectrometry with a graphite furnace used. The intake of these metals with the diet is not dangerous for people.

PIŚMIENNICTWO

1. *Nosecka B.*: Napoje bezalkoholowe. Produkcja, ceny, spożycie. *Przem. Spoż.*, 2009; 63 (6): 10-13.– 2. *Hoffmann M., Świdorski F.*: Napoje energetyzujące i ich składniki funkcjonalne. *Przem. Spoż.*, 2009; 63 (9): 8-13, 23.– 3. *Juszczak L.*: Chemiczne zanieczyszczenia żywności i metody ich oznaczania – cz.I. Laboratorium, 2008; 3: 38 – 42.– 4. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie maksymalnych poziomów zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych, które mogą znajdować się w żywności, składnikach żywności, dozwolonych substancjach dodatkowych, substancjach pomagających w przetwarzaniu albo na powierzchni, Dz.U.2004 r. z dnia 28 maja 2004 r. nr 120, poz.127 wraz z późniejszymi zmianami.– 5. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1881/2006 z dnia 19 XII 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych L 364/5.– 6. *Wojciechowska-Mazurek M., Mania M., Starska K., Opoka M.*: Kadm w środkach spożywczych – celowość obniżenia limitów. *Przem. Spoż.*, 2010; 64 (2): 45-48.

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

Dorota Ogrodowska, Sylwester Czaplicki, Ryszard Zadernowski

SUBSTANCJE BIOLOGICZNIE AKTYWNE NATURALNIE WYSTĘPUJĄCE W OLEJU AMARANTUSOWYM

Katedra Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych Wydziału Nauki o Żywności
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Kierownik: prof. dr hab. *E. J. Borowska*

Ciągle aktualne jest poszukiwanie nowych źródeł bioaktywnych składników żywności. Niewątpliwie surowcem ciekawym pod tym względem jest amarantus z bogatym w bioaktywne składniki olejem pozyskiwanym z jego nasion. Celem pracy było określenie zawartości związków biologicznie aktywnych (tokoferole, skwalen), naturalnie występujących w oleju amarantusowym. Podjęto się także próby ustalenia, w jakim stopniu miejsce uprawy oraz wielkość nasion decydują o zawartości tych składników. Stwierdzono, że nasiona amarantusa charakteryzują się dużą jednorodnością bez względu na rok i lokalizację uprawy. Przeprowadzone analizy wykazały, że olej amarantusowy jest bogatym źródłem skwalenu oraz tokoferoli, wśród których dominowały α - i β - tokoferol. Nie stwierdzono statystycznie istotnego wpływu lokalizacji lub roku uprawy na zawartość tokoferoli w olejach z nasion amarantusa.

Hasła kluczowe: *Amaranthus cruentus*, skwalen, tokoferole, naturalne przeciwutleniacze.

Key words: *Amaranthus cruentus*, squalen, tocopherols, natural antioxidants.

Ze względu na walory odżywcze oraz wysoką zawartość składników biologicznie aktywnych amarantus jest coraz szerzej wykorzystywany do produkcji artykułów spożywczych. Na szczególną uwagę zasługuje olej amarantusowy, którego unikalną cechą jest zawarty we frakcji niezmylejającej skwalen. Właściwości przeciwutleniające skwalen zawdzięcza swej budowie, w której występuje 6 wiązań podwójnych o konfiguracji trans (1, 2). Związek ten otrzymywany jest głównie z oleju z wątroby rekina. Aspekt ekologiczny, tj. ochrona zwierząt morskich, przemawia za wykorzystaniem szarlatu jako źródła skwalenu (3, 4). W organizmie człowieka skwalen wchodzi w skład naturalnych lipidów kutikularnych, chroniących skórę przed działaniem agresywnych czynników zewnętrznych (2). Stosowany jest jako składnik maści farmaceutycznych oraz kosmetyków (5). Substancja ta wraz z tokotrienolami wymieniana jest jako inhibitor enzymu, który bierze udział w biosyntezie cholesterolu w wątrobie, tj. reduktazy HMG-CoA (hydroksymetyloglutarylo koenzymu A) (6, 7). W przyrodzie tokoferole i tokotrienole tworzą grupę ośmiu związków izomerycznych o różnej aktywności

biologicznej (8). Tokoferole szczególnie silnie hamują utlenianie lipidów głównie przez skuteczną eliminację rodników nadtlenkowych (RO_2^{\cdot}) zanim te zdążą uszkodzić cząsteczki kwasów tłuszczowych lub składniki ścian. Aktywność przeciwutleniająca tych związków zależy m.in. od ich stężenia, składu triacylogliceroli w substracie, oraz obecności substancji, z którymi mogą one oddziaływać synergistycznie lub proutleniająco (9). *Malecka* (7) twierdzi, że najskuteczniejsze właściwości przeciwutleniające wykazują γ - i δ -tokoferol, nieznacznie gorsze β -tokoferol, a najgorsze α -tokoferol, który to z kolei wykazuje największą aktywność witaminową. Prace *Leon-Camacho* i współpr. (4) dotyczące związków lipidowych oleju amarantusowego potwierdziły występowanie w nim trzech izomerycznych form tokoferoli.

Celem pracy było określenie zawartości związków biologicznie aktywnych (tokoferole, skwalen), naturalnie występujących w oleju amarantusowym oraz ustalenie, w jakim stopniu miejsce uprawy oraz wielkość nasion decydują o zawartości tych składników.

MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto nasion *Amarantus cruentus* odmiany Aztek ze zbiorów w latach 2006 i 2007. Nasiona uprawiano na plantacjach zlokalizowanych w województwach lubelskim, małopolskim oraz dolnośląskim.

Partie nasion z różnych pól poddano analizie sitowej na zestawie sit laboratoryjnych firmy EKO-LAB. Komplet składał się z pokryw, dna oraz sit ułożonych jedno na drugim o coraz mniejszej średnicy oczek, mianowicie: 1,5; 1,4; 1,25; 1,18; 1,0 oraz 0,8 mm. Olej z nasion amarantusa pozyskiwano techniką tłoczenia na prasie ślimakowej Komet typ CA59G (Niemcy), a następnie oczyszczano z cząstek stałych na wirówce MLW-T24D firmy Janetzki (Niemcy).

Oznaczenie zawartości skwalenu w oleju przeprowadzono z zastosowaniem techniki wysokosprawnej chromatografii ciekowej (HPLC) według zmodyfikowanej metody opisanej przez *Czaplickiego* i współpr. (10). Analizę przeprowadzono przy użyciu systemu HPLC serii 1200 firmy Agilent Technologies wyposażonego w detektor fotodiodowy (PDA). Rozdział chromatograficzny prowadzono na kolumnie LiChrospher RP-18, 250 × 4,6 mm, 5 μ m, w temperaturze 30°C. Zastosowano gradient rozpuszczalników: acetonitryl, izopropanol, heksan, przy natężeniu przepływu fazy ruchomej: 1 ml/min. Detekcję prowadzono przy długości fali 218 nm. Analizę ilościową przeprowadzono w oparciu o krzywą kalibracyjną sporządzoną dla standardu skwalenu zakupionego w firmie Sigma-Aldrich.

Analizę zawartości tokoferoli w oleju przeprowadzono z zastosowaniem techniki wysokosprawnej chromatografii ciekowej (HPLC) wg metody opisanej przez *Paterson* i *Qureshi* (11). Analizę przeprowadzono przy użyciu systemu HPLC serii 1200 firmy Agilent Technologies wyposażonego w detektor fluorescencyjny (FLD). Rozdział chromatograficzny prowadzono na kolumnie LiChrospher Si 60,5 μ m,

250 mm × 4 mm firmy Merck w temperaturze 25°C. Fazę ruchomą stanowił 0,7 % roztwór izopropanolu w heksanie.

Identyfikację poszczególnych składników mieszaniny dokonano na podstawie ich czasów retencji. Analizę ilościową przeprowadzono w oparciu o krzywą kalibracyjną sporządzoną dla wzorców α -, β -, γ - oraz δ -tokoferolu firmy Merck.

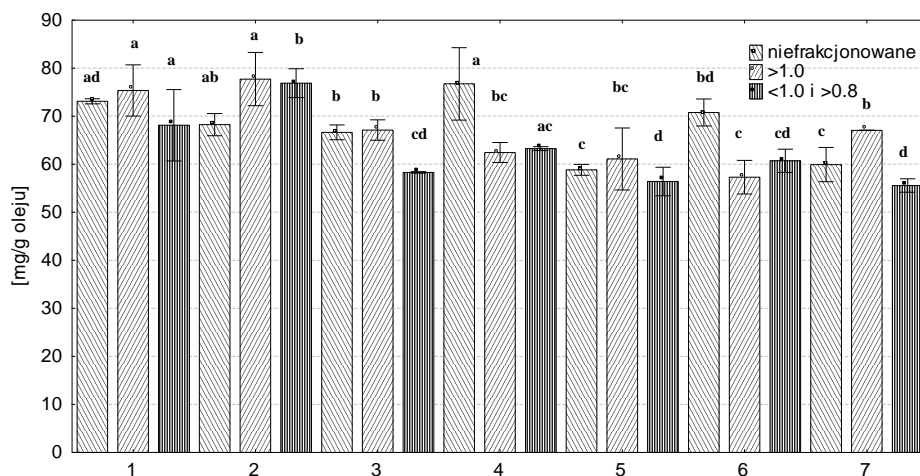
Na podstawie zawartości poszczególnych form tokoferoli obliczono ich aktywność biologiczną. Zastosowano wzór podany przez *Elmadfa* i *Bosse* (12):

$$1 \text{ mg } \alpha\text{-TE} = \alpha\text{-tokoferol} + 0,5 \cdot \beta\text{-tokoferolu} + 0,25 \cdot \gamma\text{-tokoferolu} + 0,01 \cdot \delta\text{-tokoferolu}$$

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Badane nasiona amarantusa charakteryzowały się dużą jednorodnością pod względem wielkości nasion. Zdecydowana większość podzielona była między dwie frakcje zebrane na sitach o wielkości oczek 1,0 mm x 1,0 mm i 0,8 mm x 0,8 mm. Otrzymano również frakcję stanowiącą odsiew na sicie o średnicy oczek 1,18 mm, jednakże nasiona o tych wymiarach stanowiły jedynie ułamek procenta całej przesiewanej partii, z tego powodu wprowadzono je do frakcji nasion o średnicy >1,0 mm. Frakcja stanowiąca przesiew przez sito o oczkach 0,8 mm składająca się głównie z zanieczyszczeń użytecznych i nieużytecznych i została odrzucona.

Zawartość skwalenu (ryc. 1) w próbkach olejów ze zbiorów 2007 r. była zróżnicowana. W nasionach nie poddanych frakcjonowaniu jego zawartość wynosiła w zależności od miejsca uprawy od 58,8 mg/g oleju w przypadku nasion uprawianych w okolicach Lublina (próbka 5) do 76,7 mg/g w olejach pozyskanych z nasion uprawianych w Oleśnicy (próbka 4). W oleju pozyskanym z nasion frakcjonowanych nie zaobserwowano wyraźnych zależności pomiędzy zawartością tego składnika a wielkością analizowanych nasion. W oleju pozyskanym z nasion frakcji >0,8 i <1,0 mm zawartość skwalenu wahała się od 56,4 mg/g do 76,9 mg/g odpowiednio dla nasion uprawianych w okolicach Lublina (próbka 5) i na plantacji w Łaziskach (próbka 2). Nasiona z plantacji w Łaziskach charakteryzowały się jednocześnie najwyższą zawartością skwalenu we frakcji nasion >1,0 mm, gdzie stwierdzono 77,7 mg tego składnika w przeliczeniu na jeden gram oleju. Olej z nasion uprawianych w 2006 roku na plantacji w Nowym Gaju (próbka 7) charakteryzował się niską zawartością skwalenu. W przypadku nasion niefrakcjonowanych jego zawartość sięgała 59,9 mg/g oleju. Po frakcjonowaniu nasion stwierdzono, że we frakcji nasion mniejszych od 1 mm a większych niż 0,8 mm zawartość skwalenu była najniższa spośród wszystkich badanych próbek (55,6 mg/g). W oleju z nasion frakcji >1,0 zawartość skwalenu sięgała 67,1 mg/g oleju, co stanowi wartość średnią na tle pozostałych lokalizacji. Porównywalne zawartości skwalenu w oleju z *Amarantus cruentus* uzyskali *Gamel* i współpr. (13) – 4,9%, oraz *Leon Camacho* i współpr. (14) – 65,6 mg/g.



Ryc 1. Zawartość skwalenu w oleju amarantusowym.

Fig. 1. Squalene content of amaranth oil.

Wyniki oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie na poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncan'a).

Próbka 1 - 2007 r., Hebdów, woj. małopolskie; próbka 2 - 2007 r., Łaziska, woj. lubelskie; próbka 3 - 2007 r., Piaski, woj. lubelskie; próbka 4 - 2007 r., Oleśnica, woj. dolnośląskie; próbka 5 - 2007 r., ok. Lublina, woj. lubelskie; próbka 6 - 2007 r., Nowy Gaj, woj. lubelskie; próbka 7 - 2006 r., Piaski Górne, woj. Lubelskie.

Wśród wielu substancji występujących w olejach roślinnych niezmiennie duże zainteresowanie budzą tokoferole (tab. I). Związki te są jednocześnie ich najważniejszymi i najlepiej poznanymi przeciwutleniaczami (7, 14). W analizowanych wariantach oleju amarantusowego zidentyfikowano α -, β -, γ -, δ -tokoferol, przy czym na podobnym poziomie kształtowała się zawartość izomerów α - i β -, nieco mniejsza izomeru δ -, zaś najmniejsza γ -tokoferolu. Spośród olejów wyłoczonych z nasion 2007 r., nie poddanych frakcjonowaniu, największą ogólną zawartością tokoferoli charakteryzowała się próbka 6 (1200 mg/kg), z frakcji 0,8-1,0 mm, próbka 2 (1281 mg/kg), a w olejach frakcji $>1,0$ mm próbka 3 (1172 mg/kg). Oleje z nasion zebranych w roku 2006 i przechowywanych przez rok (próbka 7) stwierdzono ogólną zawartość tokoferoli na średnim poziomie w stosunku do nasion uprawianych w roku 2007. W zależności od wielkości nasion wartości te mieściły się w granicach 1155 mg/kg (olej z nasion $>1,0$ mm) do 1246 mg/kg (olej z nasion $>0,8$ i $<1,0$ mm). Leon-Camacho i współpr. (4) badając olej amarantusowy uzyskali inne wartości poszczególnych form tokoferolu, mianowicie: α -tokoferolu - 248 mg/kg, β - 546 mg/kg, δ - 8 mg/kg, natomiast nie stwierdzili obecności γ -tokoferolu.

Tabela 1. Zawartość tokoferoli w oleju amarantusowym [mg/kg oleju]

Table 1. Tocopherols content of amaranth oil [mg/kg of oil]

Próbka	α - tokoferol	β - tokoferol	γ - tokoferol	δ - tokoferol	suma tokoferoli
Nasiona niefrakcjonowane					
1	426 ± 5,5 a	421 ± 22,9 ac	81 ± 8,7 a	238 ± 7,6 ac	1166 ± 44,8 a
2	405 ± 4,1 b	398 ± 2,0 b	97 ± 4,0 b	263 ± 2,6 b	1163 ± 12,7 a
3	421 ± 2,3 a	418 ± 11,8 ad	89 ± 3,3 bc	239 ± 6,2 a	1168 ± 23,5 a
4	428 ± 2,0 a	428 ± 3,6 ac	97 ± 1,9 b	226 ± 4,1 ac	1180 ± 11,7 a
5	448 ± 3,7 c	413 ± 2,6 ab	88 ± 7,4 ac	241 ± 10,7 a	1190 ± 24,4 a
6	448 ± 3,1 c	435 ± 4,6 c	90 ± 1,6 abc	228 ± 3,0 ac	1200 ± 12,3 a
7	426 ± 5,8 a	432 ± 12,6 cd	85 ± 4,9 ac	223 ± 22,3 c	1165 ± 45,4 a
Frakcja nasion > 1,0 mm					
1	408 ± 2,6 a	417 ± 17,1 a	90 ± 0,1 a	247 ± 3,4 a	1162 ± 17,9 a
2	380 ± 1,6 b	389 ± 3,6 b	98 ± 1,5 b	266 ± 5,2 b	1133 ± 11,9 a
3	414 ± 8,2 ae	424 ± 6,3 a	90 ± 1,2 a	245 ± 5,5 ad	1172 ± 21,1 a
4	396 ± 4,2 c	418 ± 9,7 a	97 ± 3,4 b	231 ± 9,4 ce	1141 ± 26,7 a
5	427 ± 13,8 d	389 ± 7,6 b	86 ± 5,2 a	236 ± 5,8 cd	1138 ± 32,4 a
6	422 ± 0,7 de	410 ± 0,9 a	89 ± 0,4 a	223 ± 2,4 e	1144 ± 4,4 a
7	403 ± 2,6 ac	423 ± 11,3 a	84 ± 5,2 a	244 ± 6,4 ad	1155 ± 25,4 a
Frakcja nasion > 0,8 mm i < 1,0 mm					
1	460 ± 19,0 a	445 ± 14,5 a	89 ± 2,6 a	246 ± 7,9 a	1239 ± 28,1 a
2	438 ± 7,5 b	406 ± 2,4 b	104 ± 3,0 b	265 ± 5,3 b	1213 ± 18,2 ac
3	469 ± 2,0 ad	461 ± 1,9 c	96 ± 1,1 c	255 ± 5,1 ab	1281 ± 10,2 b
4	469 ± 2,1 ad	425 ± 14,2 d	88 ± 3,8 a	216 ± 11,6 c	1197 ± 31,8 c
5	468 ± 2,0 ad	442 ± 1,3 a	97 ± 1,0 c	255 ± 3,2 ab	1263 ± 7,6 ab
6	495 ± 3,8 c	448 ± 4,0 ac	84 ± 1,8 a	225 ± 2,7 c	1251 ± 12,3 ab
7	479 ± 1,2 d	454 ± 5,0 ac	88 ± 3,6 a	225 ± 13,1 c	1246 ± 20,5 ab

Wyniki oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie na poziomie istotności $p < 0,05$ (test Duncan'a).

Results followed by the same letter are not significantly different at $p < 0,05$ (Duncan's test).

Próbka 1 - 2007 r., Hebdów, woj. małopolskie; próbka 2 - 2007 r., Łaziska, woj. lubelskie; próbka 3 - 2007 r., Piaski, woj. lubelskie; próbka 4 - 2007 r., Oleśnica, woj. dolnośląskie; próbka 5 - 2007 r., ok. Lublina, woj. lubelskie; próbka 6 - 2007 r., Nowy Gaj, woj. lubelskie; próbka 7 - 2006 r., Piaski Górne, woj. lubelskie.

Oznaczenie zawartości poszczególnych homologów tokoferoli w badanych próbkach oleju amarantusowego posłużyło do obliczenia ich aktywności biologicznej. Z uwagi na najwyższą aktywność biologiczną α -tokoferolu spośród wszystkich form tokoferoli, określanie aktywności biologicznej odnosi się do wyliczenia zawartości poszczególnych homologów o różnej aktywności witaminowej, a ich efektywność podaje się w ekwiwalentach α -tokoferolu (14). Najwyższe aktywności biologiczne stwierdzono w olejach z frakcji nasion większych (>1,0 mm), a najniższe w olejach z frakcji nasion drobniejszych (0,8-1,0 mm). W przypadku olejów z nasion 2007 r. niefrakcjonowanych najwyższą aktywność biologiczną wyrażoną w mg α -TE/kg, stwierdzono w próbce 6 (711). W olejach z frakcji nasion 0,8-1,0 mm, również próbka 6 odznaczała się najwyższą aktywnością biologiczną (762 mg α -TE), a we frakcji >1,0 mm była to próbka 3 (672 mg α -TE). W próbce 7 (2006r.) wartości te wynosiły odpowiednio dla oleju z

nasion: niefrakcjonowanych 685 mg α -TE, frakcji 0,8-1,0 mm 751 mg α -TE, oraz frakcji >1,0 mm - 660 mg α -TE.

WNIOSKI

1. Amaranthus charakteryzuje się dużą jednorodnością pod względem wielkości nasion bez względu na rok i lokalizację uprawy,
2. Olej amarantusowy jest bogatym źródłem skwalenu oraz tokoferoli.
3. Lokalizacja uprawy nie wpływa statystycznie istotnie na zawartość tokoferoli w olejach z nasion amarantusa.
4. Dominującymi tokoferolami oleju amarantusowego są α - i β - tokoferol.

D. Ogrodowska, S. Czaplicki, R. Zadernowski

BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES NATURALLY OCCURRING IN AMARANTH OIL

Summary

The search of new sources of bioactive compounds which can be used in food supplements is still valid. Undoubtedly interesting material in this respect is amaranthus which is rich in bioactive compounds oil obtained from their seeds. The aim of this study was to determine the biologically active compounds (tocopherols and squalene) naturally occurring in amaranth oil content. Efforts were also undertaken to establish the extent the place of cultivation and seed size influence the content of these components. It was found that amaranth seeds have a high uniformity regardless of the year and location of cultivation. Studies have shown that amaranth oil is a rich source of squalene and tocopherols, among which alpha and beta tocopherol were dominant. There was no statistically significant effect of location or the year of cultivation on the content of tocopherols in amaranth oil.

PIŚMIENNICTWO

1. *Grajeta H.*: Wartość odżywcza i wykorzystanie szarlatu. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1997; 30 (1): 17-23.– 2. *Rutkowska J.*: Amaranthus – roślina przyjazna człowiekowi. *Przegl. Piek. Cukier.*, 2006; 1: 6-10.– 3. *Sun H., Wiesenborn D., Tostenson K., Gillespie J., Rayas-Duarte P.*: Fractionation of Squalene from Amaranth Seed Oil. *JAOCS*, 1997; 74 (4): 413-417.– 4. *León-Camacho M., García-González D. L., Aparicio R.*: A detailed and comprehensive study of amaranth (*Amaranthus cruentus* L.) oil fatty profile. *Eur. Food Res. Technol.*, 2001; 213 (4-5): 349-355.– 5. *Piesiewicz H.*: Co nieco o skwalenie. *Przegl. Piek. Cukier.*, 2006; 2: 8-10.– 6. *Paško P., Bednarczyk M.*: Szarłat (*Amaranthus* sp.) – możliwości wykorzystania w medycynie. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2007; 2: 217-222.– 7. *Malecka M.*: Składniki frakcji nieglicerydowej olejów roślinnych jako przeciwutleniacze. *Tłuszcze Jadalne*, 1995; 30: 123-130.– 8. *Sikorski Z. E.* (red.): *Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności*. WNT, Warszawa, 1994; 381-383.– 9. *Grajek W.*: *Przeciwutleniacze w żywności – aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne*. WNT, Warszawa, 2007; 177-185.– 10. *Czaplicki, S., Zadernowski, R., Ogrodowska, D.*: Triacylglycerols from viper bugloss (*Echium vulgare* L.) seeds. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2009; 111: 1266-1269.
11. *Peterson D.M., Qureshi A.A.*: Genotype and Environment effects on tocols of barley and oats. *Cereal Chem.*, 1993; 70: 157-162.– 12. *Elmadfa I., Bosse W.*: *Vitamin E*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart. 1985.– 13. *Gamel T., H., Mesallam A., S., Damir A., A., Shekib L., A., Linszen J., P.*: Characterization of amaranth seed oils. *J. Food Lipids*, 2007; 14: 323-334.– 14. *Nogala-Kałucka M., Gogolewski M., Lampart-Szczapa E., Jaworek M., Singel A., Szulczewska A.*: Determination of vitamin E active compounds as biological antioxidant occurring in rapeseeds of the selected varieties. *Rośliny Oleiste*, 2003; 24 (2): 577-586.

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

Małgorzata Ziarno¹⁾, Dorota Zaręba¹⁾, Iwona Ścibisz²⁾

PRZEŻYwalNOŚĆ PROBIOTYCZNYCH BAKTERII FERMENTACJI MLEKOWEJ W MODELOWYCH JOGURTACH OWOCOWYCH*

¹⁾ Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności
Wydziału Nauk o Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. M. Gniewosz

²⁾ Katedra Technologii Żywności Wydziału Nauk o Żywności
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. J. Mroczek

*Celem badań było określenie przeżywalności komórek wybranych szczepów probiotycznych (*Lactobacillus acidophilus* La-5, *Lactobacillus casei* subsp. *paracasei* LCP i *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12) oraz bakterii jogurtowych (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*) w jogurtach z 20% dodatkiem wsadu borówkowego przechowywanych w 6°C±0,5 przez 12 tygodni. Liczba żywych komórek bakterii probiotycznych i jogurtowych w jogurtach borówkowych utrzymuje się na wymaganym poziomie przez co najmniej 12 tygodni co gwarantuje spełnienie kryterium probiotyczności określonego przez FAO/WHO.*

Hasła kluczowe: jogurt owocowy, probiotyki, przeżywalność, borówki.
Key words: fruit yoghurt, probiotics, viability, blueberry.

FAO/WHO wymaga, by liczba żywych komórek bakterii fermentacji mlekowej w jogurtach była na poziomie 10⁷ jtk/g w przypadku mikroflory technicznej oraz 10⁶ jtk/g w przypadku mikroflory probiotycznej, aż do ostatniego dnia przydatności do spożycia. Komórki bakterii mlekowych są wrażliwe na niektóre czynniki środowiskowe i wykazują różną przeżywalność w mlecznych napojach fermentowanych. Zróżnicowana przeżywalność bakterii może wynikać z odmiennej wrażliwości stosowanych gatunków i/lub szczepów bakterii starterowych i probiotycznych, czasu fermentacji, warunków przechowywania, pH produktu, stężenia cukru, zawartości suchej substancji, dostępu do substancji odżywczych, obecności tlenu (1, 2).

Celem badań było określenie przeżywalności komórek szczepów probiotycznych, a także bakterii jogurtowych w jogurtach borówkowych.

MATERIAŁ I METODY

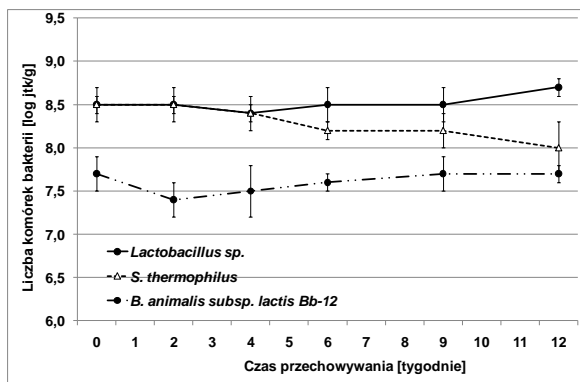
Jogurty wyprodukowano w warunkach laboratoryjnych na bazie mleka UHT (3,2%tł.) z dodatkiem 2% odtłuszczonego proszku mlecznego. Otrzymano 4 rodzaje jogurtów z dodatkiem 20%wag. wsadu borówkowego: (a) jogurt probiotyczny A - z kulturami X-16 i *Lb. acidophilus* La-5 (Chr. Hansen), (b) jogurt probiotyczny B - z kulturami X-16 i *Bif. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 (Chr. Hansen), (c) jogurt probiotyczny C - z kulturami X-16 i *Lb. casei* subsp. *paracasei* LCP (Mediterranea Biotechnologie), (d) jogurt tradycyjny - z kulturą X-16 (Chr. Hansen). Fermentację prowadzono w 37°C/4 godz. Wsad, wyprodukowany w warunkach laboratoryjnych, dodawano po zakończeniu fermentacji. Następnie jogurty schładzano do 6°C ±0,5 i przechowywano przez 12 tygodni. Liczbę komórek: *Str. thermophilus* (M17, 37°C/72 godz., tlenowo), *Lactobacillus* sp. (MRS, 37°C/72 godz., beztlenuowo), *Lb. casei* subsp. *paracasei* (MRS, 25°C/5 dni, tlenowo), *Lb. acidophilus* (MRS z klindamycyną i ciprofloksacyną, 37°C/72 godz., beztlenuowo) oraz *Bif. animalis* subsp. *lactis* (BL z kloksacyliną i chlorkiem litu, 37°C/72 godz., beztlenuowo) wykonywano co 2 tygodnie. Uzyskane wyniki przeanalizowano przy użyciu programu do statystycznej analizy danych Statgraphics 4.1 (posłużono się jednoczynnikową analizą wariancji, przy poziomie istotności $\alpha=0,05$, test *Tukeya*).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Stwierdzono dobrą przeżywalność mikroflory technicznej (bakterii jogurtowych) i mikroflory dodatkowej (szczepów probiotycznych) w jogurtach borówkowych, uzyskując produkty spełniające kryterium minimum terapeutycznego (populacja probiotyków ponad 6 log jtk/g) przez cały czas trwania badań (9). W jogurcie probiotycznym A, przeżywalność szczepu *Lb. acidophilus* La-5 zależała od czasu przechowywania (p-value=0,0001). W 9. tygodniu stwierdzono istotnie mniejszą liczbę komórek tego probiotyku w porównaniu do populacji bezpośrednio po zakończeniu fermentacji (ryc. 1). Otrzymane wyniki są potwierdzeniem wcześniejszych obserwacji Autorów (3) prowadzonych w jogurtach naturalnych, a także innych badaczy (4, 5). Populacja *Bif. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 w jogurcie B (ryc. 2) nie zmieniła się istotnie statystycznie w trakcie 12-tygodniowego przechowywania (p-value=0,3451). W przypadku *Lb. casei* subsp. *paracasei* LCP (jogurt C, ryc. 3) istotna redukcja liczby komórek nastąpiła w 12. tygodniu wykonywania analiz (p-value=0,0151). Warto zaznaczyć, że bakterie gatunku *Lb. casei* subsp. *paracasei* są mikroorganizmami mezofilnymi. Należało się zatem spodziewać, że będą dobrze tolerować warunki chłodnicze, chociaż piśmiennictwo podaje wyniki zmiennej przeżywalności szczepów bifidobakterii i *Lb. casei* w mlecznych napojach fermentowanych (3, 4, 6, 7).

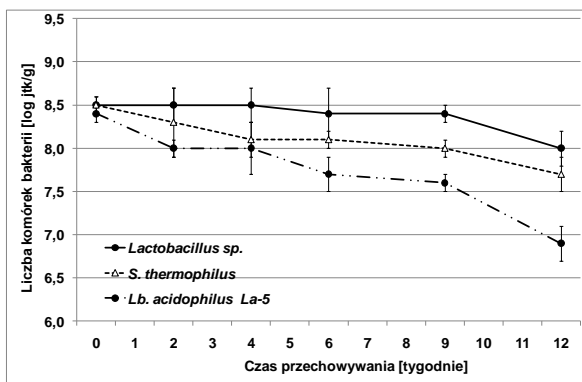
W otrzymanych jogurtach, liczba komórek pałeczek mlekowych nie zmieniła się istotnie w czasie chłodniczego przechowywania (ryc. 1-4). Bardziej wrażliwe na te warunki okazały się bakterie z gatunku *Str. thermophilus*. Otrzymane wyniki

przeżywalności *Str. thermophilus* są zgodne z wynikami innych Autorów (7, 8) uzyskanymi na innych szczepach z tego gatunku, natomiast w przypadku pałeczek mlekowych stwierdzono lepszą przeżywalność w porównaniu do wyników badań cytowanych.



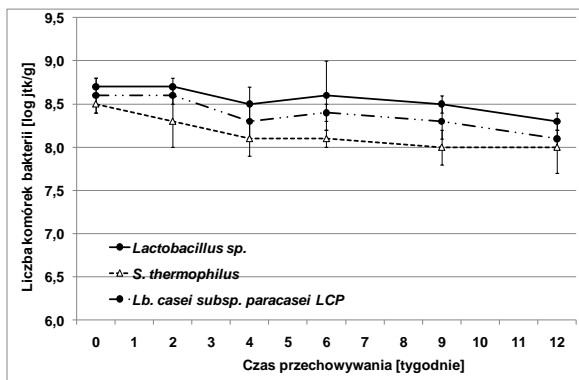
Ryc. 1. Zmiana liczby komórek mikroflory technicznej i szczepu La-5 w jogurcie A.

Fig. 1. The changes of technical microflora and probiotic La-5 strain cell number in yoghurt A.



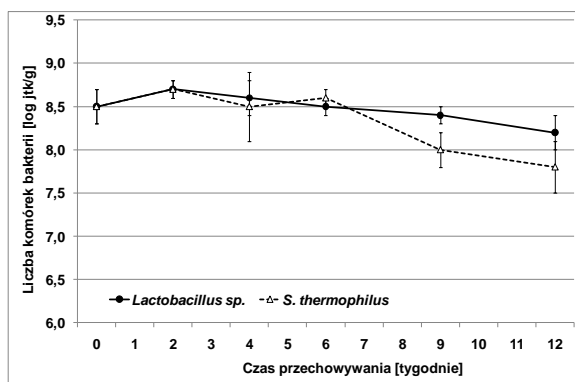
Ryc. 2. Zmiana liczby komórek mikroflory technicznej i szczepu Bb-12 w jogurcie B.

Fig. 2. The changes of technical microflora and probiotic Bb-12 strain cell number in yoghurt B.



Ryc. 3. Zmiana liczby komórek mikroflory technicznej i szczepu LCP w jogurcie C.

Fig. 3. The changes of technical microflora and LCP strain cell number in yoghurt C.



Ryc. 4. Zmiany liczby komórek bakterii jogurtowych w jogurcie tradycyjnym.

Fig. 4. The changes of yoghurt bacteria cell number in traditional yoghurt.

WNIOSKI

1. Przeżywalność probiotycznych szczepów bakterii fermentacji mlekowej w modelowych jogurtach borówkowych jest na poziomie gwarantującym spełnienie kryterium probiotyczności określonego przez FAO/WHO przez co najmniej 12 tygodni.

2. Podczas 12-tygodniowego chłodniczego przechowywania jogurtów borówkowych przeżywalność komórek mikroflory technicznej utrzymuje się na poziomie wymaganym przez FAO/WHO, czyli 10^7 jtk/g.

M. Ziarno, D. Zaręba, I. Ścibisz

VIABILITY OF PROBIOTIC LACTIC ACID BACTERIA IN MODEL FRUIT YOGHURTS

Summary

The aim of this research was to determine the viability of chosen probiotic strains (*Lactobacillus acidophilus* La-5, *Lactobacillus casei* subsp. *paracasei* LCP, and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12) as well as yoghurt bacteria (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*) in yoghurts produced with 20% addition of blueberry pulp and stored at $6^{\circ}\text{C} \pm 0.5$ for 12 weeks. The viability of probiotics and yoghurt bacteria in blueberry yoghurts for at least 12 weeks guarantees meeting the requirements of probiotic criteria set by FAO/WHO.

PIŚMIENNICTWO

1. Moneta J.: Fermentowane produkty mleczne suplementowane bakteriami probiotycznymi. Przegl. Mlecz., 2006; 1: 4-8.- 2. Kailasapathy K., Harmstorf I., Philips M.: Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp *lactis* in stirred fruit yoghurts. LWT Food Sci. Technol., 2008; 41 (7): 1317-1322.- 3. Zaręba D., Ziarno M., Obiedziński M.: Przeżywalność bakterii jogurtowych i probiotycznych w układach modelowych mleka niefermentowanego i fermentowanego. Med. Wet., 2008; 64 (8): 1007-1011.- 4. Vinderola C.G., Bailo N., Reinheimer J.A.: Survival of probiotic microflora in Argentinean yoghurts during refrigerated storage. Food Res. Int., 2000; 33 (2): 97-102.- 5. Nighswonger B.D., Brashears M.M., Gilliland S.E.: Viability of *Lactobacillus acidophilus*

and *Lactobacillus casei* in fermented milk products during refrigerated storage. J. Dairy Sci., 1996; 79: 212-219.- 6. Gueimonde M., Delgado S., Mayo B., Ruas-Madiedo P., Margolles A., de los Reyes-Gaviln C.G.: Viability and diversity of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* population included in commercial fermented milks. Food Res. Int., 2004; 37 (9): 839-850.- 7. Shah N.P., Lankaputhra W.E.V., Britz M.L., Kyle W.S.A.: Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage. Int. Dairy J., 1995; 5 (5): 515-521.- 8. Birollo G.A., Reinheimer J.A., Vinderola C.G.: Viability of lactic acid microflora in different types of yoghurt. Food Res. Int., 2000; 33 (9): 799-805.- 9. Codex Standard for fermented milks 243-2003. Adopted in 2003. Revision 2008, 2010.

Adres: 02-787 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159c.

Agata Stobnicka, Małgorzata Gniewosz, Anna Miętuszevska

PRZECIWBAKTERYJNE DZIAŁANIE SOKÓW OWOCOWYCH Z ŻURAWINY, ROKITNIKA, NONI I GOJI

Zakład Mikrobiologii i Biotechnologii Żywności Wydziału Nauk o Żywności
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Kierownik: dr hab. S. Błażejczak, prof. SGGW

Określono minimalne stężenie hamujące (MIC) i minimalne stężenie bakteriobójcze (MBC) soków owocowych z żurawiny, rokitnika, noni i goji w stosunku do czterech szczepów bakteryjnych: S. aureus ATCC 25923, B. subtilis ATCC 6633, E. coli ATCC 25922 i S. Enteritidis ATCC 13076. Najskuteczniejszym badanym sokiem, który hamował wzrost bakterii Gram (+), okazał się sok żurawinowy niepasteryzowany. MIC tego soku w stosunku do S. aureus ATCC 25923 i B. subtilis ATCC 6633 wynosiło 2 mg/cm³. Wzrost bakterii Gram (-) najskuteczniej był hamowany przez sok z owoców noni, którego MIC wobec szczepów E. coli ATCC 25922 i S. Enteritidis ATCC 13076 wynosiło 7,8 mg/cm³. W przypadku działania bakteriobójczego badanych soków, analogicznie najefektywniejszym w stosunku do szczepu S. aureus ATCC 25923 i B. subtilis ATCC 6633 okazał się sok żurawinowy niepasteryzowany, a w stosunku do szczepów E. coli ATCC 25922 i S. Enteritidis ATCC 13076 sok z owoców noni. Szczep S. aureus ATCC 25923 był najbardziej wrażliwy na działanie wszystkich soków.

Hasła kluczowe: MIC, MBC, żurawina, rokitnik, goja, noni.

Key words: MIC, MBC, żurawina, rokitnik, goja, noni.

Zainteresowanie związkami chemicznymi o naturalnym pochodzeniu i działaniu przeciwdrobnoustrojowym przyczynia się do coraz częstszego prowadzenia badań w tym zakresie. W różnych strefach klimatycznych występuje szereg gatunków roślin, których liście, kora, korzenie lub owoce zawierają związki o działaniu hamującym lub bójczym w stosunku do bakterii, drożdży czy pleśni. Wiele z tych roślin wykorzystywanych jest przez lokalną ludność w tradycyjnej medycynie ludowej. W niniejszej pracy przedstawiono wyniki działania przeciwdrobnoustrojowego czterech soków z owoców mających zastosowanie w tradycyjnej medycynie ludowej, przeciwko wybranym szczepom bakterii.

Żurawina wielkoowocowa (*Vaccinium macrocarpon*) to wieloletnia krzewinka z rodziny *Ericaceae* występująca powszechnie na terenach bagiennych i podmokłych Ameryki Północnej, Europy i Syberii. W Polsce stanowi antropofit zadomowiony. Jej owoce stanowią czerwone lub czerwono-czarne jagody, o charakterystycznym

cierpkim smaku. Roślina ta od wieków stanowi nie tylko ważny składnik diety, ale stosowana jest również w medycynie ludowej w takich schorzeniach jak stany zapalne układu moczowego, zapalenia śluzówki jamy ustnej, przeziębienia, angina czy problemy żołądkowo-jelitowe (1). Sok z owoców bogaty jest w antocyjany (glikozydy cyjanidyny i peonidyny), flawonoidy (kwercetyna, kemferol, mirycetyna), kwasy organiczne (benzoesowy, cytrynowy, jabłkowy, p-kumarowy, malonowy, chinowy, p-anizowy, szikimowy), triterpeny (kwas oleanolowy i ursolowy), katechiny i proantocyjanidyny oligomeryczne (proantocyjanidyny typu A2 i B2 oraz ich tetramery) (2, 3).

Goja (*Lycium barbarum*), zwana kolcowojem pospolitym należy do rodziny psiankowatych *Solanaceae*. Roślina ta występuje na terenie Tybetu, Mongolii, Indii i Chin. Owocem goji są jaskrawoczerwone jagody o łagodnym, słodko-kwaśnym smaku (4). Sok z owoców bogaty jest w karotenoidy (zeaksantyna), polisacharydy, flawonoidy czy związki seskwiterpenowe (solawetiwon, α -cyperon) (5). Roślina ta znana jest głównie ze swoich właściwości przeciwutleniających, ale w literaturze istnieją także doniesienia odnośnie jej działania przeciwdrobnoustrojowego w stosunku do szczepów *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* (6).

Noni (*Morinda citrifolia*), czyli tzw. morwa indyjska należy do rodziny marzanowatych *Rubiaceae*. Krzew ten pochodzi z południowo-wschodniej Azji i wysp Pacyfiku, a uprawiany jest powszechnie w Indiach, Polinezji, Ameryce Południowej i na Karaibach (7). Owoce tej rośliny są białe i charakteryzują się soczystym miąższem o nieprzyjemnym smaku i zapachu. Od wieków *Morinda citrifolia* stosowana jest przez Polinezyjczyków jako roślina lecznicza, tzw. aspiryna przeszłości (8). Sok z owoców używany był jako płyn do płukania gardła w celu złagodzenia jego bólu, co wskazuje na jego aktywność przeciwzapalną. Owoce mają również zastosowanie w leczeniu schorzeń układu pokarmowego. Wyniki badań wskazują na możliwość zastosowania dojrzałych i niedojrzałych owoców w leczeniu i zapobieganiu infekcji żołądka i jelit (9). Badania wykazały, że noni jest bogatym źródłem antrachinonów, takich jak damnacantal, rubiadim, morindon i lucidin. W soku obecne są także triterpeny (kwas ursolowy), związki fenolowe, β -sitosterol, alizaryna, kseronina. Za możliwe działanie przeciwdrobnoustrojowe odpowiedzialne są głównie związki z grupy antrachinonów i triterpenów (10, 11).

Rokitnik (*Hippophae rhamnoides*), czyli tzw. rosyjski ananas to gatunek rośliny z rodziny oliwnikowatych (*Elaeagnaceae*). Występuje w Europie i Azji, aż po Chiny, głównie wzdłuż wybrzeży morskich oraz w Polsce na wybrzeżu Morza Bałtyckiego (12). Owoce są soczyste, aromatyczne, o charakterystycznym kwaśno-cierpkim smaku, słodkie stają się dopiero po przemarznięciu. W medycynie tradycyjnej owoce stosowane są przy dolegliwościach żołądkowych, przeziębieniach i chorobach skóry. W soku z rokitnika obecne są kwasy organiczne (kwas malonowy, kwas ursolowy, kwas chininowy), beta-karoten, polisacharydy i flawonoidy (13-15). Zastosowanie powyższych roślin w tradycyjnej medycynie przeciwko schorzeniom typu zapalnego i bakteryjnego wskazuje na ich możliwe działanie przeciwdrobnoustrojowe, dlatego zasadne było podjęcie badań w tym zakresie.

MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto 100% pasteryzowanego i 100% niepasteryzowanego soku z owoców żurawiny wielkoowocowej (*Vaccinium macrocarpon*) (Oleofarm, Polska), 100% niepasteryzowanego soku z owoców goji (*Lycium barbarum*) (Oleofarm, Polska), 100% pasteryzowanego soku z owoców noni (*Morinda citrifolia*) (Oleofarm, Polska) oraz 100% pasteryzowanego soku z owoców rokitnika (*Hippophae rhamnoides*) (Oleofarm, Polska). Wszystkie badane soki nie zawierały dodatku środków konserwujących. W badaniach wykorzystano szczepy testowe bakterii: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 oraz *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Inokulum bakterii testowych zawierało $1,0 \times 10^7$ komórek/cm³. Dla każdego soku oznaczono minimalne stężenie hamujące (MIC, ang. Minimal Inhibitory Concentration) i minimalne stężenie bakteriobójcze (MBC, ang. Minimal Bactericidal Concentration) w stosunku do szczepów testowych. MIC oznaczono metodą makrorozcieńczeń na podłożu płynnym *Mueller-Hinton* (Merck, Niemcy). MBC oznaczono metodą płytkową na podłożu stałym *Mueller-Hinton* Agar (BTL, Polska) (16).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wyniki badań dotyczących minimalnego stężenia hamującego oraz minimalnego stężenia bakteriobójczego soków w stosunku do badanych szczepów bakterii przedstawiono w tab. I.

Tabela 1. Wyniki działania przeciwbakteryjnego soków (MIC, MBC) na badane szczepy bakterii

Table 1. Results of antibacterial activity of juices (MIC, MBC) on tested bacteria strains

Szczep	Sok żurawinowy niepasteryzowany		Sok żurawinowy pasteryzowany		Sok z rokitnika		Sok z noni		Sok z goji	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
	[mg/cm ³]									
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	2,0	4,0	2,3	9,3	4,8	9,7	7,8	15,7	22,1	-
<i>B.subtilis</i> ATCC 6633	2,0	2,0	4,7	4,7	4,8	4,8	7,8	7,8	44,2	44,2
<i>E.coli</i> ATCC 25922	8,1	16,2	9,3	18,7	9,7	19,3	7,8	15,7	44,2	-
<i>S.Enteritidis</i> ATCC 13076	8,1	16,2	9,3	18,7	9,7	19,3	7,8	15,7	44,2	88,5

(-) brak działania bakteriobójczego.

Wszystkie badane soki były aktywne w stosunku do badanych szczepów bakterii testowych. Minimalne stężenie hamujące (MIC) soku żurawinowego niepasteryzowanego w stosunku do *S. aureus* ATCC 25923 wynosiło $2,0 \text{ mg/cm}^3$, natomiast minimalne stężenie bakteriobójcze (MBC) $4,0 \text{ mg/cm}^3$. Dla *B. subtilis* ATCC 6633 wartości MIC i MBC były równe i wynosiły $2,0 \text{ mg/cm}^3$. W przypadku *E. coli* ATCC 25922 oraz *S. Enteritidis* ATCC 13076, wartości MIC i MBC kształtowały się odpowiednio na poziomie $8,1 \text{ mg/cm}^3$ oraz $16,2 \text{ mg/cm}^3$.

Wartości MIC soku żurawinowego pasteryzowanego w stosunku do *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 i *S. Enteritidis* ATCC 13076 były niewiele większe od wartości MIC tego soku nie poddanego pasteryzacji. Natomiast dwukrotnie większe MIC i MBC soku stwierdzono w stosunku do *B. subtilis* ATCC 6633 ($4,7 \text{ mg/cm}^3$).

Sok z rokitnika wykazywał słabsze działanie bakteriostatyczne i bakteriobójcze wobec wszystkich szczepów w porównaniu z sokami z żurawiny. W stosunku do *S. aureus* ATCC 25923 MIC tego soku wynosiło $4,8 \text{ mg/cm}^3$, a MBC $9,7 \text{ mg/cm}^3$. Podobnie jak w przypadku poprzednich soków, wartości MIC i MBC soku z rokitnika względem *B. subtilis* ATCC 6633 były sobie równe i wynosiły $4,8 \text{ mg/cm}^3$. Szczepy bakterii gramujemnych tj. *E. coli* ATCC 25922 i *S. Enteritidis* ATCC 13076 były mniej wrażliwe na działanie tego soku od bakterii gramodatnich. Wartości MIC oraz MBC kształtowały się odpowiednio na poziomie $9,7 \text{ mg/cm}^3$ oraz $19,3 \text{ mg/cm}^3$.

Sok z noni wykazywał najsilniejsze działanie hamujące wzrost bakterii gramujemnych spośród wszystkich badanych soków. Stwierdzono jednakowe bakteriostatyczne działanie tego soku w stosunku do szczepów testowych wynoszące $7,8 \text{ mg/cm}^3$. Równocześnie obserwowano słabsze jego działanie na bakterie gramodatnie, zwłaszcza bakteriobójcze, które było zróżnicowane i mieściło się w granicach $7,8\text{-}15,7 \text{ mg/cm}^3$.

MIC soku z goji względem bakterii testowych były kilkakrotnie większe niż dla pozostałych soków. Wzrost szczepu *S. aureus* ATCC 25923 był hamowany dopiero przy stężeniu $22,1 \text{ mg/cm}^3$ i równocześnie sok ten nie wykazywał działania bakteriobójczego w stosunku do tej bakterii. Dwukrotnie większe wartości MIC ($44,2 \text{ mg/cm}^3$) stwierdzono w stosunku do *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 25922, *S. Enteritidis* ATCC 13076. Wartość MBC wobec *S. Enteritidis* ATCC 13076 była największa i wynosiła aż $88,5 \text{ mg/cm}^3$.

Biorąc pod uwagę działanie soków hamujące wzrost bakterii testowych stwierdzono, że zarówno sok żurawinowy pasteryzowany jak i niepasteryzowany były najbardziej skuteczne w stosunku do szczepu *S. aureus* ATCC 25923. Z kolei szczep *B. subtilis* ATCC 6633 był najbardziej wrażliwy na działanie soku żurawinowego niepasteryzowanego, a szczepy *E. coli* ATCC 25922 i *S. Enteritidis* ATCC 13076 na działanie soku z owoców noni.

Podobnie działały soki bakteriobójczo; najefektywniejszym w stosunku do szczepu *S. aureus* ATCC 25923 i równocześnie *B. subtilis* ATCC 6633 okazał się sok żurawinowy niepasteryzowany, a w stosunku do szczepów *E. coli* ATCC 25922 i *S. Enteritidis* ATCC 13076 sok z owoców noni. Szczepem najbardziej wrażliwym

na działanie wszystkich soków był *S. aureus* ATCC 25923. Najskuteczniejszym badanym sokiem wykazującym działanie hamujące wzrost testowych bakterii przy najniższym stężeniu był sok żurawinowy niepasteryzowany. Oznacza to, że sok ten zawierał prawdopodobnie silniejsze związki o działaniu przeciwbakteryjnym, niż pozostałe soki, które wykazują takie działanie dopiero w wyższych stężeniach. Wszystkie badane szczepy wykazywały większą wrażliwość na niepasteryzowany niż na pasteryzowany sok żurawinowy. Różnica w skuteczności przeciwbakteryjnego działania tych soków, wskazuje na niekorzystne efekty stosowania wysokiej temperatury utrwalania soku w stosunku do jego aktywnych składników, które prawdopodobnie zostały inaktywowane w trakcie tego procesu.

Według danych literaturowych wszystkie badane soki zawierają związki o charakterze kwasowym (2, 5, 7, 15). W związku z tym, głównym, ale najprawdopodobniej nie jedynym, czynnikiem hamującym wzrost badanych drobnoustrojów było obniżenie pH podłoża.

WNIOSKI

1. Najskuteczniejsze działanie hamujące i bakteriobójcze w stosunku do bakterii Gram (+) wykazuje sok żurawinowy niepasteryzowany.
2. Najskuteczniejsze działanie hamujące i bakteriobójcze w stosunku do bakterii Gram (-) wykazuje sok z owoców noni.
3. Szczepem o największej wrażliwości w stosunku do badanych soków jest szczep *S. aureus* ATCC 25923.
4. Pasteryzacja soku żurawinowego spowodowała obniżenie działania bakteriostatycznego i bakteriobójczego wobec szczepów testowych.

PODZIĘKOWANIA

Dziękujemy firmie Oleofarm (Polska) za udostępnienie próbek soków do badań.

A. Stobnicka, M. Gniewosz, A. Miętuszevska

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CRANBERRY, SEA-BUCKTHORN, NONI AND WOLFBERRY JUICES

Summary

Defined the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of cranberry, wolfberry, noni and the sea-buckthorn juices against four bacterial strains: *S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 25922 and *S. Enteritidis* ATCC 13076. Unpasteurized cranberry juice was the most effective juice, which inhibited the growth of Gram (+). For *S. aureus* ATCC 25923 and *B. subtilis* ATCC 6633, the MIC of this juice was 2 g/cm³. Noni juice had the most effective inhibitory activity for Gram (-) strains. MIC for *E. coli* ATCC 25922 and *S. Enteritidis* ATCC 13076 at a concentration of 7.8 g/cm³. In the case of bactericidal activity, the most

effective juice against *S. aureus* ATCC 25923 was unpasteurized cranberry juice (MBC 4.0 g/cm³). Unpasteurized cranberry juice was the most effective against *B. subtilis* ATCC 6633, as well (MBC 2.0 g/cm³). Noni juice was the most effective against *E. coli* ATCC 25922 and *S. Enteritidis* ATCC 13076 (MBC 9.7 g/cm³, pH 4.0). *S. aureus* ATCC 25923 was the most sensitive strain on all juices.

PIŚMIENNICTWO

1. Rodowski D.: Żurawina – nowe spojrzenie na właściwości lecznicze. Post. Fit., 2001; 2-3: 28-31.
2. Hong V., Wrolstad R.E.: Cranberry juice composition. J. AOAC Int., 1986; 69: 199-207.
3. Witkowska-Banaszczak E., Bylka W.: Bezpieczeństwo stosowania owoców żurawiny, Herba Polonica, 2006, 3 (52): 109-110.
4. Bogacz K.: Goji – owoc zdrowia i długowieczności, Przem. Ferment. Owoc. Warz., 2009; 9 (53): 33-34.
5. Potterat O.: Goji (*Lycium barbarum* and *L. chinense*): Phytochemistry, Pharmacology and Safety in the Perspective of Traditional Uses and Recent Popularity. Planta Med., 2010; 76: 7-19.
6. Dong W., Wang T., Wang F.: Antibacterial function of seleniferous lycium barbarum on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. J. Xingxiang Med. College, 2009; 26 (3): 249-251.
7. Chan-Blanco Y., Vaillant F., Mercedes Perez A., Reynes M., Brillouet J.M., Brat P.: The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. J. Food Comp. Anal., 2006; 19: 645-654.
8. Druri M.: Superowoce. Przem. Spoż., 2010; 5 (64): 12-16.
9. Rajarajan S., Nisha K.J., Shanthi S.: In vitro bactericidal activities of extracts from ripe and unripe fruit of “noni”. Nature Precedings, 2009; 6.
10. Mian-Ying W., West J.B., Jensen C.J., Nowicki D., Chen S., Palu A., Anderson G., Morinda citrifolia (Noni): A literature review and recent advances in Noni research, Acta Pharmacol. Sin., 2002; 23 (12): 1127-1141.
11. Yang J., Gadi R., Paulino R., Thomson T.: Total phenolics, ascorbic acid, and antioxidant capacity of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder as affected by illumination during storage, Food Chem., 2010; 122: 627-632.
12. Mazerant-Leszkowska A.: Mała księga ziół. Warszawa: Inst. Wyd. Zw. Zawodowych, 1990; 234.
13. Zheng R.X., Xu X.D., Tian Z., Yang J.S.: Chemical constituents from the fruits of *Hippophae rhamnoides*, Nat. Prod. Res., 2009; 23 (15): 1451-1456.
14. Sannai A., Fujimori T., Kato K.: Isolation of (-)-1,2-dehydro- α -cyperone and solavetivone from *Lycium chinense*. Phytochem., 1982; 21: 2986-2987.
15. Tian M., Wang M.: Studies on extraction, isolation, and composition of *Lycium barbarum* polysaccharides. J. Trad. Chinese Herb Drugs, 2006; 31 (19): 1603-1607.
16. Espinel-Ingroff A., Pfaller MA.: Antifungal agents and susceptibility testing. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, editors. Manual of clinical microbiology. Washington DC, ASM Press, 1995.

Adres: 02-776 Warszawa, Nowoursynowska 159c.

Alicja Synowiec¹⁾, Małgorzata Gniewosz¹⁾, Katarzyna Bączek²⁾, Zenon Węglarz²⁾

PRZECIWDROBNOUSTROJOWE DZIAŁANIE WODNO- ETANOLOWEGO EKSTRAKTU Z LIŚCI BORÓWKI CZERNICY (*VACCINIUM MYRTILLUS* L.)*

¹⁾ Zakład Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Katedry Biotechnologii,
Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydział Nauk o Żywności
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Kierownik Zakładu: dr hab. S. Błażejczak

²⁾ Katedra Roślin Warzywniczych i Leczniczych
Wydziału Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Kierownik Katedry: dr J. Gajc-Wolska

*W pracy przedstawiono wyniki dotyczące działania ekstraktu wodno-etanolowego z liści borówki czernicy na wybrane drobnoustroje. Ekstrakt ten wykazywał działanie hamujące na wszystkie szczepy testowanych bakterii. Najbardziej wrażliwe na jego działanie były bakterie gram dodatnie, takie jak *S. aureus* ATCC 25923 i *B. subtilis* ATCC 6633, dla których MIC i MBC wynosiły odpowiednio: 0,48 i 0,96 mg s.s./cm³ oraz 0,96 i 15,36 mg s.s./cm³. Bakterie gram ujemne hamowane były przy zastosowaniu większego stężenia ekstraktu. Badany ekstrakt nie wykazywał działania hamującego na wzrost grzybów w badanym zakresie stężeń 0,12-61,47 mg s.s./cm³.*

Hasła kluczowe: ekstrakt, (*Vaccinium myrtillus*), polifenole, aktywność przeciwdrobnoustrojowa.

Key words: extracts, *Vaccinium myrtillus*, polyphenols, antimicrobial activity.

Psucie się żywności oraz zatrucia wywoływane przez mikroorganizmy przenoszące się przez żywność nadal stanowią poważny problem dlatego poszukuje się nowych, akceptowanych przez konsumentów metod zabezpieczania żywności (1, 2). Wyciągi z roślin przyprawowych i leczniczych o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych są od dawna używane do zwiększania bezpieczeństwa żywności oraz przedłużania trwałości produktów. W związku z niechęcią konsumentów do konserwantów, ekstrakty roślinne mogą stanowić doskonałą ich alternatywę. Dodatkową zaletą stosowania wyciągów roślinnych jest ich większa skuteczność dzięki kombinacji związków wchodzących w ich skład (1, 3). Do tej pory w przemyśle spożywczym z surowców roślinnych wykorzystywano takie przyprawy jak: pieprz i goździki (4), lebiodkę i szałwię (5) oraz bazylię (6).

Borówka czernica (*Vaccinium myrtillus* L.), występująca powszechnie na terenie Europy, Azji i Ameryki Północnej, należy do rodziny wrzosowatych (*Ericaceae*)

* Pracę zrealizowano w ramach projektu badawczego MNiSzW Nr N N312 068038.

(7, 8). Surowcami leczniczymi u tej rośliny są liście i owoce. Liście są bogate w garbniki, flawonoidy, antocyjany oraz kwasy fenolowe i arbutynę, natomiast owoce zawierają antocyjany (0,10-0,25%), garbniki, pektyny, witaminy oraz cukry (9). Liście borówki czernicy działają przeciwzapalne i przeciwbakteryjne i w medycynie stosowane są w leczeniu stanów zapalnych dróg moczowych i układu pokarmowego oraz pomocniczo w leczeniu cukrzycy typu drugiego. Owoce stosowane są przede wszystkim w oftalmologii jako środek poprawiający mikrokrążenie w obrębie gałki ocznej oraz jako surowiec przeciwbiegunkowy (7, 9, 10).

Celem niniejszych badań było określenie właściwości przeciwdrobnoustrojowych wodno-etanolowego ekstraktu otrzymanego z liści borówki czernicy.

MATERIAŁ I METODY

Surowiec do ekstrakcji, czyli liście borówki czernicy, zebrany został ze stanowiska naturalnego (las mieszany) zlokalizowanego na terenie nadleśnictwa Rudka, na Podlasiu (N 52 38.152' E 022 45.719').

Ekstrakt przygotowano metodą ekstrakcji periodycznej jednostopniowej. Jako rozpuszczalnika użyto wody destylowanej i etanolu 96%. Stosunek surowca (0,5kg) do rozpuszczalnika (5 dm³) wynosił 1:10. Rozdrobniony surowiec ekstrahowano utrzymując temperaturę 70°C przez 2 godziny. Uzyskane surowe ekstrakty przesączono przez filtr bibułowy, po czym odparowano w rotacyjnej wyparce Rotovaporator R-205 firmy Büchi. Zastosowano następującą temperaturę: łaźni grzejnej 60°C, skroplin 40°C i wody chłodzącej 20°C oraz podciśnienie 75 mbar. Ekstrakt surowy zagęszczono w wyparce do zawartości suchej masy równej 0,38 g/cm³.

W liściach i w pochodzącym z nich ekstrakcie oznaczono ogólną zawartość kwasów fenolowych i garbników metodą spektrofotometryczną wg Farmakopei Polskiej VI (11).

Badaniami mikrobiologicznymi zostały objęte następujące szczepy testowe: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus mirabilis* 14a PZH., *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Aspergillus niger* ATCC 9142, *Rhizopus arrhizus* ATCC 11145, *Penicillium expansum* ATCC 7861, *Saccharomyces cerevisiae* Bingen, *Saccharomycopsis fibuliger* E. ang. Szczepy pochodziły z Muzeum Czystych Kultur Zakładu Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności SGGW.

W badaniach do oznaczenia aktywności przeciwdrobnoustrojowej ekstraktu z liści borówki czernicy wykorzystano metodę makrorozcieńczeń (12-14). Wyznaczono minimalne stężenie hamujące oraz stężenie bójcze dla bakterii (MIC i MBC) oraz dla grzybów (MIC i MFC). Przygotowano podwójny szereg rozcieńczeń ekstraktu (0,12 do 61,47 mg s.s./cm³) w bulionie *Muller-Hinton* (Merck, Polska) dla bakterii oraz bulion *Sabourauda* (BTL, Polska) dla grzybów. Ostatecznie w każdej próbówce znajdowało się 2 cm³ podłoża z odpowiednim

stężeniem badanego ekstraktu oraz 0,1 cm³ inoculum. Inoculum wprowadzane do każdej probówki pochodziło z 18-20 h hodowli, bakterii (10⁷ jtk/ cm³) lub 48 h hodowli inoculum drożdży (10⁶ jtk/cm³). W przypadku pleśni inoculum stanowiła zawiesina zarodników przygotowana w soli fizjologicznej (10⁶ zarodników/cm³) z 21-dniowej hodowli. Inkubację prowadzono przez 18-20 h w temperaturze 37°C ± 1°C dla bakterii i 48 h hodowlę w temperaturze 28±1°C w przypadku grzybów. W przypadku pleśni *Rhizopus arrhizus* czas inkubacji wynosił 24h. Brak wzrostu szczepu był interpretowany jako przeciwbakteryjna lub przeciwgrzybicza aktywność ekstraktu. Minimalne stężenie hamujące (MIC) wyznaczano jako najmniejszą koncentrację badanego ekstraktu, który zapobiegał wizualnemu wzrostowi mikroorganizmów. Minimalne stężenie bakteriobójcze (MBC) lub minimalne stężenie grzybobójcze (MFC) wyznaczano posiewając 0,1 cm³ z każdej probówki, w której nie zaobserwowano wzrostu oraz z jednej probówki w której nastąpił wzrost na *Muller-Hinton* agar (BTL, Polska) dla bakterii i *Sabourauda* agar (BTL, Polska) dla grzybów. MBCs i MFCs definiowano jako najniższe stężenie ekstraktu, które powodowało redukcję liczby drobnoustrojów rzędu 99,9%.

WYNIKI

W liściach borówki zawartość kwasów fenolowych wynosiła 4,17%, a garbników 1,90%, natomiast w ekstrakcie odpowiednio: 12,10% i 6,05% (tab. I).

Tabela 1. Procentowa zawartość kwasów fenolowych i garbników w liściach i ekstrakcie z liści (%)

Table 1. Present contents of phenolic acids and tannins in the leaves and leaf extract (%)

substancja aktywna	liście	ekstrakt
	[%]	[%]
kwasy fenolowe	4,17	12,1
garbniki	1,90	6,1

W tab. II przedstawiono MIC ekstraktu z liści borówki czernicy przeciw badanym bakteriom. Ekstrakt wodno-etanolowy z liści borówki czernicy wykazywał działanie hamujące na wszystkie szczepy bakterii testowych.

Spśród badanych szczepów bakterii najbardziej wrażliwe na działanie ekstraktu były bakterie gram dodatnie. Wartości MIC ekstraktu w stosunku do *S. aureus* ATCC 25923 była najniższa i wynosiła 0,48 mg s.s./cm³. Drugą hamowaną bakterią gram dodatnią był *B. subtilis* ATCC 6633 dla którego MIC ekstraktu było równe 7,68 mg s.s./cm³. W przypadku bakterii gram dodatnich ekstrakt wykazywał też działanie bakteriobójcze. MBC było dwukrotnie wyższe niż MIC tych bakterii i wynosiło odpowiednio 0,96 oraz 15,36 mg s.s./cm³.

Tabela 11. Minimalne stężenie hamujące (MIC) i minimalne stężenie bójcze (MBC) ekstraktu z liści borówki przeciwko bakteriom testowym

Table 11. Minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) of blueberry leaves extract against test bacteria

Bakterie	MIC	MBC
	[mg s.s. /cm ³]	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0,48	0,96
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	7,68	15,36
<i>Proteus mirabilis</i> 14a PZH	15,36	30,74
<i>Escherichia coli</i> ATCC 2592	30,74	> 61,47
<i>Salmonella</i> Enteritidis ATCC 13076	30,74	> 61,47

Bakterie gram ujemne hamowane były przy zastosowaniu większego stężenia ekstraktu. Spośród bakterii gram ujemnych najbardziej wrażliwy był *P. mirabilis* 14a PZH, dla którego MIC wynosiło 15,36 mg s.s./cm³ i podobnie jak w przypadku bakterii gram dodatnich MBC było dwukrotnie wyższe i wynosiło 30,74 mg s.s./cm³. Pozostałe dwa szczepy bakterii gram ujemnych *S. Enteritidis* ATCC 13076 i *E. coli* ATCC 25922 były tylko hamowane przez badany ekstrakt na jednakowym poziomie MIC wynoszącym 30,74 mg s.s./cm³.

W badaniach *Witzell* i współpr. (13) w liściach borówki czernicy największy udział w kwasach fenolowych stanowił kwas chlorogenowy. *Mouning* i współpr. (13) wykazali, że najbardziej wrażliwą bakterią na kwas chlorogenowy był *S. aureus*, następnie *B. subtilis* i najbardziej oporna była *E. coli*.

Według *Cushnie* i *Lamb* (15) duża oporność bakterii gram ujemnych na kwasy fenolowe jest związana z budową ściany komórkowej, która składa się z cienkiej warstwy peptydoglikanu oraz zewnętrznej warstwy lipoprotein, liposacharydów i fosfolipidów, które skuteczniej chronią komórki przed szkodliwym działaniem kwasów. Natomiast ściana komórkowa bakterii gram dodatnich zbudowana jest z peptydoglikanu z dużą ilością porów przepuszczających te związki do cytozolu. Polifenole wnikają do wnętrza komórki przez te pory, hamują syntezę kwasów nukleinowych, uszkodzają błonę cytoplazmatyczną oraz zakłócają system energetyczny komórki. W badaniach *Kokoska* i współpr. (16) etanolowy ekstrakt z liści borówki wykazywał aktywność jedynie w stosunku do *E. coli* i *Pseudomonas aeruginosa*, dla którego wartość MIC wynosiła 250 mg s.s. / cm³. Ekstrakt ten nie wykazywał aktywności przeciwko pozostałym badanym mikroorganizmom: *Bacillus cereus*, *Candida albicans* i *Staphylococcus aureus*.

Wodno-etanolowy ekstrakt z liści borówki czernicy nie wykazywał działania hamującego na wzrost grzybów w badanym zakresie stężeń 0,12-61,47 mg s.s. / cm³ (tab. III).

Tabela III. Minimalne stężenie hamujące (MIC) i minimalne stężenie bójcze (MFC) ekstraktu z liści borówki przeciwko grzybom testowym

Table III. Minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal fungicidal concentration (MFC) of bluberry leaves extract against test fungi

Grzyby	MIC	MBC
	[mg s.s./cm ³]	
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 9142	>61,47	-
<i>Rhizopus arrhizus</i> ATCC 11145	>61,47	-
<i>Penicillium expansum</i> ATCC 7861	>61,47	-
<i>Saccharmyces cerevisiae</i> Bingen	>61,47	-
<i>Schizosaccharmyces fibuliger</i> E. ang.	>61,47	-

WNIOSKI

Uzyskane wyniki wskazują, że ekstrakt wodno-etanolowy z liści borówki czernicy może znaleźć zastosowanie do ograniczania zanieczyszczeń bakteryjnych, wywołanych zwłaszcza bakteriami gram dodatnimi. Badany ekstrakt nie wykazywał działania przeciwgrzybowego w użytych stężeniach (0,12 do 61,47 mg s.s./cm³).

A. Synowiec, M. Gniewosz, K. Bączek, Z. Węglarz

ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF WATER-ETHANOL EXTRACT FROM THE LEAVES OF BILBERRY (*VACCINIUM MYRTILLU*)

Summary

The results of the activities of water-ethanol extract from the leaves of bilberry on selected microorganisms. This extract has shown inhibiting activity against all tested bacteria. The most sensitive to action of this extract were gram positive bacteria, such as *S. aureus* ATCC 25923 and *B. subtilis* ATCC 6633, for which the following results were obtained: MIC and MBC: 0.48 and 0.96 mg d.m. /ml also 0.96 and 15.36 mg s.s./cm³. Gram-negative bacteria were inhibited by using a higher concentration of the extract. The test extract showed no inhibitory effect on the growth of fungi in the studied concentration range 0.12-61.47 mg d.m./ml.

PIŚMIENNICTWO

1. Dupont S., Caffin N., Bhandari B., Dykes G. A.: In vitro antibacterial activity of Australian native herb extracts against food-related bacteria. *Food Control*, 2006; 17: 929–932.- 2. Shan B., Cai Y., Brooks J. D., Corke H.: The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007; 117: 112–119.- 3. Alzoreky N.S., Nakahara K.: Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003; 80: 223–230.- 2. Daferera D.J., Ziogas B.N., Polissiou M.G.: GC–MS analysis of essential oils from Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *J. Agric. Food Chem.*, 2000; 48: 2576–2581.- 3. Marino, M., Bersani, C., Comi, G.: Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001; 67: 187–195.- 4. Opalchenova G., Obreshkova D.: Comparative studies on the activity of basil-an essential oil from

Ocimum basilicum L.-against multidrug resistant clinical isolates of the genera *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Pseudomonas* by using different test methods. J. Microbiol. Methods, 2003; 54: 105–110.- 5. *Canter P.H., Ernst E.*: Anthocyanosides of *Vaccinium myrtillus* (bilberry) for night vision – a systematic review of placebo-controlled trials. Survey of Ophthalmology, 2004; 49 (1): 38-42.- 6. *Valentová K., Ulrichová J., Cvak L., Šimànek V.*: Cytoprotective effect of a bilberry extract against oxidative damage of rat hepatocytes, Food Chem., 2007; 101: 912-17.- 7. *Duke J.A., Bogenschultz-Godwin M.J., du Cellier J., Duke P-A. K.*: Handbook of Medicinal Herb. 2nd Ed. CRC Press, Boca Raton (USA), 2002; 74-76.- 8. *Ferreira F.M., Peixoto F.P., Nunes E., Sena C., Seica R., Santos M.S.*: *Vaccinium myrtillus* improves liver mitochondrial oxidative phosphorylation of diabetic Gato-Kakizaki rats. J. Med. Plant. Res., 2010; 4(8): 692-696.- 9. Farmakopea Polska VI, Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, Warszawa, 2002.- 10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1999. Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents. Approved guideline M26-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA.

11. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2009. Method for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents: Approved Guide Standard-Eight Edition. CLSI document M07-A8. Wayne, PA.- 12. *Tamokoua J., Talab M., Wabob H., Kuiatea J, Taneb P.*: Antimicrobial activities of methanol extract and compounds from stem bark of *Vismia rubescens*. J. Ethnopharm., 2009; 124: 571-575.- 13. *Witzell J., Gref R., Nashol, T.*: Plant-part specific and temporal variation in phenolic compounds of boreal bilberry (*Vaccinium myrtillus*) plants. Biochem. Systemat. Ecol., 2003; 31: 115-127.- 14. *Mouming Z., Haiyan W., Bao Y., Hong T.*: Identification of cyclodextrin inclusion complex of chlorogenic acid and its antimicrobial activity. Food Chem., 2010; 120: 1138–1142.- 15. *Cushnie T., Lamb A.J.*: Antimicrobial activity of flavonoids. Int. J. Antimicrob. Agents, 2005; 26: 343–356.- 16. *Kokoska L., Polesny Z., Rada V. , Nepovim A. , Vanek T.* : Screening of some Siberian medicinal plants for antimicrobial activity. J. Ethnopharm., 2002; 82: 51-53.

Adres: 02-776 Warszawa, Nowoursynowska 159c.

Karolina Kraśniewska¹⁾, Małgorzata Gniewosz¹⁾, Katarzyna Bączek²⁾,
Olga Kosakowska²⁾

PRZECIWDROBNOUSTROJOWA AKTYWNOŚĆ EKSTRAKTU Z KLĄCZY BERGENII GRUBOLISTNEJ (*BERGENIA CRASSIFOLIA* (L.) FRITSCH)*

¹⁾Zakład Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Wydziału Nauk o Żywności
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Kierownik: dr hab. S. Błażejczak, prof. SGGW

²⁾Katedra Roślin Warzywnych i Leczniczych Wydziału Ogrodnictwa i Architektury
Krajobrazu Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Kierownik: dr hab. J. Gajc-Wolska, prof. SGGW

W pracy oceniono przeciwdrobnoustrojową aktywność wodnego ekstraktu z kłączy bergenii grubolistnej (Bergenia crassifolia). Wyznaczono minimalne stężenie hamujące (MIC) i minimalne stężenie bakteriobójcze (MBC) ekstraktu względem bakterii: Bacillus subtilis ATCC 6633, Enterococcus faecalis ATCC 29212, Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 25922, Salmonella Enteritidis ATCC 13076, Proteus mirabilis ATCC 35659. Zarówno w suchych kłęczach jak i w użytym do badań ekstrakcie wodnym z tego surowca oznaczono ogólną zawartość garbników i fenolokwasów. Ekstrakt zawierał 3-krotnie więcej fenolokwasów i 2-krotnie więcej garbników. Uzyskany ekstrakt odznaczał się aktywnością mikrobiologiczną względem wszystkich użytych w doświadczeniu bakterii. Jego najsilniejsze bakteriostatyczne i bakteriobójcze działanie stwierdzono względem Gram (+) bakterii Bacillus subtilis ATCC 6633. Spośród bakterii Gram (-) najbardziej wrażliwy na działanie ekstraktu był szczep Proteus mirabilis ATCC 35659.

Hasła kluczowe: aktywność przeciwdrobnoustrojowa, ekstrakt z bergenii grubolistnej, MIC, MBC.

Key words: antimicrobial activity, extract from *Bergenia crassifolia*, MIC, MBC.

Begonia grubolistna (*Bergenia crassifolia*) jest rośliną wieloletnią należącą do rodziny skalnicowatych (*Saxifragaceae*) rosnącą w stanie dzikim w środkowo-wschodniej Azji, na terenie Rosji, Mongolii i Chin. W Polsce uprawiana jest jako zimotrwała roślina ozdobna. Naturalnie występuje na skalistych zboczach gór na wysokości od 1100 do 1800 m n.p.m. Część nadziemną bergenii tworzą ciemnozielone, skórzaste liście osadzone na grubych, mięsistych ogonkach liściowych. Pędy kwiatostanowe zakończone są z blad- lub ciemnoróżowymi kwiatami pojawiającymi się wczesną wiosną. Część podziemną stanowi grube kłącze z korzeniami (1). Surowcem leczniczym bywają zarówno liście jak i organy

* Pracę zrealizowano w ramach projektu badawczego MNiSzW Nr N N312 068038.

podziemne bergonii. W organach podziemnych składających się głównie z kłączy występują głównie garbniki, flawonidy i pochodne kumaryny. Silne działanie przeciwutleniające wyciągów z kłączy wiązane jest między innymi z występującymi w nich katechinami (2-4). Wyciągi zarówno z kłączy jak i z liści wykazują działanie przeciwzapalne, przeciwbakteryjne i przeciwbiegunkowe. Stosowane są one w chorobach dróg moczowych i przewodu pokarmowego, a także jako środek podnoszący odporność organizmu (5-7).

Celem badań było zbadanie przeciwdrobnoustrojowej aktywności ekstraktu wodnego z kłączy bergonii grubolistnej.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły kłącza bergonii grubolistnej zebrane w kwietniu 2010 roku z plantacji na polu doświadczalnym Katedry Roślin Warzywnych i Leczniczych w Wilanowie. Przeprowadzona została periodyczna ekstrakcja surowca wodą destylowaną przy stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:5. Ekstrakcje prowadzono za pomocą półtechnicznego, prototypowego urządzenia do ekstrakcji i destylacji ziół 3EU01 przez 3 godz. w temp. $80^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$. Następnie ekstrakt zagęszczono na wyparce rotacyjnej (Rotavapor R-205, Büchi), w celu odparowania rozpuszczalnika. Zastosowano następujące temperatury: łaźni grzejnej 60°C , skroplin 40°C , wody chłodzącej 20°C . Powstały roztwór ekstraktu zamrożono, a następnie liofilizowano przez 72 godz. (Labconco FreeZone 2,5) i rozdrobniono. Ekstrakt do badań rozpuszczono w wodzie.

Materiał biologiczny stanowiły następujące szczepy bakterii: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Proteus mirabilis* ATCC 35659.

Minimalne stężenie hamujące MIC (ang. Minimal Inhibitory Concentration) ekstraktów wyznaczono metodą seryjnych makrorozcieńczeń w płynnym podłożu bulionowym *Mueller – Hinton* (BTL, Polska) (8). Ekstrakt zbadano w zakresie stężeń od 0,08 do 40 mg s.s/cm³. Do każdej próbówki wprowadzono 24 godz. hodowlę bakteryjną, uzyskując końcowe inokulum bakteryjne wynoszące około 5×10^5 jtk/cm³. Inkubacje prowadzono przez 16-20 godz. w temp. 37°C . Wartością MIC określono najmniejsze stężenie ekstraktu, przy którym nie zaobserwowano wizualnie wzrostu (zmętnienia podłoża) badanego szczepu bakterii, a jednocześnie poprzedzało stężenie, w którym wzrost był widoczny. Minimalne stężenie bakteriobójcze MBC (ang. Minimal Bactericidal Concentration) określono wybierając te rozcieńczenia ekstraktu, w których nie zaobserwowano wzrostu danego drobnoustroju, przenoszono na płytki *Petrie*go 0,1 cm³ z hodowli, a następnie zalewano podłożem *Mueller-Hinton* (BTL, Polska). Inkubację prowadzono przez 16-20 godz. w temp. 37°C . Wartością MBC określono stężenie ekstraktu, przy którym występuje zmniejszenie liczby żywych bakterii o 99,9%.

Ogólną zawartość garbników i fenolokwasów w kłączach bergenii oraz w ekstrakcie wodnym z tego surowca oznaczono spektrofotometrycznie zgodnie z metodą opisaną w Farmakopei Polskiej VI (9).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Ogólną zawartość garbników i fenolokwasów w suchych kłączach bergenii jak i w pochodzącym z nich ekstrakcie wodnym przedstawiono w tabeli I. W ekstrakcie zawartości frakcji fenolokwasowej była około 3-krotnie wyższa a frakcji garbnikowej 2-krotnie wyższa w porównaniu z zawartością tych związków w kłączach.

Tabela I. Ogólna zawartość fenolokwasów i garbników w kłączach bergenii grubolistnej i ekstrakcie wodnym z tego surowca

Table I. The content of phenolic acids and tannins in rhizomes of *Bergenia crassifolia* and in extract from this raw material

	Fenolokwasy	Garbniki
	(% ± SD)	
Surowiec roślinny z kłączy bergenii	3,03±0,56	3,85±0,05
Ekstrakt wodny z kłączy bergenii	10,83±0,64	6,18±0,17

Przeciwdrobnoustrojową aktywność wodnego ekstraktu z kłączy bergenii grubolistnej w odniesieniu do badanej grupy bakterii przedstawiono w tabeli II.

Tabela II. Minimalne stężenie hamujące (MIC) oraz minimalne stężenie bakteriobójcze (MBC) wodnego ekstraktu z kłączy *Bergenia crassifolia*

Table II. Minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) of water extracts from *Bergenia crassifolia* rhizomes

Szczep	Ekstrakt	
	MIC	MBC
	(mg s.s./cm ³)	
bakterie Gram (+)		
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0,63	1,25
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1,25	2,5
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	2,5	5
bakterie Gram (-)		
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	1,25	2,5

Ekstrakt wodny wykazywał silniejsze działanie przeciwbakteryjne względem bakterii Gram (+). Jego najwyższą aktywność przeciwbakteryjną stwierdzono w stosunku do bakterii *B. subtilis* ATCC 6633. Minimalne stężenie hamujące ekstraktu względem tej bakterii wynosiło 0,63 mg/cm³. Wysoką aktywność

bakteriostatyczną i bakteriobójczą ekstraktu odnotowano również względem bakterii *S. aureus* ATCC 25923; wartość MIC wynosiła 1,25 mg/cm³, a MBC równe było 2,5 mg/cm³. Ekstrakt słabiej hamował wzrost bakterii *E. faecalis* ATCC 29212.

Bakterie Gram (-) były znacznie oporniejsze na działanie wodnego ekstraktu z bergenii. Wyjątek stanowił *P. mirabilis* ATCC 35659, którego wartości MIC i MBC mieściły się w zakresie stężeń, jakie stosowano do hamowania wzrostu bakterii Gram (+). W przypadku *S. Enteritidis* ATCC 13076 i *E. coli* ATCC 25922 minimalne stężenia hamujące wzrost tych bakterii były dużo wyższe i wynosiły odpowiednio 5 mg/cm³ i 10 mg/cm³.

W dostępnej literaturze można znaleźć jedynie badania dotyczące przeciwdrobnoustrojowych właściwości etanolowego ekstraktu z kłączy bergenii grubolistnej przeprowadzone przez Kokoska i współprac. (10). Hamujące działanie tego ekstraktu stwierdzono w stosunku do bakterii: *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* oraz drożdży: *Candida albicans*.

Sinha i współprac. (11) sprawdzili aktywność przeciwbakteryjną metanolowego ekstraktu z kłączy innego gatunku bergenii – *Bergenia ciliata*. Ekstrakt silnie hamował wzrost Gram (+) bakterii: *S. aureus* NCTC 6571. Spośród bakterii Gram (-) najwrażliwsze na działanie ekstraktu okazały się: *E. coli* ATCC 10536 oraz *Shigella dysenteriae* NCTC 5.

WNIOSKI

1. Ekstrakty z kłączy bergenii odznaczały się aktywnością przeciwdrobnoustrojową względem wszystkich użytych w doświadczeniu bakterii.
2. Najsilniejsze działanie bakteriostatyczne i bakteriobójcze wodnego ekstraktu z kłączy bergenii odnotowano względem Gram (+) bakterii *Bacillus subtilis* ATCC 6633.
3. Spośród bakterii Gram (-) najbardziej wrażliwy na działanie ekstraktu był szczep *Proteus mirabilis* ATCC 35659.
4. Uzyskane wyniki wskazują, że ekstrakty z bergenii mogą być dobrej jakości biokonserwantami, wykorzystywanymi w utrwalaniu produktów spożywczych.

K. Kraśniewska, M. Gniewosz, K. Bączek, O. Kosakowska

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF EXTRACT FROM *BERGENIA CRASSIFOLIA* (L.) FRITSCH) RHIZOMES

Summary

In this study antimicrobial activity of water extract from *Bergenia crassifolia* rhizomes was determined. The minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) of this extract was investigated against bacteria: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Proteus mirabilis* ATCC 35659. The total content of tannins and

phenolic acids in rhizomes of *Bergenia crassifolia* and water extracts of this plant was also determined. Extract contained 3-fold higher phenolic acid and 2-fold higher tannin content than rhizomes of this plant. Extract showed antimicrobial activity against all bacteria used in the experiment. The results showed that water extracts of *Bergenia crassifolia* rhizomes had the strongest bacteriostatic and bactericidal activity against G(+) bacteria *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Moreover, extract efficiently inhibited the growth of G(-) bacteria *Proteus mirabilis* ATCC 35659. The water extract contained 3-fold higher phenolic acid and 2-fold higher tannin content than rhizomes of this plant.

PIŚMIENNICTWO

1. *Aniško T.*: When Perennials Bloom. Almanac for Planning and Planting. Timber Press, Portland, 2008; 36: 469. – 2. *Shilova I.V., Pisareva S.I., Krasnov E.A., Bruzhes M.A., Pyak A I.*: Antioxidant properties of *Bergenia crassifolia* extract. Pharmaceut. Chem. J., 2004; 40 (11): 620-623. – 3. *Kohlmünzer S.*: Farmakognozna. Podręcznik dla studentów farmacji, Wyd. PZWŁ, Warszawa, 2000; 253. – 4. *Ivanov S.A., Nomura K., Malfanov I.L., Sklyar I.V., Pritsyn L.R.*: Isolation of a novel catechin from *Bergenia* rhizomes that has pronounced lipase-inhibiting and antioxidative properties. Fitoterapia, 2011; 82: 212-218. – 5. *Popov S.V., Popova G.Yu., Nikolaeva S.Yu., Glolovchenko V.V., Ovodova R.G.*: Immunostimulating Activity of Pectic Polysaccharide from *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch. Phytotherap. Res., 2005; 19: 1052-1056. – 6. *Zhamsaranova S. D., Sedunova Y.G., Lebedeva S.N., Nikolayev S.M.*: Immunocorectical activity of dry extract from black (hibernated) leaves of *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch, Rastitel'nye resursy, 2001; 37 (4): 20-31. – 7. *Sokolov S. Ya.*: Phytotherapy and Phytopharmacology, MedInform, 2000. – 8. Clinical and Laboratory Standards Institute. 8th ed. CLSI document M07-A8, Wayne, PA, 2009. – 9. Farmakopea Polska VI, Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, Warszawa, 2002. – 10. *Kokoska L., Polesny Z., Rada V., Nepovim A., Vanek T.*: Screening of some Siberian medicinal plants for antimicrobial activity. J. Ethnopharmacol., 2002; 82: 51-53.
11. *Sinha S., Murugesan T., Maiti K., Gayen J. R., Pal B., Pal M., Saha B. P.*: Antibacterial activity of *Bergenia ciliata* rhizome. Fitoterapia, 2001; 72: 550-552.

Adres: 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159c.

Elżbieta Hać-Szymańczuk, Edyta Lipińska, Stanisław Błażej, Katarzyna Bieniak

OCENA AKTYWNOŚCI PRZECIWBAKTERYJNEJ SZAŁWII LEKARSKIEJ (*SALVIA OFFICINALIS* L.)*

Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności
Wydział Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
Kierownik Zakładu: dr hab. S. Błażej, prof. nadzw.

*Tematem niniejszej pracy było zbadanie aktywności przeciwbakteryjnej olejku eterycznego wyekstrahowanego z liści oraz olejku handlowego i wyciągu wodnego z suszonej szalwii lekarskiej (*Salvia officinalis* L.) w stosunku do wybranych szczepów bakterii. Aktywność przeciwbakteryjną olejków oraz ekstraktu określano za pomocą dyfuzyjnej metody cylinderkowej. Efektywność działania była związana z formą użytej szalwii oraz zależała od badanego szczepu bakterii. Najszerszym spektrum oraz największą skutecznością przeciwdrobnoustrojowego działania charakteryzował się olejek handlowy z szalwii.*

Hasła kluczowe: aktywność przeciwbakteryjna, *Salvia officinalis*, zahamowanie wzrostu.

Key words: antibacterial activity, *Salvia officinalis*, inhibitory effect.

Szałwia jest rośliną należącą do rodziny *Lamiaceae* i pochodzi z regionu basenu Morza Śródziemnego. Uprawiana jest także w wielu krajach Europy Środkowej (również Polsce) oraz w Ameryce Północnej (1). Znana jest głównie z właściwości leczniczych ale jest również cenioną rośliną przyprawową.

Szałwia wykazuje działanie przeciwbakteryjne, fungi- i wirusostatyczne. Dowiedziono (2, 3), że jest aktywna wobec bakterii gramododatnich (*Staphylococcus epidermidis*), natomiast bakterie gramujemne (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) oraz patogenne szczepy grzybów (*Candida albicans*) nie są wrażliwe na jej działanie. Shirazini i współpr. (4) przeprowadzili badania, w których wykazali działanie przeciwbakteryjne szalwii wobec bakterii *Proteus vulgaris*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei* oraz *Salmonella* Typhi. Siła jej działania przeciwbakteryjnego jest porównywalna z działaniem niektórych antybiotyków. Stosowanie wyciągów oraz olejków eterycznych z szalwii lekarskiej staje się obecnie alternatywą w stosunku do chemicznych środków konserwujących stosowanych w przemyśle spożywczym.

* Badanie wykonane w ramach projektu badawczego własnego nr N N312 257040.

Celem pracy było określenie aktywności przeciwbakteryjnej olejków eterycznych (handlowego oraz wyekstrahowanego ze świeżych liści) oraz wyciągu wodnego z suszonej szalwii w stosunku do wybranych szczepów bakterii, które mogą występować w żywności pochodzenia zwierzęcego.

MATERIAŁ I METODY

Przedmiotem badań był handlowy olejek eteryczny (n=3), olejek eteryczny wyekstrahowany ze świeżych liści szalwii (n=3) oraz wyciąg wodny z suszonej szalwii lekarskiej (*Salvia officinalis*).

W celu ekstrakcji olejku eterycznego, świeże liście szalwii rozdrabniano, zalewano wodą i poddawano destylacji w aparacie do otrzymywania olejków eterycznych według Derynga firmy Simax (5). Ochłodzony destylat czterokrotnie ekstrahowano chlorkiem metylenu w rozdzielaczu, a następnie usuwano wodę, dodając bezwodny siarczan magnezu. Część rozpuszczalnika odparowywano w wyparce laboratoryjnej z regulowanym ciśnieniem firmy Büchi (ciśnienie 540-560 hPa, temperatura 30°C). Przy sporządzaniu wyciągu wodnego z szalwii, susz handlowy umieszczano w lnianym woreczku, który przenoszono do naczynia zawierającego zimną wodę. Całość doprowadzano do wrzenia. Po 24 h przechowywania wyciągu w temperaturze 4°C usuwano woreczek z suszem. Otrzymany wyciąg zagęszczano do masy użytego surowca w wyparce firmy Büchi (ciśnienie 50 hPa, temperatura 30°C) (6). W celu przygotowania do oznaczeń olejku handlowego (Dr Beta, Pollena Aroma), rozcieńczano go w stosunku 1:1 z heksanem.

Do oznaczenia właściwości przeciwbakteryjnych szalwii wykorzystano szczepy bakterii, pochodzące z Kolekcji Czystych Kultur Zakładu Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności: *Micrococcus* sp., *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Tetracoccus* sp., *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Proteus vulgaris* 458, *Proteus mirabilis* 180, *Escherichia coli* ATCC 25922 oraz *Klebsiella pneumoniae* 196.

Wrażliwość bakterii na działanie olejków eterycznych oraz wyciągu wodnego z szalwii lekarskiej określano metodą stosowaną do oznaczania przeciwdrobnoustrojowej aktywności antybiotyków, którą dostosowano do potrzeb eksperymentu przeprowadzanego w trzydziestu powtórzeniach dla każdego szczepu bakterii (7). Do badań wykorzystywano 24-godzinne hodowle bakterii w płynnym bulionie wzbogaconym (temperatura 37°C). Po inkubacji dokonywano pomiaru gęstości optycznej zawiesiny drobnoustrojów przy użyciu spektrofotometru Spectronic®20 GENESYS przy długości fali 550 nm lub w przypadku szczepów patogennych używając densimatu firmy BioMerieux. Następnie jałowe płytki Petriego szczepiono wgłębnie 0,1 ml zawiesiny bakterii, po czym zalewano ok. 20 ml upłynnionego bulionu z agarem. Płytki pozostawiano przez 30 minut w temperaturze pokojowej w celu zestalenia pożywki, po czym podsuszano je pod lampą POLON z nawiewem przez 30 minut. Na powierzchni podłoża, ustawiano

trzy jałowe cylinderki ze stali nierdzewnej o średnicy zewnętrznej 8 mm i wewnętrznej 7 mm. Do dwóch cylinderków wprowadzano 0,1 ml badanego olejku lub wyciągu, natomiast trzeci napełniano taką samą objętością rozpuszczalnika, użytego dla danego olejku (chlorek metylenu lub heksan) lub wyciągu (woda). Przygotowane w ten sposób płytki termostatowano przez 24 h w temperaturze 37°C. Następnie sprawdzano obecność lub brak stref zahamowania wzrostu wokół cylinderków. Pomiaru średnicy uzyskanych stref zahamowania wzrostu dokonywano łącznie ze średnicą cylinderka. Wyniki uzyskane podczas pomiaru strefy inhibicji podawano po odjęciu średnicy wewnętrznej cylinderka. Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem programu STATGRAPHICS Plus, stosując jednoczynnikową analizę wariancji oraz test *Tukey'a* HSD.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wielkość stref zahamowania wzrostu wybranych szczepów bakterii gramdodatnich i gramujemnych, wynikającą z wynikiem działania olejków eterycznych oraz wyciągu wodnego z szałwii lekarskiej zestawiono w tab. I oraz II.

Aktywnością przeciwdrobnoustrojową wobec szczepu bakterii *Bacillus subtilis* charakteryzowały się zarówno olejki, jak i ekstrakt wodny. Istotnie największe ($\alpha=0,05$) zahamowanie wzrostu szczepu *Bacillus subtilis* odnotowano w przypadku zastosowania olejku handlowego (tab. I), natomiast najmniejsze – stosując olejek wyekstrahowany z liści świeżej szałwii. Różnice w wielkości stref zahamowania wzrostu tych bakterii mogły być spowodowane składem chemicznym badanych ekstraktów. *Sivropouolu* i współpr. (8) podają, że najsilniejsze działanie przeciwdrobnoustrojowe spośród związków zawartych w szałwii lekarskiej wobec bakterii *Bacillus subtilis* wykazuje α -tujon oraz 1,8-cyneol. *Longaray Delamare* i współpr. (9) do tych związków dodają jeszcze kamforę, borneol i β -pinen.

Szczepy bakterii *Staphylococcus aureus* i *Tetracoccus* sp. były wrażliwe jedynie na działanie olejku handlowego, natomiast *Micrococcus* sp. - również olejku ze świeżej szałwii, przy czym strefy zahamowania wzrostu były w tym przypadku istotnie ($\alpha=0,05$) mniejsze w porównaniu z uzyskanymi dla olejku handlowego (tab. I). *Wolski* i współpr. (10) porównując aktywność olejków eterycznych oraz preparatów galenowych uzyskanych z liści szałwii lekarskiej, stwierdzili że wzrost bakterii *Staphylococcus aureus* był skutecznie hamowany przez działanie olejku eterycznego, a jego minimalne stężenie hamujące wzrost (MIC) wynosiło 2,5 mg/ml. Z kolei *Marino* i współpr. (11) wykazali, że szałwia jest szczególnie aktywna wobec bakterii gramdodatnich i olejek w stężeniu 800 mg/kg skutecznie hamował wzrost *Micrococcus* sp. Wydaje się, że bakterie *Tetracoccus* sp. są wrażliwe jedynie na działanie lotnych składników szałwii w dużym stężeniu (olejek handlowy).

Tabela I. Wpływ działania olejków oraz wyciągu z szalwii lekarskiej (*Salvia officinalis*) na wielkość stref zahamowania wzrostu wybranych bakterii gramododatnich (wartość średnia i odchylenie standardowe) [mm]

Table I. Effect of the sage (*Salvia officinalis*) essential oils and water extract on the size of inhibition zones of selected gram-positive bacteria (mean value and standard deviation) [mm]

Rodzaj wyciągu	Wielkość stref zahamowania wzrostu dla wybranych szczepów bakterii [mm]			
	<i>Bacillus subtilis</i> (n=30)	<i>Staphylococcus aureus</i> (n=30)	<i>Micrococcus sp.</i> (n=30)	<i>Tetracoccus sp.</i> (n=30)
Olejek eteryczny z liści świeżej szalwii (n=3)	1,2 ^a ± 0,6	0 ^a	3,5 ^b ± 1,2	0 ^a
Wyciąg wodny z suszonej szalwii (n=3)	4,3 ^b ± 1,4	0 ^a	0 ^a	0 ^a
Olejek handlowy dr Beta (n=3)	5,2 ^b ± 3,2	4,0 ^b ± 2,4	5,2 ^c ± 2,0	3,8 ^b ± 2,4

a, b, c - różne indeksy przy wartościach w tej samej kolumnie oznaczają statystycznie istotne różnice między tymi wartościami dla $\alpha=0,05$.

a, b, c – value from the same column, with different superscripts, are significantly different at $\alpha=0.05$.

Tabela II. Wpływ działania olejków oraz wyciągu z szalwii lekarskiej (*Salvia officinalis*) na wielkość stref zahamowania wzrostu wybranych bakterii gramujemnych (wartość średnia i odchylenie standardowe) [mm]

Table II. Effect of the sage (*Salvia officinalis*) essential oils and water extract on the size of inhibition zones of selected gram-negative bacteria (mean value and standard deviation) [mm]

Rodzaj wyciągu	Wielkość stref zahamowania wzrostu dla wybranych szczepów bakterii [mm]			
	<i>Escherichia coli</i> (n=30)	<i>Proteus vulgaris</i> (n=30)	<i>Proteus mirabilis</i> (n=30)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=30)
Olejek eteryczny z liści świeżej szalwii (n=3)	0 ^a	2,3 ^a ± 0,7	3,5 ^b ± 1,5	0 ^a
Wyciąg wodny z suszonej szalwii (n=3)	2,7 ^b ± 0,6	2,8 ^b ± 0,9	0 ^a	0 ^a
Olejek handlowy dr Beta (n=3)	3,8 ^c ± 1,4	4,2 ^c ± 1,8	3,4 ^b ± 1,5	0 ^a

a, b, c - różne indeksy przy wartościach w tej samej kolumnie oznaczają statystycznie istotne różnice między tymi wartościami dla $\alpha=0,05$.

a, b, c – value from the same column, with different superscripts, are significantly different at $\alpha=0.05$.

Olejki wyekstrahowane ze świeżej szalwii okazały się nieaktywne wobec bakterii *Escherichia coli*, natomiast działanie wyciągu wodnego oraz olejku handlowego z szalwii wywołało istotne ($\alpha=0,05$) zahamowanie wzrostu tego gatunku (tab. II). Hać-Szymańczuk i współpr. (12) w badaniach dotyczących wpływu rozmarynu na *E. coli* oznaczyli jego aktywne działanie jedynie w przypadku olejku ze świeżych liści. Natomiast w literaturze znajduje się wiele doniesień dotyczących oporności bakterii *E. coli* wobec różnych odmian szalwii. Kelen i Tepe (13) podają, że *Salvia aucheri var aucheri*, *Salvia aramiensis* oraz *Salvia pilifera* nie zawierają związków czynnych, które hamowałyby wzrost tych bakterii.

Właściwości bakteriostatyczne wobec bakterii *Proteus vulgaris* (tab. II) stwierdzono w przypadku wszystkich stosowanych w pracy ekstraktów szałwii, przy czym największe strefy zahamowania zanotowano w przypadku olejku handlowego. Podobne wyniki uzyskali *Buchwald* i współpr. (14), badając właściwości przeciwdrobnoustrojowe wyciągu etanolowego z korzeni szałwii, który skutecznie hamował wzrost bakterii *Proteus vulgaris*. Autorzy ci (14) uzasadniają te właściwości obecnością w wyciągu diterpenów oraz kwasów fenolowych.

Bakterie *Proteus mirabilis* okazały się niewrażliwe jedynie na działanie wyciągu wodnego z szałwii, natomiast *Klebsiella pneumoniae* na działanie wszystkich ekstraktów szałwii (tab. II). Wydaje się, że cechy gatunkowe szałwii używanej w badaniach mogły mieć wpływ na wynik oznaczenia, ponieważ *Kivrak* i współpr. (15) podają, że olejki uzyskane z *Salvia potentillifolia* hamowały wzrost bakterii *Klebsiella pneumoniae* już przy niskim stężeniu (25 µg/ml), czego nie zaobserwowano w niniejszym doświadczeniu.

WNIOSKI

1. Olejki wyekstrahowane z liści świeżej szałwii, olejek handlowy oraz wyciąg wodny z suszu szałwii wykazały się aktywnością przeciwdrobnoustrojową wobec większości badanych szczepów. Świadczy to, że badane wyciągi były źródłem substancji hamujących wzrost drobnoustrojów.

2. W przypadku większości szczepów wrażliwych na działanie wyciągów z szałwii, najszersze spektrum działania oraz największą skuteczność posiadał olejek handlowy.

3. Wrażliwość bakterii gramdodatnich na działanie szałwii była porównywalna z wrażliwością bakterii gramujemnych.

4. Badane wyciągi z szałwii nie hamowały wzrostu patogennego szczepu *Klebsiella pneumoniae*, co mogło świadczyć o jego oporności na działanie składników roślinnych zawartych w badanej odmianie szałwii (*Salvia officinalis*).

E. Hać-Szymańczuk, E. Lipińska, St. Błazejak, K. Bieniak

ESTIMATION OF THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THE SAGE (*SALVIA OFFICINALIS*)

Summary

The aim of the work was to test antibacterial activity of sage (*Salvia officinalis*) essential oils and water extract. In the present study, sage was investigated for activity against *Micrococcus* sp., *Bacillus subtilis*, *Tetracoccus* sp., *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. The antibacterial activities of the sage were tested by the cylinder diffusion method. The efficiency of the sage was linked to the type and depended on the bacteria strain too. The commercial oil was characterized by broad spectrum and the most antibacterial efficiency.

PIŚMIENNICTWO

1. *Raghavan S. Uhl.*: Handbook of spices, seasoning and flavourings. CRC Press, Boca Raton, 2006; 96-150.- 2. *Kuźma L., Różalski M., Walencka E., Różalska B., Wysokińska H.*: Antimicrobial activity of diterpenoids from hairy roots of *Salvia sclarea* L.: Salvipisone as a potential anti-biofilm agent active against antibiotic resistant Staphylococci. *Phytomed.*, 2005; 14 (1): 31-35.- 3. *Farcasanu I.O., Opera E.*: Ethanol extracts of *Salvia officinalis* exhibit antifungal properties against *Saccharomyces cerevisiae* cells. *An. Univ. Bucuresti Chim.*, 2006; 15 (1); 51-55.- 4. *Shirazini M.H., Ranjabar R., Eshraghi S., Amin G., Seyed Nouri M., Bazzaz N.*: Inhibitory effects of sage extract on the growth of enteric bacteria. *Pakistan. J. Biol. Sci.*, 2008; 11 (3), 487-489.- 5. *Bialecka-Florjańczyk W., Włostowska J.*: Ćwiczenia laboratoryjne z chemii organicznej. Wyd. SGGW Warszawa, 2007; 34-36.- 6. *Jankiewicz L., Słowiński M.*: Technologia produkcji wędlin, część 2: Wędzonki parzone. Polskie Wyd. Fachowe, Warszawa, 1999; 69-70.- 7. *Praca zbiorowa*: Farmakopea Polska IV. Wyd. PZWL, Warszawa, 1970; II: 54-58.- 8. *Sivropoulou A., Nikolaou C., Papanikolaou E., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M.*: Antimicrobial, cytotoxic and antiviral activities of *Salvia fruticosa* essential oil. *J. Agric. Food Chem.*, 1997; 45 (8); 3197-3201.- 9. *Longaray Delamare A.P., Moschen-Pistorello I.T., Artico L., Atti Serafini L., Echeverrigaray S.*: Antibacterial activity of the essentials oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food Chem.*, 2007; 100; 603-608.- 10. *Wolski T., Holderna-Kędzia E., Ludwiczak A.*: Ocena składu chemicznego oraz aktywności przeciwdrobnoustrojowej olejków eterycznych i preparatów galenowych otrzymanych z liści rozmarynu i szałwii lekarskiej. *Postępy Fitoter.*, 2001; (4); 6-11.
11. *Marino M., Bersani C., Comi G.*: Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essentials oil from *Lamiaceae* and *Compositae*. *Int. J. Food Mikrob.*, 2001; 67 (4); 187-195.- 12. *Hać-Szymańczuk E., Roman J., Bednarczyk K.*: Ocena aktywności przeciwbakteryjnej olejku eterycznego, wyciągu wodnego oraz preparatu handlowego z rozmarynu lekarskiego (*Rosmarinus officinalis*). *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009; 42 (3): 979-984.- 13. *Kelen M., Tepe B.*: Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essentials oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technol.*, 2008; 99 (10); 4096-4100.- 14. *Buchwald W., Holderna-Kędzia E., Mścisz A.*: Aktywność mikrobiologiczna wyciągu etanolowego z korzeni szałwii czerwonokorzeniowej (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) uprawianej w Polsce. *Postępy Fitoter.*, 2007; 3: 133-135.- 15. *Kivrak I., Duru M.E., Ozturk M., Mercan N., Harmandar M., Topcu G.*: Antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial constituents from the essential oil and ethanol extract of *Salvia potentillifolia*. *Food Chem.*, 2009; 116; 470-479.

Adres: 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159c.

Jadwiga Stankiewicz

OCENA MOŻLIWOŚCI WYSTĘPOWANIA *CRONOBACTER SAKAZAKII* W GOTOWYCH DANIACH DLA NIEMOWLĄT

Katedra Towaroznawstwa i Zarządzania Jakością
Akademia Morska w Gdyni
Kierownik: prof. dr hab. inż. P. Przybyłowski

Zgodnie z Rozporządzeniem 365/2010 Komisji WE z 28 kwietnia 2010 żywność przeznaczona dla niemowląt do 6. miesiąca życia powinna być wolna od Cronobacter sakazakii. Obecność tej pałeczki w żywności dla niemowląt stanowi istotne zagrożenie ze względu na wywoływanie posocznicy, zapalenia opon mózgowych, a także martwiczego zapalenia jelit. W pracy oceniono możliwość występowania Cronobacter sakazakii w gotowych daniach zawierających w swoim składzie mleko w proszku. Przebadano łącznie 40 próbek zup, drugich dań i deserów pochodzących z sieci handlowych. Wszystkie badane próbki były wolne od Cronobacter sakazakii.

Hasła kluczowe: *Cronobacter sakazakii*, żywność dla niemowląt.
Key words: *Cronobacter sakazakii*, infant food.

Wraz z rozwojem społeczno-gospodarczym ulega zmianie sposób i styl żywienia najmłodszych konsumentów, do których należy grupa niemowląt do 6. miesiąca życia. Najlepszym i jednocześnie preferowanym zarówno przez pediatrów jak i żywieniowców sposobem żywienia niemowląt jest karmienie naturalne tj. mlekiem matki (1). Jednakże rodzice i opiekunowie dzieci chcąc szybko powrócić na drogę kariery zawodowej często sięgają po gotowe produkty dla dzieci, również tych najmłodszych. Oferta rynkowa zarówno mleka jak i gotowych dań jest bardzo szeroka. Ten segment przetwórstwa żywności rozwija się prężnie proponując coraz szerszą gamę produktów dla niemowląt (2). Ta grupa produktów należy do żywności specjalnego przeznaczenia żywieniowego i pod względem wymagań mikrobiologicznych podlega wymaganiom zawartym w Rozporządzeniu 365/2010 Komisji WE z 28 kwietnia 2010 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych. Dokument ten jako kryterium bezpieczeństwa określa nieobecność między innymi *Cronobacter sakazakii* w 10 g produktu w każdej z 30 badanych próbek (3). Pałeczka *C. sakazakii* (do 2009 *Enterobacter sakazakii*) należy do rodziny *Enterobacteriaceae* i występuje w środowisku naturalnym w wodzie, glebie, ściekach. Izolowana była również z roślin, m.in. traw, bananów i sałaty, a także z pyłu pochodzącego z domowych odkurzaczy (4-7). Ten

nieprzetwarzający mikroorganizm ma zdolność przetrwania zarówno w środowisku kwaśnym jak i alkalicznym, wykazuje znaczną ciepłoporność i odporność na stres osmotyczny, rośnie zarówno w warunkach tlenowych jak i beztlenowych (4, 5, 7). Pałeczka ta była izolowana w ośrodkach zamkniętej opieki medycznej, na oddziałach położniczych (6, 8, 9). *Cronobacter sakazakii* może stanowić przyczynę chorób w każdej grupie wiekowej, jednakże najbardziej narażone są niemowlęta do 1. roku życia oraz osoby starsze o obniżonej odporności immunologicznej (10). Wśród niemowląt grupę największego ryzyka stanowią noworodki z niską wagą urodzeniową oraz obniżoną odpornością. Obecność tej patogennej pałeczki w żywności dla niemowląt może być przyczyną między innymi posocznicy, zakażeń ośrodkowego układu nerwowego prowadzącego do zapalenia opon mózgowych oraz martwiczego zapalenia jelit. Liczne źródła literaturowe podają, iż śmiertelność spowodowana obecnością *Cronobacter sakazakii* jest bardzo wysoka i wynosi nawet 40-80% (11).

Celem pracy była ocena możliwości występowania *Cronobacter sakazakii* w gotowych daniach przeznaczonych dla niemowląt.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły gotowe dania w słoiczkach oraz opakowaniach w formie kartonika z laminatu wielowarstwowego przeznaczone dla niemowląt. Wszystkie badane produkty pochodziły z placówek handlowych Trójmiasta. Analizie poddano łącznie 40 próbek dań wyprodukowanych przez 5 różnych producentów żywności dla niemowląt. Materiał badawczy obejmował desery (n=31), drugie dania (n=7) oraz zupki (n=2), w tym produkty do bezpośredniego spożycia (n=31) oraz wymagające obróbki termicznej (n=9). Badania obecności *Cronobacter sakazakii* w próbkach wykonano zgodnie z normą ISO/TS 22964:2006. Metodą potwierdzającą obecność tej pałeczki był Real-Time PCR, przeprowadzony szybkimi testami w systemie BAX Q7[®] pozwalający na ilościowe oznaczanie liczby drobnoustrojów w badanej próbce. System ten umożliwia wykrywanie jedynie ściśle określonych fragmentów DNA oznaczanego mikroorganizmu. Analizy zostały przeprowadzone przez autoryzowane laboratorium firmy Hamilton w Gdyni.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W pracy przebadano 40 próbek dań gotowych produktów dla niemowląt. Wszystkie poddane analizie próbki zawierały w swoim składzie mleko w proszku, natomiast jego ilość była bardzo zróżnicowana: od 5,7% do 46%. W 15% badanych produktów na opakowaniu określono jedynie występowanie mleka w proszku bez podania ilości tego składnika. Charakterystykę badanego materiału przedstawiono w tabeli I.

Tabela I. Charakterystyka badanego materiału

Table I. The profile of the tested material

Producent	Rodzaj gotowego dania dla niemowląt n = liczba próbek (% udział)		
	Deser n=31	2. danie n=7	Zupa n=2
A	11 (36,67%)	2 (28,57%)	1 (50%)
B	8 (25,81%)	-	-
C	4 (12,9%)	3 (42,86%)	-
D	5 (16,13%)	2 (28,57%)	1 (50%)
E	3 (9,68%)	-	-

W żadnej z badanych próbek produktów rynkowych nie stwierdzono obecności *Cronobacter sakazakii*. Podobnie *Stasiak-Różańska* i współpr. potwierdzają brak zanieczyszczeń tą pałeczką żywności dla niemowląt (12). Badania w kierunku obecności *C. sakazakii* przeprowadzone przez *Ścieżyńską* i współpr. również wykazały nieobecność tego patogenu w 80 próbkach preparatów do początkowego żywienia niemowląt do 6. m-ca życia i w 45 próbkach kaszek dla dzieci (13). Natomiast *Witthuhn* i współpr. analizując 22 próbki żywności przeznaczonej dla niemowląt techniką PCR stwierdzili obecność tych pałeczek w 4 z nich (14). Podobnie *Iversen* i współpr. wyizolowali ten mikroorganizm z 2 próbek wśród 82 przebadanych (15). W 2004 r we Francji stwierdzono 2 przypadki śmierci wśród 9 niemowląt, którym podawano preparat zastępujący mleko w proszku zakażony *C. sakazakii* (16). Natomiast w danych opublikowanych w raporcie FAO/WHO z 2004 r opisano 9 udokumentowanych przypadków zachorowań dorosłych, u których stwierdzono wcześniej niskie wydzielanie kwasu żołądkowego oraz brak naturalnej flory jelitowej (17). Wobec powyższego istotnym jest przestrzeganie przez producentów żywności specjalnego przeznaczenia żywieniowego parametrów kontroli czystości mikrobiologicznej tych produktów. Nie mniej ważnym aspektem jest odpowiedni stan wiedzy i świadomości rodziców i opiekunów niemowląt z uwagi na możliwość infekcji *C. sakazakii* w trakcie przygotowania pokarmu. Pałeczka ta ma zdolność tworzenia biofilmów na butelkach i przedmiotach wykorzystywanych do przygotowywania posiłków dla niemowląt i małych dzieci (9, 15). Zjawisko to jest szczególnie niebezpieczne, podczas gdy, wcześniej przygotowywany pokarm jest przechowywany przed podaniem dziecku.

W Polsce dotąd nie odnotowano przypadku zachorowania związanego z zakażeniem *C. sakazakii*, istotnym jest jednak, że badania w tym kierunku nie były wykonywane. Zasadne jest zatem prowadzenie badań ukierunkowanych na ocenę ryzyka zakażenia mikrobiologicznego żywności przeznaczonej dla niemowląt, jak również nieustannego monitoringu stanu higieny procesów technologicznych w wytwarzaniu tego typu żywności.

WNIOSEK

1. W żadnej z badanych próbek gotowych dań dla niemowląt nie stwierdzono obecności *Cronobacter sakazakii*.

J. Stankiewicz

AN ASSESSMENT OF THE LIKELIHOOD OF PRESENCE
OF *CRONOBACTER SAKAZAKII* IN READY MEALS FOR INFANTS

Summary

In accordance with European Commission regulation No 365/2010 of 28 April 2010, foodstuffs destined for infants up to six month of age ought to be free from *Cronobacter sakazakii*. The mentioned microbe must be absent in a tested sample of 10 grams. *Cronobacter sakazakii* is a Gram-negative, motile, non-sporing rod. Its presence in food destined for infants poses a significant threat as the bacteria can engender sepsis, meningitis or necrotising enterocolitis. According to numerous literary sources the death rate directly linked to the presence of *cronobacter sakazakii* is extremely high and can amount to figures between 40 and 80%.

The aim of this research was to assess the presence of *Cronobacter sakazakii* in ready meals for infants containing powdered milk. The analyzed material consisted of 40 samples of ready meals, 77.5% of which were desserts, 17.5% were main meals while 5% of the samples were soups. The tested samples were obtained from products manufactured by five different brands specializing in infant food, which are widely available at commercial outlets. The tests were carried out in July and August of 2009 in accordance to ISO/TS 22964:2006. PCR, carried out in fast tests in BAX Q7 system for molecular detection of pathogens in food, was applied as a marking method of the size of the *Cronobacter sakazakii* population within the tested samples.

None of the tested samples contained *Cronobacter sakazakii*.

PIŚMIENNICTWO

1. Socha J.: Żywnienie a rozwój dziecka w pierwszym roku życia, *Nowa Pediatría*, 2002; 2: 96-102.-
2. Nemyska M.: Żywność dla dzieci. Hurt i Detal, 2009; 5 (39): 20-22.- 3. Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 365/2010 z dnia 28 kwietnia 2010 r. zmieniające rozporządzenie Nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych.- 4. Michalska A., Gospodarek E.: Pałeczki *Enterobacter spp.* – Taksonomia, charakterystyka, czynniki wirulencji i metody identyfikacji, *Postępy mikrobiol.*, 2007; 46 (1): 39-47.- 5. Michalska A., Gospodarek E.: Pałeczki *Enterobacter spp.* – zakażenia, lekowrażliwość i mechanizmy oporności na antybiotyki, *Postępy mikrobiol.*, 2007; 46 (1): 49-58.- 6. Hunter C., J., Petrosyan M., Ford H. R., Prasadarao N.V.: *Enterobacter sakazakii*: an emerging pathogen in infants and neonates. *Surg. Infect. (Larchmt)*, 2008; 9 (5): 533-539.- 7. Jaradat Z.W., Ababneh Q.O., Saadoun I.M., Samara N.A., Abrar M., Rashdan A.M.: Isolation of *Cronobacter spp.* (formerly *Enterobacter sakazakii*) from infant food, herbs and environmental samples and the subsequent identification and confirmation of the isolates using biochemical, chromogenic assays, PCR and 16S rRNA sequencing, *BMC Microbiology*, 2009; 9: 225.- 8. Fiore A., Casale M., Aureli P.: *Enterobacter sakazakii*: epidemiology, clinical presentation, prevention and control, *Ann. Ist. Super. Sanita*, 2008; 44: 275-280.- 9. Palcich G., Gillio Cde M., Aragon-Alegro L.C., Pagotto F.J., Faber J.M., Landgraf M., Destro M.T.: *Enterobacter sakazakii* in dried infant formulas and milk kitchens of maternity wards in São Paulo Brasil, *J. Food Prot.*, 2009; 72: 37-42. – 10. Lai K.K.: *Enrerobacter sakazakii* infections among neonates, infants, children, and adults. Case reports and a review of the literature. *Medicine (Baltimore)*, 2001; 80: 113-122.

11. Korpysa-Dzirba W., Rola J.G., Osek J.: *Enterobacter sakazakii* – zagrożenie mikrobiologiczne w żywności, Med. Wet, 2007; 63 (11): 1277-1280. – 12. Stasiak-Róžańska L. Garbowska M., Berthold A., Molska I., Cieplewska-Janus J.: Jakość mikrobiologiczna preparatów do żywienia niemowląt i małych dzieci ze szczególnym uwzględnieniem *Enterobacteriaceae* i *E. sakazakii*, Med. Wet., 2010; 66 (9): 622-625. – 13. Ścieżyńska H., Górecka K., Grochowska A., Pawłowska K., Windyga B., Mąka L., Karłowski K.: Ocena narażenia na *Cronobacter sakazakii* w preparatach do początkowego żywienia niemowląt w Polsce, Bromat. Chem. Toksykol., 2010; 3: 266-269.- 14. Witthuht R.C., Kemp F., Britz T.B.: Isolation and PCR detection of *Enterobacter sakazakii* in South African food product, specifically infant formula milks, World J. Microbiol. Biotechnol., 2007; 23: 151-157.- 15. Iversen C., Forsythe S.: Risk profile of *Enterobacter sakazakii*, an emergent pathogen associated with infant milk formula, Trends Food Sci. Tech., 2003; 14: 443-454. – 16. Coignard B., Vaillant V., Vincent J.P., Leflèche A., Mariani-Kurkdijan P., Bernet C., L'Hériteau F., Sénéchal H., Grimont P., Bingen E., Desenclos J.C.: Infections sévères à *Enterobacter sakazakii* chez des nouveau-nés ayant consommé une préparation en poudre pour nourrissons, Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire, 2004; 2-3: 10-13.- 17. *Enterobacter sakazakii* and other microorganisms in powdered infant formula: Mikrobiological Risk Assessment series 6, WHO/FAO, 2004.

Adres: 81-616 Gdynia, ul. Morska 81-87.

Elżbieta Maćkiw¹⁾, Dorota Korsak^{1,2)}, Katarzyna Tomczuk¹⁾, Katarzyna Stoś¹⁾

OCENA STOPNIA KONTAMINACJI BAKTERIAMI *CAMPYLOBACTER* SPP. PRODUKTÓW DROBIARSKICH DOSTĘPNYCH W HANDLU DETALICZNYM

¹⁾ Pracownia Mikrobiologii, Zakład Bezpieczeństwa Żywności,
Instytut Żywności i Żywienia w Warszawie
Kierownik: dr K. Stoś

²⁾ Zakład Mikrobiologii Stosowanej, Instytut Mikrobiologii,
Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski
Kierownik: prof. dr hab. J. Bielecki

*W Polsce w 2009 roku przeprowadzono badania monitoringowe w kierunku wykrywania obecności termotolerancyjnych bakterii z rodzaju *Campylobacter* zarówno w surowym mięsie drobiowym (piersi, mięso mielone, elementy tuszek- skrzydelka, nogi), jak również w podrobach drobiowych (wątróbka, żołądki, serca). W ramach przeprowadzonych badań przebadano łącznie 658 próbek żywności, w tym 329 mięsa drobiowego i 329 podrobów. W 352 próbkach stwierdzono obecność bakterii z rodzaju *Campylobacter*, co stanowiło 53,5% wszystkich przebadanych próbek. W mięsie drobiowym stwierdzono wyższy poziom kontaminacji pałeczkami *Campylobacter* spp. niż w podrobach drobiowych. Najczęściej izolowanym gatunkiem był *C. jejuni* - jego obecność stwierdzano w 172 próbach (48,9%). *C. coli* wyizolowano z 67 próbek (19,0%).*

Hasła kluczowe: monitoring, mięso drobiowe, podroby drobiowe, *Campylobacter* spp.

Key words: monitoring, poultry meat, poultry giblets, *Campylobacter* spp.

Zakażenia bakteriami z rodzaju *Campylobacter* u ludzi stanowią poważny problem epidemiologiczny. W krajach Unii Europejskiej w 2008 roku kamylobakterioza była najczęściej występującą chorobą odzwierzęcą u ludzi. W roku tym zarejestrowano i potwierdzono 190 566 przypadków (1). Do zachorowania na kamylobakteriozę dochodzi w wyniku spożycia wraz z pokarmem żywych komórek *Campylobacter* spp., głównie *C. jejuni* (90-95 %), rzadziej *C. coli* (5-10%) (2). Pałeczki *Campylobacter* spp. stanowią naturalną florę jelitową zwierząt hodowlanych i dzikich, m.in. drobiu. Szacuje się, że 50-70% przypadków kamylobakteriozy wywołanych jest spożyciem zanieczyszczonych tymi bakteriami produktów drobiarskich (3). Zwiększenie produkcji szybko rozwijającego się przemysłu drobiarskiego, a także wzrost konsumpcji drobiu może

przyczyniać się do wzrostu zakażeń pokarmowych wywoływanych przez bakterie *Campylobacter* spp. u ludzi. Spożycie mięsa drobiowego w Polsce, w przeliczeniu na jednego mieszkańca, w roku 2000 wynosiło 14 kg natomiast w roku 2008 wzrosło do 24,1 kg (4).

Celem badań monitoringowych była ocena stopnia kontaminacji pałeczkami *Campylobacter* spp. żywności pochodzenia zwierzęcego, w tym mięsa drobiowego i podrobów drobiowych.

MATERIAŁ I METODY

Badania monitoringowe przeprowadzano w laboratoriach 16 Wojewódzkich Stacji Sanitarno-Epidemiologicznych zgodnie z wytycznymi Instytutu Żywności i Żywienia. Próbkę do badań pochodziły z handlu detalicznego. Termotolerancyjne bakterie z rodzaju *Campylobacter* izolowano zgodnie z procedurą opisaną w Polskiej Normie: PN-EN ISO 10272-1:2006 „Mikrobiologia żywności i pasz. Horizontalna metoda wykrywania obecności i oznaczania liczby *Campylobacter* spp.”.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W ramach badań monitoringowych w 2009 roku przebadano łącznie 658 próbek, w tym 329 surowego mięsa drobiowego (piersi, mięso mielone, elementy tuszek-skrzydła, nogi) i 329 podrobów drobiowych (wątróbka, żołądki, serca). W 352 próbkach stwierdzono obecność termotolerancyjnych bakterii z rodzaju *Campylobacter*, co stanowiło 53,5% wszystkich przebadanych próbek. Częstość występowania *Campylobacter* spp. w surowym mięsie drobiowym była większa w porównaniu do częstości występowania w podrobach drobiowych i wynosiła odpowiednio 58,8% i 48,0% (tab. I).

Wyniki badań prowadzonych w Japonii wskazują, że podobnie jak w naszych badaniach, 58,8% dostępnego w handlu detalicznym mięsa drobiowego było zanieczyszczone termotolerancyjnymi pałeczkami *Campylobacter* (5). Zbliżone wyniki uzyskali Dominguez i współpr. Spośród 198 próbek mięsa drobiowego, przeznaczonych do sprzedaży detalicznej, w 134 (49,5%) wyizolowano *Campylobacter* spp. (6). Znacznie wyższy poziom kontaminacji produktów tymi bakteriami stwierdzany był w Stanach Zjednoczonych. Zhao i współpr. wykazali, że w ok. 70% próbek surowego mięsa obecne były bakterie tego rodzaju (7). Natomiast badania prowadzone w Belgii przez Ghafir i współpr. wykazały dużo niższy, wynoszący 30,9%, stopień zanieczyszczenia pałeczkami *Campylobacter* spp. mięsa drobiowego znajdującego się w sprzedaży (8).

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono mniejszą częstość występowania *Campylobacter* spp. w mielonym mięsie drobiowym (42,9%), niż w

filetach drobiowych (60,5%), skrzydłach i nogach (57,4%) (tab. II). Podobne wyniki uzyskano w Austrii (9) i Hiszpanii (10).

Tabela I. Występowanie *Campylobacter* spp. w Polsce w 2009 - podział na 16 województw

Table I. Occurrence of *Campylobacter* spp. in Poland in 2009 - division into 16 Voivodship

Województwo	Mięso		Podroby		C. jejuni	C. coli	gatunek nieznan
	Liczba próbek	Obecność <i>Campylobacter</i>	Liczba próbek	Obecność <i>Campylobacter</i>			
Dolnośląskie	26	21 (80,7%)	14	11 (78,5%)	-	-	32
Kujawsko-Pomorskie	37	13 (35,1%)	43	15 (34,8%)	-	-	28
Lubelskie	21	18 (85,7%)	19	12 (63,1%)	30	0	0
Lubuskie	20	12 (60,0%)	18	10 (55,5%)	11	11	0
Łódzkie	20	7 (35,0%)	20	5 (25,0%)	6	6	0
Małopolskie	20	16 (80,0%)	20	13 (65,0%)	28	1	0
Mazowieckie	20	10 (50,0%)	20	7 (35,0%)	3	14	0
Opolskie	20	6 (30,0%)	20	6 (30,0%)	-	-	12
Podkarpackie	20	18 (90,0%)	20	15 (75,0%)	33	0	0
Podlaskie	12	0 (0%)	20	0 (0%)	-	-	-
Pomorskie	19	13 (68,4%)	21	13 (62,0%)	2	3	21
Śląskie	15	9 (60%)	20	9 (45%)	5	13	0
Świętokrzyskie	18	10 (55,5%)	17	10 (58,8%)	14	6	0
Warmińsko-Mazurskie	21	9 (42,8%)	17	6 (35,3%)	13	2	0
Wielkopolskie	20	18 (90,0%)	20	20 (100%)	27	11	0
Zachodnio-Pomorskie	20	14 (70%)	20	6 (30,0%)	-	-	20
SUMA	329	194 (58,9%)	329	158 (48,0%)	172 (48,9%)	67 (19,0%)	113 (32,0%)

Tabela II. Występowanie *Campylobacter* spp. w surowym mięsie i podrobach drobiowych w Polsce w 2009

Table II. Occurrence of *Campylobacter* spp. in raw poultry meat and giblets in Poland in 2009

		Liczba próbek	Obecny <i>Campylobacter</i> sp.
mięso drobiowe	Mielone	21	9 (42,9 %)
	Elementy tuszek: skrzydełka, nogi	47	27 (57,4 %)
	Filet	261	158 (60,5 %)
podroby drobiowe	Żołądki	96	56 (58,3 %)
	Serca	94	46 (48,9 %)
	Wątróbka	140	56 (40,0 %)

W badanych próbkach poziom kontaminacji podrobów drobiowych *Campylobacter* sp. kształtował się na poziomie 48,0% (tab. I). Podobne wyniki odnotowano w Japonii, gdzie 52% podrobów drobiowych było zanieczyszczonych tymi bakteriami (11). Inne badania wskazują na jeszcze wyższy poziom skażenia

tymi drobnoustrojami. I tak w badaniach przeprowadzonych w Nowej Zelandii przez Whyte i współpr., we wszystkich wątróbkach drobiowych wykryto *Campylobacter* sp. (12). Podroby należy więc traktować jako potencjalne źródło zakażenia. Delikatna obróbka termiczna stawia je w grupie związanej z dużym ryzykiem zakażeń pokarmowych z udziałem *Campylobacter* sp.

Badania monitoringowe prowadzone w 2009 roku wykazały wyraźne różnice w występowaniu *Campylobacter* spp w przebadanych próbkach żywności w 16 województwach (tab. I). Poziom kontaminacji surowego mięsa drobiowego wahał się od 30 % (woj. opolskie) do 90%.(woj. podkarpackie, woj. wielkopolskie), natomiast podrobów drobiowych od 25% (woj. łódzkie) do 100% (woj. wielkopolskie). Jedynie badania przeprowadzone w województwie podlaskim nie wykazały obecności bakterii z rodzaju *Campylobacter* w żadnej z przebadanych próbek.

Uzyskane przez nas wyniki wskazują, że spośród 4 gatunków należących do grupy termotolerancyjnych jedynie dwa *C. jejuni* i *C. coli* były obecne w badanych próbkach. Uzyskane wyniki są zgodne z danymi literaturowymi (5, 12, 13). W przeprowadzonych badaniach najczęściej izolowanym gatunkiem był *C. jejuni* - jego obecność stwierdzano w 142 próbach (40,3%). *C. coli* wyizolowano z 97 próbek (27,6%) (tab. I).

Wykonane badania monitoringowe pozwoliły na oszacowanie skali zanieczyszczenia produktów drobiowych bakteriami z rodzaju *Campylobacter* w Polsce.

WNIOSKI

1. W 53,5% przebadanych próbek stwierdzono obecność termotolerancyjnych bakterii z rodzaju *Campylobacter*, a najczęściej izolowanym gatunkiem był *C. jejuni*.

2. Surowe mięso drobiowe charakteryzowało się wyższym poziomem kontaminacji pałeczkami *Campylobacter* spp. w porównaniu do podrobów drobiowych.

3. Wykazano różnice w występowaniu *Campylobacter* spp. w przebadanych próbkach żywności w 16 województwach.

E. Maćkiw, D. Korsak, K. Tomczuk, K. Stoś

ASSESSMENT OF THE CONTAMINATION WITH *CAMPYLOBACTER* SPP. IN POULTRY PRODUCTS AVAILABLE IN RETAIL

Summary

In Poland in 2009 monitoring studies were conducted with the goal of detecting the presence of thermotolerant *Campylobacter* spp., both in raw poultry meat (fillets, ground meat, carcass

components: wings, legs) and poultry giblets (livers, stomachs, hearts). The study was conducted in 16 Voivodship Sanitary and Epidemiological Stations.

In the framework of monitoring studies in 2009 a total of 658 food samples of animal origin were examined and 352 samples revealed the presence of bacteria of the *Campylobacter* genus. It was 53.5 % of all the samples tested. Poultry meat, contaminated with *Campylobacter* spp., was reported for higher level for poultry offal. The most frequently isolated *Campylobacter* species was *C. jejuni* – 172 samples (48.9 %). *C. coli* was isolated from 67 samples (19.0 %).

PIŚMIENNICTWO

1. EFSA. Trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008. The EFSA Journal, 2010; 8: 111-136.– 2. Herman L., Heyndrickx M., Grijspeerdt K., Vandekerchove D., Rollier I., De Zutter L.: Routes for *Campylobacter* contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughterhouse. Epidemiol. Infect., 2003; 131: 1169-1180.– 3. Keener K. M., Bashor M. P., Curtis P. A., Sheldon B. W., Kathariou S.: Comprehensive review of *Campylobacter* and poultry processing. Comp. Rev. Food Sci. Food Safety, 2004; 3: 105-116.– 4. Rocznik Statystyczny Rzeczypospolitej Polskiej, 2009.– 5. Suzuki H., Yamamoto S.: *Campylobacter* contamination in retail poultry meats and by-products in the world: a literature survey. J. Vet. Med. Sci., 2009; 71: 255-261.– 6. Dominguez C., Gomez L., Zumalacarregui J.: Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain. Int. J. Food Microbiol., 2002; 7: 165-168.– 7. Zhao C., Ge B., De Villena J., Sudler R., Yeh E., Zhao S., White D. G., Wagner D., Meng J.: Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* serovars in retail chicken, turkey, pork, and beef from the Greater Washington, D. C. area. Appl. Environ. Microbiol., 2001; 67, 5431-5436.– 8. Ghafir Y., China B., Dierick K., De Zutter L., Daube G.: A seven-year survey of *Campylobacter* contamination in meat at different production stages in Belgium. Int. J. Food Microbiol., 2007; 116: 111-120.– 9. Paulsen P., Kanzler P., Hilbert F., Mayrhofer S., Baumgartner S., Smulders F.J.: Comparison of three methods for detecting *Campylobacter* spp. in chilled or frozen meat. Int. J. Food Microbiol., 2005; 103: 229-233.– 10. Mateo E., Cárcamo J., Urquijo M., Perales I., Fernández-Astorga A.: Evaluation of a PCR assay for the detection and identification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in retail poultry products. Res. Microbiol., 2005; 156: 568-574.
11. Sallam K. I.: Prevalence of *Campylobacter* in chicken and chicken by-products retailed in Sapporo area, Hokkaido, Japan. Food Control, 2007; 18: 1113-1120.– 12. Whyte R., Hudson J A., Graham C.: *Campylobacter* in chicken livers and their destruction by pan frying. Lett. Appl. Microbiol., 2006; 43 (6), 591-595.– 13. Kenar B., Akkaya L., Birdane Y.O.: Prevalence of thermotolerant *Campylobacter* in Chicken livers in turkey and antimicrobial resistance among the *Campylobacter* strain. J. Anim. Vet. Adv., 2009; 8: 853-856.

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

Anna Chlebowska-Śmigiel, Małgorzata Gniewosz, Beata Sadło

PRÓBA PRZEDŁUŻENIA TRWAŁOŚCI MIKROBIOLOGICZNEJ MIĘSA WIEPRZOWEGO POPRZECZ ZASTOSOWANIE POWŁOKI JADALNEJ

Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Kierownik: dr hab. S. Błażej, prof. SGGW

W pracy zbadano wpływ obecności powłoki jadalnej na bazie pullulanu, izolatu białka sojowego oraz kwasu stearynowego na ograniczenie zmian mikrobiologicznych w mięsie wieprzowym przechowywanym przez 7 dni w warunkach chłodniczych. Zastosowana powłoka jadalna istotnie wpłynęła na ograniczenie tych zmian. Najskuteczniej zahamowała wzrost enterokoków, bakterii kwasu mlekowego, bakterii grupy coli oraz drożdży.

Hasła kluczowe: *Aureobasidium pullulans*, pullulan, powłoki jadalne, mięso wieprzowe, zmiany mikrobiologiczne.

Key words: *Aureobasidium pullulans*, pullulan, edible coating, pork meat, microbiological changes.

Mięso w żywieniu człowieka odgrywa istotną rolę, głównie ze względu na zawartość białka i aminokwasów egzogennych. Z tego też powodu jest bardzo dobrym środowiskiem dla rozwoju wielu grup drobnoustrojów, w tym również chorobotwórczych. W przypadku mięsa, które jako surowe trafia na półki sklepowe, zachowanie świeżości jest bardzo ważne, ponieważ jedynym inhibitorem wzrostu drobnoustrojów jest kwas mlekowy, który obniża pH do 5,6 – 5,8, co nie jest wystarczające do zahamowania wzrostu obecnej na mięsie mikroflory (1). Dodatkowo mięso w sklepie ma kontakt z osobą sprzedającą podczas krojenia, ważenia i pakowania. Często podczas sprzedaży dochodzi do zakażeń krzyżowych (1-3). Mięso leżące w ladzie sklepowej jest również narażone na powstanie tzw. „ususzki”, a często przy zakupie czynnikiem decydującym o jego wyborze jest wygląd. Zastosowanie opakowania, które nie maskowałoby surowca a jednocześnie pozwalało na ograniczenie rozwoju obecnej na nim mikroflory może stanowić dobre rozwiązanie. Funkcją taką mogą spełniać biodegradowalne opakowania, np. powłoki i filmy jadalne (4).

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowił mięsień najdłuższy grzbietu (*musculus longissimus dorsi*), zwany potocznie schabem, zakupiony w jednym z hipermarketów w Warszawie oraz powłoka jadalna na bazie pullulanu (Pul), izolatu białka sojowego (SPI) oraz kwasu stearynowego (SA), przygotowywana w postaci emulsji zgodnie z metodyką podaną przez Xu i współpr. (5).

Pullulan otrzymywano na drodze hodowli wgłębnej mutanta B-1 grzyba *Aureobasidium pullulans* (6). Do przygotowania powłoki użyto kwasu stearynowego firmy Sigma oraz izolatu białka sojowego SUPRO 595 (Soley Company, USA). Powłokę наносzono przez zanurzenie kostek mięsa w roztworze emulsji i wysuszenie. Gotowe próbki przechowywano w lodówce.

Wykonywano posiewy z prób kontrolnych i pokrytych powłoką jadalną bezpośrednio po przygotowaniu próbek oraz po ich przechowywaniu w warunkach chłodniczych przez okres trzech i siedmiu dni. Oznaczano ogólną liczbę drobnoustrojów (7), liczbę drożdży i pleśni (8), liczbę bakterii grupy coli (9), enterokoków (10), bakterii fermentacji mlekowej (11) oraz drobnoustrojów psychrofilnych (12) w przeliczeniu na 1g próbki mięsa. Stopień ograniczenia badanej grupy mikroorganizmów obliczano jako różnicę między log liczbą drobnoustrojów na próbce z powłoką jadalną i na próbce kontrolnej. Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu STATGRAPHICS Plus.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Ogólna liczba drobnoustrojów w 18 badanych, kontrolnych próbkach mięsa wynosiła średnio $1,55 \cdot 10^6$ jtk/g. Po 3 dniach przechowywania liczba ta wzrosła o ok. 3 cykle logarytmiczne. Z kolei po 7 dniach uzyskano średni wynik $1,68 \cdot 10^{11}$ jtk/g dla próbek mięsa bez powłoki oraz $1,9 \cdot 10^{10}$ jtk/g dla próbek pokrytych powłoką (tab. I). Początkowy poziom zanieczyszczenia rzędu $10^4 - 10^6$ jtk/g jest wysoki, co obrazuje stan higieniczny mięsa obecnego na półkach sklepowych. Wg *Kreyenschmidta* i współpr. (13) ogólna liczba drobnoustrojów rzędu 10^8 jtk/g jest przeciętną wartością podawaną w literaturze jako graniczna dla zachowania trwałości mięsa. Przeprowadzona analiza statystyczna wyników wykazała istotność zmian dopiero po 7 dniach przechowywania.

Początkowa średnia liczba bakterii grupy *coli* wynosiła $4,63 \cdot 10^3$ jtk/g. Po 3 dniach przechowywania nastąpił nieznaczny wzrost liczby bakterii grupy coli o ok. 1,5 cyklu logarytmicznego dla kontroli i ok. 1 cykl logarytmiczny dla próbek właściwych, natomiast po 7 dniach liczba tych drobnoustrojów wynosiła średnio $2,67 \cdot 10^8$ jtk/g dla mięsa bez powłoki i $2,42 \cdot 10^7$ jtk/g dla mięsa z naniesioną powłoką (tab. I).

Bakterie z rodzaju *Enterococcus* są rodzimą mikroflorą przewodu pokarmowego ludzi i zwierząt. Ich obecność na mięsie świadczy o niedostatecznej higienie uboju

lub wtórnym zakażeniu już podczas obrotu surowcem (14, 15). Przeprowadzone badania wykazały wysoki początkowy poziom enterokoków. Wynosił on średnio $1,31 \cdot 10^4$ jtk/g. Wzrost liczby tych bakterii był nieznaczny między czasem zerowym a 3 dobą przechowywania, jednak między 3 i 7 dobą liczba bakterii zwiększyła się o 2 cykle logarytmiczne dla próbek z powłoką i 4 dla próbek kontrolnych (tab. I).

Tabela 1. Zmiany liczby drobnoustrojów podczas 7 dni przechowywania mięsa wieprzowego pokrytego (P) i niepokrytego (K) powłoką jadalną [jtk/g]

Table 1. Count of microorganisms changes during 7 days storage of coated [P] and uncoated [K] pork meat [cfu/g]

Czas [dni]	Wariant	1. Ogólna liczba drobnoustrojów	2. Bakterie grupy coli	3. Enterokoki	4. Bakterie kwasu mlekowego	5. Psychrofile	6. Drożdże i pleśnie
		jtk/g	jtk/g	jtk/g	jtk/g	jtk/g	jtk/g
0	K	$1,55 \cdot 10^6$ A	$4,63 \cdot 10^3$ A	$1,31 \cdot 10^4$ A	$9,18 \cdot 10^3$ A	$1,47 \cdot 10^6$ A	$4,08 \cdot 10^3$ A
	P	$1,54 \cdot 10^6$ A	$4,38 \cdot 10^3$ A	$1,20 \cdot 10^4$ A	$8,73 \cdot 10^3$ A	$1,37 \cdot 10^6$ A	$3,78 \cdot 10^3$ A
3	K	$2,34 \cdot 10^9$ B	$3,33 \cdot 10^5$ B	$4,63 \cdot 10^5$ B	$7,48 \cdot 10^5$ B	$1,83 \cdot 10^9$ B	$4,66 \cdot 10^5$ B
	P	$7,25 \cdot 10^8$ B	$8,08 \cdot 10^4$ C	$3,03 \cdot 10^5$ C	$1,74 \cdot 10^5$ C	$3,35 \cdot 10^8$ B	$1,45 \cdot 10^5$ C
7	K	$1,68 \cdot 10^{11}$ C	$2,67 \cdot 10^8$ D	$1,60 \cdot 10^9$ D	$8,80 \cdot 10^7$ D	$1,44 \cdot 10^{11}$ C	$8,73 \cdot 10^6$ D
	P	$1,90 \cdot 10^{10}$ C	$2,42 \cdot 10^7$ E	$8,33 \cdot 10^7$ E	$8,68 \cdot 10^6$ E	$1,17 \cdot 10^{10}$ C	$1,08 \cdot 10^6$ E

A, B, C, D, E – grupy homogeniczne

Początkowa liczba bakterii kwasu mlekowego wynosiła średnio $8,73 \cdot 10^3$ jtk/g i w trakcie przechowywania wzrosła po 3 dniach do $7,48 \cdot 10^5$ jtk/g na mięsie bez powłoki i $1,74 \cdot 10^5$ jtk/g na mięsie z powłoką jadalną. Po 7 dniach wynosiła już średnio $8,8 \cdot 10^7$ jtk/g dla kontroli i $8,68 \cdot 10^6$ jtk/g dla próbek właściwych (tab. I). Różnice w liczbie jednostek tworzących kolonie wynikające z zastosowania powłoki nie były znaczne, ale już istotne statystycznie. Do bakterii kwasu mlekowego najczęściej występujących na mięsie zalicza się przede wszystkim psychrofilne bakterie *Lactobacillus* sp. (*L. curvatus*, *L. sake*) i *Leuconostoc* sp. (*L. mesenteroides*). Są one fakultatywnymi aerobami co sprawia, że przy małej zawartości tlenu lepiej rosną (1, 16). Zastosowanie powłoki jadalnej ograniczającej dostęp tlenu mogło sprzyjać rozwojowi tej grupy drobnoustrojów.

Średnia liczba drożdży i pleśni dla mięsa niepokrytego powłoką wynosiła początkowo $4,08 \cdot 10^3$ jtk/g. Po 3 dobach zaobserwowano wzrost liczby tych drobnoustrojów średnio do $4,66 \cdot 10^5$ jtk/g dla próbek bez powłoki oraz $1,45 \cdot 10^5$ jtk/g dla próbek pokrytych powłoką jadalną. Po 7 dobach poziom zanieczyszczenia wynosił średnio $8,73 \cdot 10^6$ jtk/g dla kontroli oraz $1,08 \cdot 10^6$ jtk/g dla próbek właściwych (tab. I). W przeprowadzonym badaniu nie stwierdzono obecności pleśni.

Początkowa średnia liczba mikroorganizmów psychrofilnych (tab. I) wynosiła $1,47 \cdot 10^6$ jtk/g. Po 3 dobach liczba ta wzrosła do $1,83 \cdot 10^9$ jtk/g dla kontroli i $3,35 \cdot 10^8$ jtk/g dla próbki właściwej, a po 7 dobach ukształtowała się na poziomie $1,44 \cdot 10^{11}$ jtk/g dla mięsa bez powłoki i $1,17 \cdot 10^{10}$ jtk/g dla próbek z powłoką jadalną. Wśród rodzimej mikroflory mięsa znaczna część to psychrofile i psychrotrofy, które posiadają uwarunkowaną genetycznie zdolność aklimatyzacji do niskiej temperatury otoczenia. Potwierdzają to uzyskane wyniki, z których widać, że liczba psychrofilii była zbliżona do liczby ogólnej drobnoustrojów. Pozwala to stwierdzić, iż zdecydowana większość mikroflory obecnej na mięsie preferuje niską temperaturę, bądź posiada zdolność przystosowania się do warunków chłodniczych. Jest szczególnie widoczne w przypadku bakterii grupy *coli* oraz enterokoków.

W przypadku mikroorganizmów psychrofilnych nie zaobserwowano istotnego statystycznie wpływu obecności powłoki na stopień redukcji tej grupy drobnoustrojów. *Bystroń* i współpr. (1) podają, że bakterie z rodzajów *Pseudomonas* i *Lactobacillus* najczęściej odpowiadają za psucie się mięsa i jego przetworów. Z kolei *Kreyenschmidt* i współpr. (13) wskazują obok *Pseudomonas* sp. na bakterie przynależne do rodziny *Enterobacteriaceae*, jako zyskujące na znaczeniu w warunkach chłodniczych. Jednakże wzrost bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* jest znacznie wolniejszy niż psychrofilnej mikroflory, co potwierdzają uzyskane wyniki (tab. I). Biorąc zatem pod uwagę wyniki uzyskane dla pozostałych oznaczanych grup mikroorganizmów można stwierdzić, że rozwój typowych psychrofilii nie jest hamowany przez powłokę jadalną.

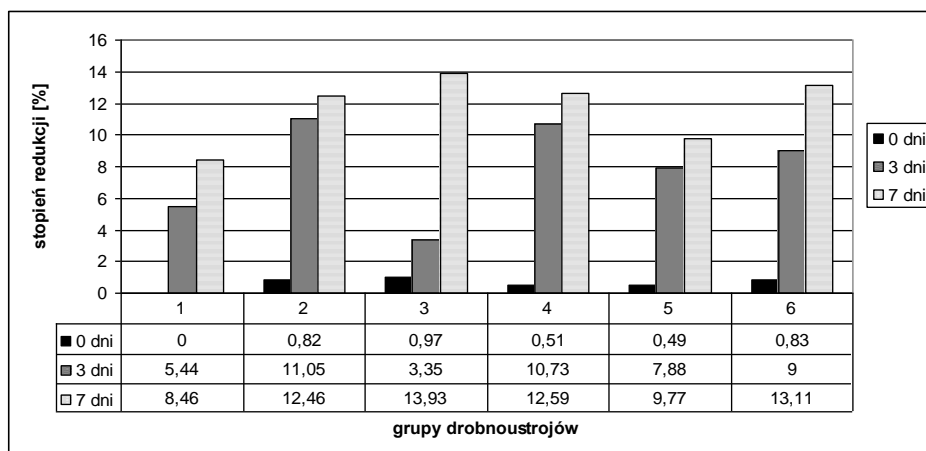
Zanurzanie kostek mięsa w roztworze emulsji mogłoby sugerować pytanie, czy sam proces nanoszenia powłoki nie zmywa mikroorganizmów z powierzchni mięsa. Taka sytuacja mogłaby mieć wpływ na uzyskane wyniki dla kolejnych badań po 3 i 7 dniach przechowywania.

Na ryc. 1 przedstawiono procentowy stopień redukcji liczby drobnoustrojów wobec próby kontrolnej, którą była próbka mięsa bez powłoki. Przed rozpoczęciem przechowywania próbek sprawdzono początkowy stopień zanieczyszczenia mięsa, do którego odniesiono wyniki uzyskane po 3 i 7 dobie przechowywania próbek w warunkach chłodniczych. Wykonując posiew z próbek pokrytych powłoką w czasie „0” dowiedziono, że sam proces nanoszenia powłoki nie wpływa istotnie na stopień redukcji drobnoustrojów obecnych na powierzchni mięsa.

Zastosowana powłoka najskuteczniej zahamowała wzrost enterokoków (ok. 14%), drożdży (13,11%), bakterii kwasu mlekowego (ok. 12,6%) oraz bakterii z grupy coli (ok. 12,5%) i jest porównywalnie skuteczna po 3 i 7 dobach, z wyjątkiem enterokoków (tylko 3,35% po 3 dniach prowadzenia badań). Najmniejszą skuteczność uzyskano w stosunku do ogólnej liczby drobnoustrojów (8,46%) oraz do psychrofilii (9,77 %).

Wyniki uzyskane w czasie zerowym są stosunkowo wysokie, co potwierdza słuszność podjęcia tematu higieny mięsa oferowanego z za lady. Do badania wybrano powłokę, której dwa główne składniki to izolat białka sojowego oraz pullulan. Powłoka ta sprawdziła się jako bardzo dobre opakowanie do przechowywania owoców kiwi, znacznie wydłużając ich trwałość (5). Jednak w

przypadku owoców nie badano wpływu obecności powłoki na rozwój mikroflory, a jedynie zmiany w szybkości ich dojrzewania. Uzyskane wyniki pozwalają przypuszczać, że powłoki jadalne po dopracowaniu składu mogą być alternatywą dla tradycyjnych metod pakowania i wykazywać większą skuteczność w hamowaniu wzrostu drobnoustrojów.



Ryc. 1. Stopień redukcji liczby drobnoustrojów na próbkach mięsa w wyniku zastosowania powłoki jadalnej [%].

Fig. 1. Microorganisms count reduction degree on meat samples as a results of edible coatings [%].

WNIOSKI

1. Sposób nanoszenia powłoki przez zanurzenie próbek w roztworze emulsji nie wpływa istotnie na obniżenie początkowej liczby drobnoustrojów.

2. Zastosowana powłoka jadalna miała statystycznie istotny wpływ na stopień redukcji liczby enterokoków, bakterii grupy coli, bakterii kwasu mlekowego oraz drożdży i ograniczyła ich rozwój o 1 do 2 cykli logarytmicznych.

3. Badana powłoka okazała się mało skuteczna w ograniczeniu liczby drobnoustrojów psychrofilnych, które miały dogodne warunki rozwoju podczas przechowywania w temperaturze chłodniczej.

A. Chlebowska – Śmigiel, M. Gniewosz, B. Sadło

AN ATTEMPT TO APPLY AN EDIBLE COATING TO PROLONG MICROBIOLOGICAL DURABILITY OF PORK MEAT

Summary

The influence of edible coating, based on pullulan, soy protein isolate and stearic acid, on microbiological changes in pork meat was research. Samples of meat, covered and uncovered, were stored for 7 days at refrigerator temperature. The edible coating used significantly limited growth of enterococci, lactic acid bacteria, coliforms bacteria and yeasts.

PIŚMIENNICTWO

1. *Bystron J., Kosek-Paszkowska K., Molenda J.*: Wpływ warunków środowiskowych na psucie się mięsa. *Życie Wet.*, 2002; 9 (77): 478-480.- 2. *Rywotycki R.*: Wpływ mikroflory na psucie się mięsa. *Aura*, 2001; 8 (29): 29-31.- 3. *Piepiórka J., Wojtasik-Kalinowska I.*: Higiena personelu w produkcji żywności. *Przem. Spoż.*, 2010; 2 (64): 37 – 40. – 4. *Chlebowska – Śmigiel A., Gniewosz M.*: Effect of pullulan coating on inhibition of chosen microorganisms' growth. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2009; 8 (3): 37-46.- 5. *Xu S., Chen X., Sun D.*: Preservation of kiwifruit coated with an edible film at ambient temperature. *J. Food Engin.*, 2001; 50: 211-216.- 6. *Chlebowska-Śmigiel A., Gniewosz M.*: Wpływ jadalnej powłoki pullulanowej na ograniczenie zmian sensorycznych i fizykochemicznych zachodzących w orzechach laskowych podczas ich przechowywania. *Bromatol. Chem. Toksykol.*, 2009; XLII (3): 420-425.- 7. PN-EN ISO 4833: 2004: Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Metoda płytkowa w temperaturze 30°C.- 8. PN-ISO 21527-1:2009: Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drożdży i pleśni.- 9. PN-ISO 4832:2007: Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby bakterii grupy coli.- 10. Polska Norma PN-A 82055-7:1997: Mięso i przetwory mięsne. Badania mikrobiologiczne. Wykrywanie obecności i oznaczanie liczby enterokoków.
11. PN-EN ISO 15214:2002: Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej.- 12. PN-ISO 17410:2004: Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów psychrotrofowych.- 13. *Kreyenschmidt J., Lohmeyer K., Stahl N.*: Charakterisierung des Verderbs von Frischfleisch. *Fleischwirtschaft*, 2002; 10 (82): 108-111.- 14. *Zaleski S.J.*: Mikrobiologia żywności pochodzenia zwierzęcego. Wyd. WNT, Warszawa, 1985; 255-257.- 15. *Keeratipibul S., Oupaichit T., Techaruwichit P.*: Contamination profiles of *Escherichia coli* and enterococci in steamed chicken meat products. *J. Food Prot.*, 2009; 9 (72): 1821-1829.- 16. *Nychas G.J.E., Skandamis P.N., Tassou C.C., Koutsoumanis K.P.*: Meat spoilage during distribution. *Meat Science*, 2008; 78: 77-89.

Adres: 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159c.

Anita Kukułowicz

WYSTĘPOWANIE PAŁECZEK *LISTERIA SP.* W KREWETKACH

Katedra Towaroznawstwa i Zarządzania Jakością Akademii Morskiej w Gdyni

Kierownik: prof. dr hab. P. Przybyłowski

Krewetki charakteryzują się wysoką zawartością kwasów tłuszczowych Omega-3, witamin A, B₁₂, D, E oraz białka, które korzystnie oddziałują na organizm człowieka. Jednakże, pomimo swoich właściwości, mogą stanowić zagrożenie zdrowotne ze względu na występowanie drobnoustrojów patogennych tj. Listeria, Salmonella czy Vibrio.

Hasła kluczowe: krewetki, *Listeria monocytogenes*, owoce morza.

Key words: shrimps, *Listeria monocytogenes*, seafoods.

W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania owocami morza, w szczególności krewetkami, które charakteryzują się wyjątkowym smakiem oraz strukturą. Mogą być serwowane na różne sposoby, podawane jako przystawka lub przekąska. Z dostępnych danych wynika, że spożycie krewetek w naszym kraju wynosi 0,14 kg/os, podczas gdy w USA 1,8 kg/os, a w krajach UE aż 1,9 kg/os. Ze względu na swoją wartość odżywczą oraz wysoką przyswajalność mogą być one spożywane jako substytut mięsa wołowego oraz wieprzowego. Dzięki wysokiej zawartości kwasów tłuszczowych Omega-3, witamin A, B₁₂, D, E oraz białka zawierającego w swoim składzie aminokwasy tj.: glicyna, tauryna, alanina, mięso skorupiaków może korzystnie wpływać na zdrowie człowieka. Regularna konsumpcja skorupiaków spowodować może m.in.: obniżenie poziomu cholesterolu oraz tłuszczu we krwi, poprawę funkcjonowania układu nerwowego. Obecny w mięsie krewetek cynk, przyspiesza gojenie się ran oraz wpływa na prawidłowe działanie układu płciowego. Zaletą mięsa krewetek jest także niższa niż w innych owocach morza zawartość rtęci (1-3).

Pomimo swoich licznych właściwości korzystnie oddziałujących na organizm człowieka, krewetki mogą także przyczyniać się do chorób związanych z ich spożywaniem. Znaczna ilość tych skorupiaków pochodzi z krajów rozwijających się, co zwiększa prawdopodobieństwo rozwoju drobnoustrojów patogennych wpływających na bezpieczeństwo tych produktów. Sytuacja ta przyczyniła się do ustanowienia wymagań oraz procedur regulujących produkcję skorupiaków, np. Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (FDA) ma prawo wstrzymać import produktów, które nie posiadają certyfikatu o nieobecności bakterii *Salmonella*. Dla krajów UE ustanowiono Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF), czyli

europejski system szybkiego ostrzegania o niebezpiecznych produktach żywnościowych, którego celem jest wymiana informacji o pojawieniu się produktów zagrażających zdrowiu konsumentów (1, 4).

Mikroorganizmy z rodzaju *Listeria*, *Salmonella* oraz *Vibrio* należą do najczęściej izolowanych z owoców morza drobnoustrojów patogennych. Ich występowanie zależy od zanieczyszczenia wody, surowca, warunków hodowli i przechowywania oraz przebiegu procesu technologicznego. Mimo, iż ilość zachorowań spowodowana konsumpcją owoców morza nie jest wysoka, to w celu zagwarantowania bezpieczeństwa wytwarzanych krewetek producenci muszą poświęcić szczególną uwagę na poprawę ich jakości. *L. monocytogenes* powoduje chorobę zwaną listeriozą, która cechuje się 30% śmiertelnością. Źródłem zakażenia mogą być surowe owoce morza, żywność niewłaściwie przechowywana oraz poddawana niewłaściwym obróbkom termicznym. Największe zagrożenie *L. monocytogenes* stanowi dla osób o obniżonej odporności, dzieci, kobiet w ciąży, podczas gdy u zdrowych ludzi zakażenie tą bakterią wywołuje objawy charakterystyczne dla nieżytu żołądka (4-7).

Celem niniejszych badań była ocena bezpieczeństwa krewetek surowych, mrożonych i pochodzących z zalewy ze względu na występowanie pałeczek *Listeria*.

MATERIAŁ I METODY

Badaniom poddano dostępne w sieciach handlowych na terenie Trójmiasta krewetki surowe (małe, średnie oraz królewskie), mrożone, mieszanek owoców morza, krewetki w zalewie olejowej, jak również w zalewie z dodatkiem NaCl. Badania przeprowadzono ogółem na 68 próbkach. Wszystkie zakupione produkty poddawane były analizie w dniu zakupu.

W celu oznaczenia pałeczek *Listeria monocytogenes* zastosowano wybiórcze podłoże chromogenne Rapid' *L. Mono* firmy BIO-RAD do wykrywania i oznaczania liczby komórek (bez potwierdzenia identyfikacji kolonii) tych drobnoustrojów w produktach spożywczych. Zastosowane podłoże chromogenne umożliwiało identyfikację pałeczek *Listeria monocytogenes* na podstawie wykrywania aktywności fosfolipazy i braku zużywania ksylozy. Po 24-48 godzinach inkubacji kolonie pałeczek *Listeria monocytogenes* były niebieskie bez żółtego halo, natomiast kolonie *Listeria innocua* były białe.

Procedura wykrywania *L. monocytogenes* polegała na wstępnym wzbogacaniu 25 g próbki w 225 ml podłoża płynnego ½ FRASER i inkubacji w temp. $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ przez $24 \pm 2\text{h}$. Po danym czasie inkubacji wzbogacającej pobierano jałową pipetą 0,1 ml hodowli i wysiewano kroplę na podłoże chromogenne Rapid' *L. Mono* przy brzegu płytki, a następnie jałową wymazówką rozprowadzano kroplę po podłożu w sposób izolacyjny. Po przeprowadzonym posiewie płytki inkubowano w temp. $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ przez 24 ± 3 godziny.

Metoda wykorzystująca podłoże RAPID' *L. Mono* została zaaprobowana przez AFNOR (The Association Francaise de Normalisation) jako metoda alternatywna dla referencyjnego standardu NF EN ISO 11290-1, dotyczącego wykrywania pałeczek *Listeria monocytogenes* we produktach spożywczych pod numerem atestu: BRD: 07/04-09/98 (8).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Po przebadaniu wszystkich próbek krewetek wykryto obecność pałeczek *Listeria* w 24 próbkach, co stanowiło ok. 35% (tab. I).

Tabela I. Liczba pozytywnych przypadków pałeczek *Listeria* w krewetkach

Table I. The number of positive cases of *Listeria* presence in shrimps

Rodzaj krewetek	Liczba prób	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>
Surowe	16	3	4
Mrożone	16	4	2
W zalewie z NaCl	12	3	-
W zalewie olejowej	12	-	4
Mieszanka owoców morza	12	4	-
Razem	68	14	10

Na wzrost tych bakterii ma wpływ wiele czynników m.in.: pH, temperatura, zawartość soli. Zgodnie z danymi literaturowymi, bakterie te mogą rozwijać się w środowisku słonym o stężeniu 0,5-20% (optymalna wartość 10%), co potwierdzają również uzyskane wyniki. W 3 próbach krewetek pochodzących z solanek, stwierdzono obecność *L. monocytogenes*. Produkt ten jest bardzo popularny wśród konsumentów, gdyż krewetki pochodzące z solanki są wcześniej obrane i gotowane, dzięki czemu nadają się do bezpośredniej konsumpcji oraz cechują się dobrymi właściwościami organoleptycznymi (4, 9-11).

Obecność *L. monocytogenes* stwierdzono w około 20% prób. Najwięcej pozytywnych przypadków obserwowano w krewetkach surowych oraz mieszance owoców morza, które były eksponowane na lodzie w temp. ok. 2-5°C. Temperatura chłodnicza między 1-4°C sprzyja namnażaniu się tych bakterii, przez co stają się one głównym zanieczyszczeniem żywności przechowywanej w lodówkach oraz ładach chłodniczych m.in.: mięsie, mleku, surowych warzywach, serach, rybach wędzonych (12).

Najbardziej popularnym, niepatogennym gatunkiem *Listeria* jest *Listeria innocua*, która często obecna jest w żywności jednocześnie z *L. monocytogenes* (6, 11, 13). Podczas badań stwierdzono obecność *Listeria innocua* w poddanych analizie krewetkach w ilości 10 przypadków, co stanowiło około 15% (tab.1). *Parihar* i współpr. badając owoce morza, stwierdzili obecność tych bakterii w dwukrotnie większej ilości analizowanych krewetek, sięgając 30% (6).

Obecności *L. monocytogenes* nie stwierdzono w krewetkach pochodzących z zalewy olejowej z dodatkiem czosnku i pietruszki, co prawdopodobnie jest wynikiem właściwości przeciwdrobnoustrojowych wykorzystanych w procesie technologicznym roślin (14).

WNIOSKI

1. Stwierdzona obecność *L. monocytogenes* w badanych produktach sugeruje konieczność stałego monitorowania czystości krewetek pod względem obecności tych bakterii.

2. Konsumenty powinni być informowani o ryzyku związanym ze spożywaniem surowych lub nisko przetworzonych krewetek.

A. Kukułowicz

PRESENCE OF *LISTERIA* SP. COCCOBACILLI IN SHRIMPS

Summary

Despite numerous properties of shrimp that positively influence the human body, they can also contribute to development of diseases emerging from their consumption due to the possible presence and development of pathogenic micro-organisms of *Listeria*, *Salmonella* and *Vibrio* type, that influence the safety of consumption of products, including shrimp.

The aim of this research was to assess the safety of raw, frozen and shrimp in brine due to the presences of *Listeria* sp.

The examination of all shrimp samples revealed the presence of *Listeria* in 24 samples, which was 35% of all samples. *L. monocytogenes* was present in about 20% of samples. The biggest number of positive cases was observed in raw shrimp and in mixed seafood in ice at temp. around 2-5°C. This bacterium was also present in 3 shrimp samples coming from brine. During the investigation non-pathogenic *Listeria innocua* was also found in 10 samples.

Stated presence of *L. monocytogenes* in examined products suggests the necessity of continuous monitoring of purity of shrimps in terms of bacteria presence on each stage of production.

PIŚMIENNICTWO

1. Bykowski P.: Przetwórstwo ryb w Polsce – szanse i zagrożenia, XXXV Krajowa Konferencja Hodowców Ryb Łososiowatych, Jastrzębia Góra 2010, Mat. konf., 53-62.– 2. www.nmfs.noaa.gov/fishnews.– 3. Zdrojewska I., Lebedzińska A., Szeffer P.: Wybrane owoce morza jako składnik diety o wysokiej wartości odżywczej, Roczn. PZH, 2005; 2: 131-137.– 4. Norhana M.N., Poole S.E., Deeth H.C., Dykes G.A.: Prevalence, persistence and control of *Salmonella* and *Listeria* in shrimps and shrimps products: A review, Food Control, 2010; 21: 343-361.– 5. Zadernowska A., Łaniewska-Trokenheim Ł., Chajęcka W.: Wykrywanie pałeczek *Listeria monocytogenes* i *Salmonella* sp. w rybach i produktach rybnych z użyciem aparatu mini Vidas, Med Wet., 2010; 66 (4): 264- 267.– 6. Parihar V.S., Barbuddhe S.B., Danielsson-Tham M.L., Tham W.: Isolation and characterization of *Listeria* species from tropical seafoods, Food Control, 2008; 19: 566-569.– 7. Walczycka M.: Metody inaktywacji i hamowania wzrostu *Listeria monocytogenes* w przetworach mięsnych Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2005; 2 (43): 61-72.– 8. Rapid' L.Mono/Agar - 356 3694 – 355 5294 - www.bio-rad.com.– 9. Sip A.: Rola bakteriocyn w ochronie produktów mlecznych przed rozwojem *Listeria*

monocytogenes cz.I, Przegł. Mlecz., 2009; 12: 4-9.- 10. Baraniak A.: Znaczenie kliniczne zakażeń wywołanych przez *Listeria monocytogenes*, Nowa Med, 1999; 9.

11. Osińska O.A., Jagielski T., Bielecki J.: Molekularne determinanty wirulencji *Listeria monocytogenes* I. Patogeneza misteryjna. Czynniki wirulencji: białka powierzchniowe uczestniczące w adhezji do komórek gospodarza, Post. Mikrobiol., 2006; 45 (3): 209-220.– 12. Dmowska K., Osek J.: Molekularne aspekty chorobotwórczości *Listeria monocytogenes*, Med. Wet., 2010; 66 (4): 236-241.– 13. Więckowska M., Kotłowski R., Kur J., Rudnicka W.: Zastosowanie metody PCR do wykrywania *Listeria monocytogenes* w mleku, Med. Dośw. Mikrobiol., 1998; 50: 251-257.- 14. Kędzia A.: Przeciwdrobnoustrojowe działanie czosnku (*Allium sativum* L.), Post. Fitoterapii, 2010; 1: 46-52.

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

Izabela Steinka, Łukasz Misiewicz, Anita Kukulowicz

TYPOWANIE WSKAŹNIKA JAKOŚCI MIKROBIOLOGICZNEJ HERBAT CZARNYCH

Katedra Towaroznawstwa i Zarządzania Jakością Akademii Morskiej w Gdyni

Kierownik: Prof. dr hab. *P. Przybyłowski*

*Praca stanowi prezentację wyników badań mikrobiologicznych herbat czarnych w kierunku oceny liczby grzybów strzępkowych i drożdży. Badania wykazały przydatność pożywek DG i YGC do tych badań. Liczba grzybów strzępkowych w próbkach wahała się od 2,5 do 3 log jtk/g. *Uclodium chartarum* jest pleśnią, którą stwierdzono w 89% badanych herbat.*

Hasła kluczowe: herbaty czarne, grzyby strzępkowe, wskaźnik jakości, *Uclodium chartarum*.

Key words: black tea, filamentous moulds, quality, indicator, *Uclodium chartarum*.

Uprawa, przetwarzanie i przechowywanie surowców roślinnych stanowi źródło zanieczyszczeń i reinfekcji związanych ze środowiskiem ich pozyskiwania. Wśród mikroflory glebowej najistotniejsze znaczenie w kształtowaniu jakości produktów wykazują grzyby strzępkowe. W piśmiennictwie stwierdza się liczne publikacje związane z prozdrowotnymi efektami ekstraktów herbacianych na organizm człowieka i zwierząt doświadczalnych (1-13).

Istnieje natomiast niewiele danych dotyczących zanieczyszczenia mikrobiologicznego suszów herbacianych. Jakość mikrobiologiczna herbat jest przedmiotem niewielu danych literaturowych (14, 15).

Celem niniejszej pracy była próba wytypowania bezpiecznego poziomu mikroflory herbat z możliwością ustalenia gatunku pleśni, których liczba może stanowić przydatny wskaźnik do oceny jakości tych produktów.

MATERIAŁ I METODY

W wybranych herbatach sypkich o różnym stopniu rozdrobnienia (liściaste, granulowane, pyliste) badano liczbę grzybów strzępkowych i drożdży. Do badań zastosowano dwa rodzaje pożywek: podłoże DG 18 przeznaczone do produktów takich, jak suszone owoce, mięso, produkty rybne, przyprawy, słodczyce, płatki czy orzechy oraz YGC stosowane do oceny liczby drożdży i pleśni w mleku i produktach mlecznych zalecane przez normę DIN 10186. Próby pobierano i posiewano zgodnie z obowiązującymi normami.

Przebadano po 57 próbek herbat pochodzących z Indii, Chin, Wietnamu, Sri Lanki, Bangladeszu, Indonezji, RPA, Iranu i Argentyny na każdej z pożywek.

Określono korelację liniową między wielkościami populacji grzybów strzępkowych w zależności od rodzaju stosowanej pożywki za pomocą programu Statistica 7,0. Współczynniki determinacji (R^2) wyznaczone dla równań korelacji liniowej stanowiły podstawę porównania możliwości odzysku mikroorganizmów z herbat w zależności od zastosowanego podłoża hodowlanego.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

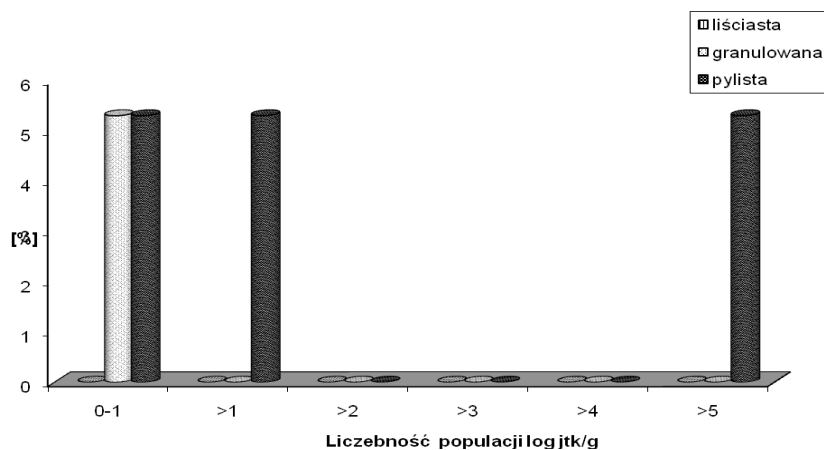
Najwyższy stopień zanieczyszczenia mikrobiologicznego grzybami strzępkowymi wykazywały herbaty granulowane i wahał się on od 1,6-do 6,3 log jtk/g (tab. I). Najniższy poziom pleśni spośród badanych herbat wykazywały herbaty pyliste od 0 do -3,23 log jtk/g. Maksymalną liczbę populacji grzybów strzępkowych stwierdzono w herbacie granulowanej pochodzącej z Bangladeszu, natomiast niski poziom pleśni był obserwowany w 15,7% próbek herbat liściastych. Średni poziom drożdży zamykał się w granicach od 1 do 1,6 log jtk/g. Jedynie w 5,26% badanych próbkach stwierdzono wysoką liczebność ich populacji przekraczającą 5 log/ jtk/g.

Tabela 1. Liczba grzybów strzępkowych izolowanych z herbat

Table 1. Filamentous mould count isolated from tea

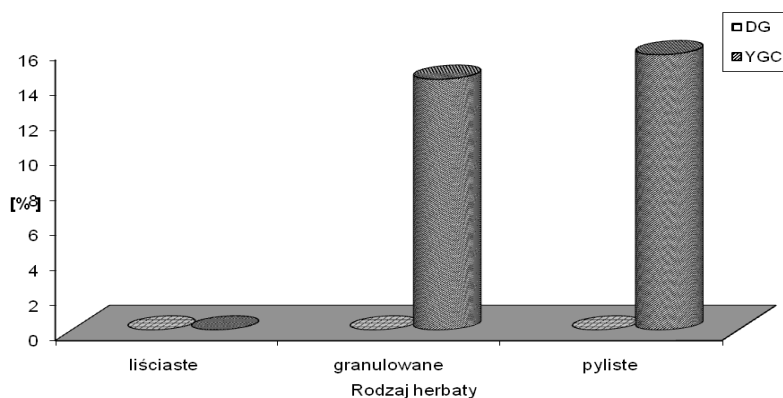
Stopień rozdrobnienia herbaty	Kraj pochodzenia herbaty	Liczba grzybów strzępkowych na podłożach log jtk/g	
		Podłoże DG	Podłoże YGC
Liściasta	Indie	2,36	1,84
	Chiny	1,7	2,30
	Sri Lanka	3,56	4,81
	Sri Lanka	1	1,77
	Wietnam	0	0
	Wietnam	0	1
Granulowana	Bangladesz	6,3	2,73
	Indie	1,7	1,30
	Indie	1,6	1,90
	Indie	3,94	3,93
	Indie	2,32	2,30
	Chiny	1,6	1,20
Pylista	Argentyna	3,92	2,04
	Indonezja	2,62	3,23
	Sri Lanka	2,62	3,7
	Iran	2,14	2,68
	RPA	0	2,2
	Wietnam	1,9	1
	Chiny	0	2,46

Ponad 15% badanych herbat wykazywało niewielki stopień zanieczyszczenia drożdżami, nie przekraczający jednak poziomu 2 log jtk/g (ryc. 1). Obecności drożdży nie stwierdzono tylko w próbkach herbat liściastych (ryc. 2). Herbaty pyliste wykazywały wyższy stopień zanieczyszczenia drożdżami w porównaniu z suszami o mniejszym stopniu rozdrobnienia.



Ryc. 1. Odsetek próbek herbaty wykazujących obecność drożdży.

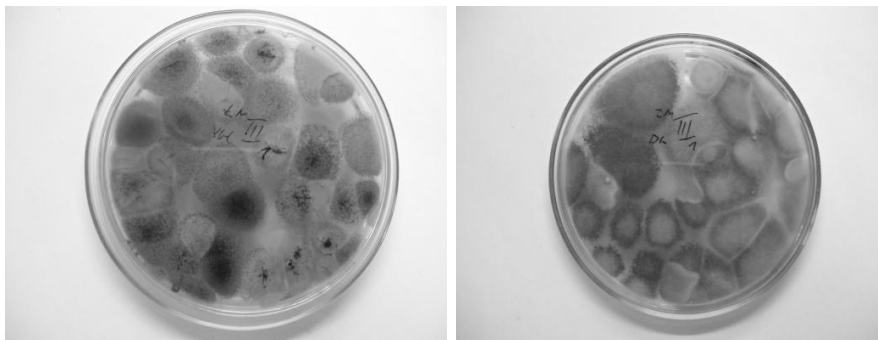
Fig. 1. Percentage value of tea samples indicates growth of yeast.



Ryc. 2. Odsetek próbek wykazujących obecność drożdży izolowanych z pożywek DG i YGC.

Fig. 2. Percentage value of samples with yeasts isolated from DG and YGC medium.

Makroskopowe oględziny grzybów strzępkowych wzrastających z badanych produktów wskazywały, że w 89% przypadkach były to pleśnie z rodzaju *Uclodium chartarum* (fot. 1). Pozostałe grzyby izolowane z herbat należały do *Chetomium elongatum*. W dwóch badanych próbkach zidentyfikowano *Verticillium tenerum*.



Fot. 1. *Uclodium chartarum* na podłożu YGC b. na podłożu DG.

Phot. 1. *Uclodium chartarum* growth in YGC medium, b. growth in DG medium.

Z danych literaturowych wynika, że czarna herbata wykazuje wpływ na redukcję populacji bakterii i grzybów. Dotyczy to jednak nie suszów ale ekstraktów z herbaty (5, 6, 12, 13). Niniejsze badania potwierdziły jednak, że herbaty czarne w formie suszu o określonym stopniu zawartości wody nie wykazują efektu hamującego w stosunku do grzybów strzępkowych. O ile obecność grzybów może być wynikiem sposobu uprawy, przechowywania, to obecność drożdży pochodzi z wtórnej reinfekcji. Przyczynę może stanowić brak GHP w procesie wytwarzania lub dystrybucji tego produktu.

Do oznaczania liczby pleśni w herbacie może być stosowane podłoże DG 18 stworzone przez Hockinga i Pitta z myślą o izolacji i oznaczaniu liczebności pleśni kserofilnych w produktach o niskim uwodnieniu. Jednakże w przypadku identyfikacji drożdży w obecnie badanych herbatach, większą wybiórczością odznaczało się podłoże YGC. W składzie tej pożywki dodatek dichloranu służy do inhibicji grzybów mukorowatych i to być może jest przyczyną lepszych warunków wzrostu drożdży. Uzyskane wyniki mogą również świadczyć o braku osmofilnych grzybów w badanych produktach.

Tylko w nielicznych odmianach herbaty wytypowanych do badań wykryto drożdże, jednak przy oznaczaniu ogólnej liczby na podłożu YGC odczytano zupełnie inne wartości niż na podłożu DG, co najlepiej prezentuje ryc. 2. Rezultaty badań wykazują, że podłoże DG nie nadaje się do oznaczania ogólnej liczby drożdży pochodzących z reinfekcji w produktach o niskiej zawartości wody.

Analiza danych na podstawie współczynników determinacji wyznaczonych w analizie korelacji liniowej wykazała, że w przypadku zarówno herbat liściastych jak i pylistych odzysk grzybów z badanych herbat jest wyższy na podłożu YGC w porównaniu z podłożem DG. W przypadku izolacji grzybów z herbat liściastych i pylistych współczynniki determinacji przybierały wartości odpowiednio: 0,845 i 0,829.

W herbatach liściastych i granulowanych poziom grzybów strzępkowych uzyskany na podłożu DG był jedynie w 15,2% próbek wyższy niż przy zastosowaniu podłoża YGC. W przypadku herbat pylistych odzysk drożdży był w 100% próbek obserwowany jedynie na pożywce YGC.

Identyfikacja rodzajowa grzybów strzępkowych wykazała, że dominującym gatunkiem pleśni w tych produktach był *Uclodium chartarum* fot. 1. Ten gatunek pleśni stwierdzano zarówno na podłożu DG jak i na YGC.

WNIOSKI

1. Podłoże DG nie nadaje się do oceny zanieczyszczenia herbat drożdżami.
2. Stwierdzono wyższą przydatność podłoża YGC do oznaczania grzybów strzępkowych w herbatach w porównaniu z podłożem DG.
3. Za dopuszczalny poziom zanieczyszczenia herbat grzybami strzępkowymi należałoby przyjąć 2,5-3 log jtk/g.
4. Jakościowym wskaźnikiem zanieczyszczenia herbat grzybami strzępkowymi powinna być pleśń z gatunku *Uclodium chartarum*.

I. Steinka, Ł. Misiewicz, A. Kukułowicz

INDICATOR OF BLACK TEA MICROBIAL QUALITY DETERMINATIONS

Summary

The aim of the study was to examine the contamination of tea with yeast and fungi. Several types of loose tea (leaf, granulated, and powdered) were selected to investigate the presence of fungi and yeast isolated on two media types: DG and YGC. Fifty seven samples of tea from India, China, Vietnam, Sri Lanka, Bangladesh, Indonesia, South Africa and Iran were examined. Over 15% of tea had small degree of yeast contamination, not exceeding 2 log cfu / g. The lowest level of fungi, 0 to -3.23 log cfu / g, was found in powdered tea. Granulated tea had the maximum amount of fungi. Macroscopic examination proved that 89% of fungi isolated from products studied were *Uclodium Chartarum*. Permissible level of contamination of tea with fungus should be considered as 2.5-3 log cfu / g. This amount was observed in 73.6% of the samples tested.

PIŚMIENNICTWO

1. Yamamoto T., Juneja L.R., Chu D.C., Kim M.: Chemistry and applications of green tea, CRC Press 1997.- 2. Wisburger J.H.: Tea and Health: the underlying mechanisms. Proc. Exper. Biol. Med., 1999; 271-275.- 3. Diker K.S., Hascelik G.: The bacterial activity of tea against *Helicobacter pylori*. Lett.

Appl. Microbiol., 1994; 19: 299-300.- 4. *Gomes A., Das M., Vedasiromani J.R., Ganguly D.K.*: Proconvulsive effect of tea (*Camellia sinensis*) in mice. *Phytother. Res.* 1999; 376-379.- 5. *Toda M., Okubo R., Hiyoshi S., Tadakatsu S.*: The bactericidal activity of tea and coffee. *Lett. Appl. Microbiol.*, 1989; 8: 123-125.- 6. *Toda M., Okubo S., Ikigai H., Suzuki T., Suzuki Y., Shimamura T.*: The protective activity of tea against infection by *Vibrio cholerae* 01. *Appl. Bacteriol.*, 1991; 70: 109-112.- 7. *Wu C.D., Wei G.X.*: Tea as a functional food for oral health. *Nutrition*, 2002; 18: 443-444.- 8. *Hamilton-Miller J.M. T., Shah S.*: Disorganization of cell division of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by a component of tea (*Camellia sinensis*): a study by electron microscopy. *FEMS Microbiol. Lett.* 1999; 176: 463-438.- 9. *Andrews J.M.*: Determination of minimum inhibitory concentrations. *J. Antimicrobial. Chem.*, 2001; 48(suppl.): 5-16.- 10. *Frei B., Hiogdon J.V.*: Antioxydant activity of tea polyphenols in vivo: Evidence from animal studies. *J. Nutr. Bioch.*, 2003; 133: 32755-32845.

11. *Pillai S.P., Mitcher S.R., Menon C.A. Shankel D.M.*: Antimutagenic/antioxidant activity of green tea components and related compounds. *Int. J. Oncol.* 1999; 18: 221-238.- 12. *Bancirova A.*: Comparison of antioxidant capacity and antimicrobial activity of black and green tea. *Food Res. Int.*, 2010; 43: 1379-1382.- 13. *Peng Q., Huang Y., Hou B., Yao F., Qian Y.*: Green tea extract weakens the antibacterial effect of amoxicillin in methicillin –resistant *Staphylococcus aureus* infected mice. *Phyt. Res.* 2010; 24: 141-145.- 14. *Śmiechowska M., Steinka I., Dmowski P., Parchem K.*: Microbiological contaminations in tea available on the domestic market. *Joint Proceedings*, 2006; 19: 40-43.- 15. *Steinka I.*: Mikrobiologia żywności i artykułów przemysłowych, 2011: Gdynia, 1-294.

Adres: 81-572 Gdynia, ul. Gryfa Pomorskiego 56E/11.

Helena Bis¹⁾, Ewa Mędreła-Kuder²⁾

CZYSTOŚĆ MIKROBIOLOGICZNA WYBRANYCH OWOCÓW DOSTARCZONYCH PRZEZ INDYWIDUALNYCH PRODUCENTÓW NA PLAC TARGOWY STARY KLEPARZ W KRAKOWIE

¹⁾ Katedra Mikrobiologii Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie
Kierownik: prof. dr hab. *W. Barabasz*

²⁾ Zakład Higieny i Wychowania Zdrowotnego
Akademii Wychowania Fizycznego w Krakowie
Kierownik: dr hab. *W. Wrona-Wolny*, prof. nadz.

Badaniami zostały objęte trzy gatunki owoców. Z każdego gatunku wybrano po dwie odmiany. Przebadano jabłka (Papierówka, Genewa), gruszki (Klops, Konferencja i Pigwę (Konstantynopol i Lescovacka). Badane owoce pochodziły od ogrodników z okolic Proszowic. Próbkę owoców pobrano w okresie od lipca do listopada 2010r., każdorazowo od tego samego producenta. Badania mikrobiologiczne przeprowadzono metodą rozciśnień. Wykonano pięć analiz, każdą w trzech powtórzeniach. W oparciu o uzyskane wyniki stwierdzono duże zróżnicowanie zarówno w składzie ilościowym i jakościowym mikroflory w zależności od gatunków i odmian badanych owoców. Zarówno wśród bakterii jak i grzybów wyizolowanych z badanych odmian owoców stwierdzono formy patogenne dla człowieka.

Hasła kluczowe: mikroflora, owoce, czystość mikrobiologiczna.

Key words: microflora, fruits, microbiological purity.

Owoce nie należą wprawdzie do podstawowych artykułów spożywczych i nie są w większości znaczącym źródłem energii, lecz jeśli chcemy utrzymać w dobrej kondycji i zdrowiu organizm, powinny się one znaleźć w składzie naszej codziennej zbilansowanej diety. Zawierają one wiele witamin, soli mineralnych, cukrów, kwasów organicznych, enzymów, fitoncydów oraz wiele innych ważnych związków odżywczych. Są również dobrym źródłem błonnika pokarmowego, który wpływa na prawidłowe funkcjonowanie układu pokarmowego człowieka (1). Istnieje przekonanie, że owoce kupowane na placu lub ze sprzedaży ulicznej są lepsze pod względem wartości odżywczej, a nawet „zdrowsze” od sprzedawanych w sieci handlowej.

Często sprzedawane są one bezpośrednio na ulicy lub targu, w warunkach sprzecznych z wszelkimi wymogami sanitarnymi. W Polsce nie ma bowiem norm dotyczących obecności zanieczyszczeń mikrobiologicznych na powierzchni świeżych owoców, a surowce te poddaje się jedynie ocenie organoleptycznej.

Wszystko to sprawia, że takie owoce mogą budzić obawy co do jakości zdrowotnej i przydatności spożywczej (2, 3).

Celem niniejszej pracy była ocena czystości mikrobiologicznej wybranych gatunków i odmian owoców zakupionych na jednym z placów targowych – Stary Kleparz w Krakowie.

MATERIAŁ I METODY

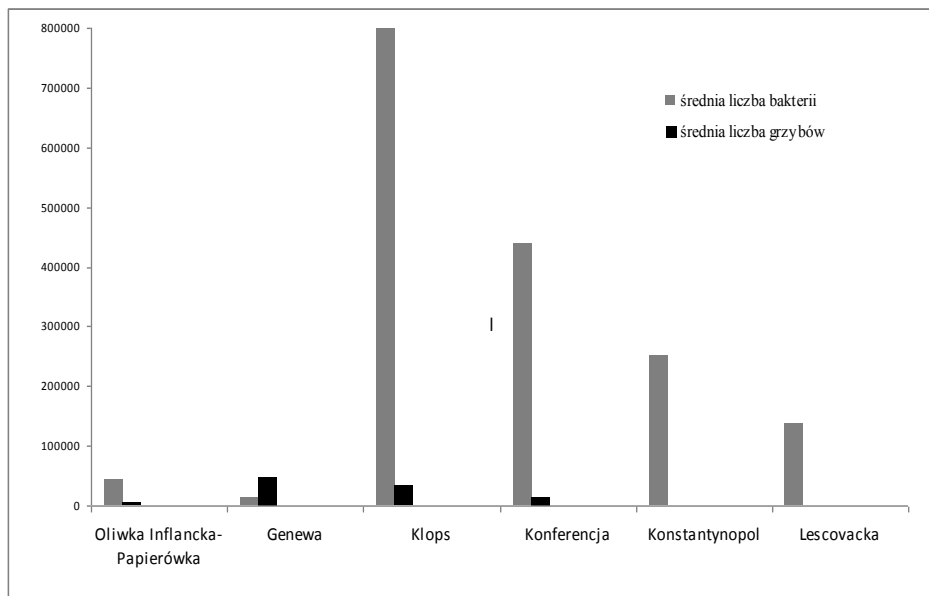
Badania mikrobiologiczne wybranych gatunków owoców przeprowadzono od lipca do listopada 2010 roku, kupując je każdorazowo od tego samego sprzedawcy (producenta). Badaniami zostały objęte trzy gatunki owoców: z każdego gatunku wybrano po dwie odmiany. Przebadano jabłka (Oliwka Inflancka - Papierówka, Genewa), gruszki (Klops, Konferencja) i pigwa (Konstantynopol, Lescovacka). Badane owoce pochodziły od ogrodników z okolic Proszowic. Produkty te nie były chłodzone ani konserwowane, a analizę mikrobiologiczną metodą rozcieńczeń wykonywano każdorazowo w ciągu dwóch godzin po dokonaniu zakupów. Wykonano pięć analiz, każdą w trzech powtórzeniach. Terminy badań dostosowano do okresu sprzedaży poszczególnych odmian owoców.

W przeprowadzonych badaniach uwzględniono: ogólną liczbę bakterii psychrofilnych i mezofilnych, liczbę bakterii proteolitycznych, gronkowców, bakterii z rodzaju *Salmonella* i *Shigella* oraz grzybów (*Micromycetes*) (4, 5). Oznaczono również obecność bakterii beztlenowych oraz miano coli i enterokoków. Badania przeprowadzono z wykorzystaniem standardowych podłoży używanych w mikrobiologii do hodowli poszczególnych grup drobnoustrojów firmy BioMerieux, Graso, Merck. Czas i temperaturę hodowli dostosowano również do ich wymogów.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wykonane analizy objęły badaniem po 15 prób każdej z odmian badanych owoców, dostarczonych na plac targowy Stary Kleparz w Krakowie, od trzech losowo wybranych sprzedawców (producentów). Otrzymane wyniki przedstawiono na rycinie 1. Na ich podstawie stwierdzono, że najwyższa średnia liczebność bakterii na powierzchni gruszki odmiany Klops (800 000 jtk/g), a najniższą jej wartość na jabłkach odmiany Genewa (11 000 jtk/g). Porównując ze sobą badane odmiany jabłek zaobserwowano, iż powierzchnia Oliwki Inflanckiej - Papierówka była znacznie bardziej zasiedlona bakteriami niż odmiana Genewa. Dla tej odmiany średnia wartość bakterii wynosiła 44 000 jtk/g i była czterokrotnie wyższa niż dla odmiany Genewa. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono także, że na powierzchni badanych odmian gruszek występowały duże różnice w ilości bakterii. Średnia ich wartość stwierdzona na powierzchni odmiany Klops była prawie o połowę większa niż na odmianie Konferencja (440 000 jtk/g). Podobną zależność

stwierdzono na powierzchni odmian pigwy. Na odmianie Lescovacka stwierdzono 136 000 jtk/g bakterii a na Konstantynopol 258 000 jtk/g.



Ryc. 1. Średnia liczba bakterii i grzybów występujących na powierzchni badanych owoców (jtk/g).

Fig. 1. Average number of bacteria and fungi on the surfach of the studiem fruits [cfu/g].

Na podstawie badań diagnostycznych przeprowadzonych w oparciu o klucz *Bergey'a* (6) i testy API stwierdzono na powierzchni badanych odmian owoców bakterie należce do 13 rodzajów: *Aeromonas*, *Bacillus*, *Bacterium*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*. Spośród przebadanych próbek stwierdzono aż w 72% obecność tych bakterii na powierzchni jabłek, w 56% na gruszkach i w 42% na powierzchni pigwy, co świadczy o silnym zanieczyszczeniu bakteryjnym tych owoców. Biorąc pod uwagę stan sanitarno – higieniczny tych owoców należy stwierdzić, że 45% prób jabłek nie powinno się znajdować w sprzedaży ze względu na obecność na ich powierzchni bakterii chorobotwórczych z rodzaju *Shigella*, *Salmonella*, paciorkowców kałowych oraz bakterii grupy coli. Analiza statystyczna wykazała istotne różnice pomiędzy poszczególnymi odmianami badanych owoców (test *Kruskal'a –Wallis'a*: $p > 0.05$). Częściej występowały one na powierzchni owoców odmiany Papierówka niż Genewa. Na powierzchni gruszek odmiany Klops (40% badanych prób) stwierdzono znacznie większe ilości bakterii chorobotwórczych niż na odmianie Konferencja (30% badanych prób). Podobną zależność stwierdzono na powierzchni pigwy. Na

odmianie Lescovacka stwierdzono bakterii chorobotwórczych w 30% badanych prób a na odmianie Konstantynopol tylko w 15%.

Oceniając czystość mikrobiologiczną badanych odmian owoców wzięto także pod uwagę obecność grzybów – *Micromycetes* jako czynnika powodującego różne choroby owoców i producenta groźnych dla człowieka metabolitów – mikotoksyn. Największą średnią liczebność grzybów stwierdzono na odmianie jabłek Genewa (48 000 jtk/g), natomiast prawie dziesięciokrotnie mniej na powierzchni odmiany Papierówka (5 000 jtk/g). W przypadku odmian gruszek stwierdzono, że na powierzchni owoców odmiany Klops średnia liczebność grzybów (33 000 jtk/g) jest ponad dwukrotnie większa niż na odmianie Konferencja (15 000 jtk/g). Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono także fakt, że na powierzchni owoców pigwy występują zdecydowanie mniejsze ilości grzybów w porównaniu z jabłkami i gruszkami. Podczas badań diagnostycznych stwierdzono na powierzchni owoców obecność 20 gatunków grzybów: *Alternaria alternata*, *Alternaria geophila*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium herbarum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium lateritium*, *Monilia fructigena*, *Mucor hiemalis*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium granulatum*, *Penicillium notatum*, *Rhizopus nigricans*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Trichoderma viride*, *Trichothecium roseum*.

Przeprowadzone badania wykazały, że na powierzchni owoców jabłek stwierdzono mniejsze zróżnicowanie gatunków grzybów (Genewa – 12, Papierówka – 9) niż na odmianie gruszek (Klops – 20, Konferencja – 13). Najmniejsze zróżnicowanie gatunkowe grzybów stwierdzono jednak na pigwie (Lescovacka – 7, Konstantynopol – 10). Bardzo ważnym parametrem jakości mikrobiologicznej żywności jest jej bezpieczeństwo tzn. brak patogenów i ich toksyn, przy minimalnej ilości mikroflory saprofitycznej, która jest niezdolna do rozwoju we właściwych warunkach przechowywania. Współczesny stan wiedzy na temat drobnoustrojów zasiedlających owoce jest wciąż niewystarczający. Mikrobiologiczne zakażenia żywności są od wielu lat badane, dzięki czemu poznana została mikroflora zanieczyszczająca oraz efekty jej metabolizmu. Problem polega na znalezieniu relacji pomiędzy składem mikrobiologicznym, jego metabolitami oraz oceną i możliwościami przewidzenia wystąpienia owych zanieczyszczeń (7-9).

Niewłaściwy sposób postępowania podczas zbioru oraz przechowywania owoców, może stać się powodem zakażenia ich różnego rodzaju mikroflorą. Wynikiem tego będą negatywne zmiany w chemicznym składzie tych produktów, tworzenie się związków lotnych oraz kwasów organicznych, co z kolei wpłynie na pogorszenie się ich właściwości sensorycznych. Długie magazynowanie owoców, nawet przy zapewnieniu im właściwej temperatury i wilgotności, jest często przyczyną ich wysychania, co wiąże się z utratą jędrności i wzmoczoną podatnością na rozwój mikroflory gnilnej i grzybów mikroskopowych. Stan mikrobiologiczny żywności jest ważnym kryterium jej jakości i przydatności do spożycia, ponieważ decyduje o trwałości owoców oraz stabilności właściwości sensorycznych (3, 10-12).

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono występowanie na powierzchni wybranych do doświadczenia odmian owoców wielu bakterii (np. *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Shigella*, enterokoki, bakterie grupy coli) i grzybów (np. *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*), których obecność powinna wyeliminować te owoce ze sprzedaży i spożycia.

WNIOSKI

1. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono znaczne zróżnicowanie składu ilościowego i jakościowego mikroflory badanych owoców, w zależności od gatunku i odmiany.

2. Na powierzchni przebadanych owoców stwierdzono występowanie patogennych drobnoustrojów dla człowieka, co dyskwalifikuje je do spożycia.

3. Wśród wyizolowanych gatunków grzybów stwierdzono gatunki potencjalnie toksynotwórcze np.: *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *Fusarium culmorum* i *Penicillium digitatum*.

4. Stwierdzony stan sanitarno higieniczny badanych odmian może być spowodowany złymi warunkami zbioru, przechowywania, transportu oraz sprzedaży.

H. Bis, E. Mędreła-Kuder

MICROBIOLOGICAL PURITY OF SELECTED FRUITS SUPPLIED BY INDIVIDUAL PRODUCERS TO THE STARY KLEPARZ MARKET PLACE IN KRAKÓW

Summary

The aim of my study was quantitative analysis and identification of microflora on the surface of the selected fruits, which were available on market places. Microbiological analyses of the surface of the selected fruit species were conducted from July to November 2010. The study included three species of fruits – apples, pears, quince. Two varieties were selected for each species. The composition of the surface microflora of the examined fruit varieties was analysed five times in triplicates. The analyses of fruits microbiological purity consisted of the following numbers: total bacteria, proteolytic bacteria, *Salmonella* sp., *Shigella* sp., staphylococci, fungi (*Micromycetes*). Total coli forms and enterococci count presence of anaerobic bacteria. The tests were performed on standard microbiological media. Culture conditions (time and temperature) were admitted to the requirements of individual microbial groups. Based on the results of the study it was concluded, that quantitative and qualitative composition of fruit microflora varied significantly depending on the fruit species and varieties. A significant number of pathogenic bacteria and potentially toxicogenic fungi was detected. Clients believe, that nutritional value of fruits sold on market places is superior. Based on the completed experiments it was shown that microbial pollution of these fruits is severe.

PIŚMIENNICTWO

1. *Włodarek D.*: Znaczenie warzyw i owoców, *Żywność dla zdrowia*, 2009; 10: 15-16.– 2. *Dubiel L.*: Kontrola mikrobiologiczna, *Przem. Ferment. Owoc. Warz.*, 1992; 11: 25.– 3. *Drewniak E., Drewniak T.*: Mikrobiologia żywności, Wyd. WSiP, 2001; 60-65.– 4. *Klich M.A.*: Identification of Common *Aspergillus* Species. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, An institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences, 2002; 7-100.– 5. *Samson R.A., Frisvad J.C.*: *Penicillium* subgenus *penicillium* i new taxonomic schemes, mycotoxins and other extrolites. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, An institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences, 2004.– 6. *Holt J.G.* (ed.): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, William and Wilkins Company, Baltimore, Hong Kong, Londyn, Sydney, 1984.– 7. *Wieczorek C.*: Mikologiczne skażenie żywności, *Żywność*, Wyd. PTTŻ, 2003; 3: 119-128.– 8. *Żakowska Z., Stobińska H.*: Mikrobiologia i higiena w przemyśle spożywczym, WPL, 2000; 27-30.– 9. *Jay J.*: *Modern food microbiology*, Aspen Publishers Inc., Gaithersburg, Maryland, USA, 2000; 1-45.– 10. *Redmond E., Griffith C.*: Consumer perceptions of food safety risk, control and responsibility, *Appetite*, 2004; 43: 309-313.– 11. *Żakowska Z., Piątkiewicz A.*: Mikrobiologia i higiena w przemyśle spożywczym, *Przem. Spoż.*, 1997; 5: 10.– 12. *Dzwolak W.*: Niebezpieczne warzywa i owoce, *Przem. Spoż.*, 2008; 9: 51-55.

Adres: 30-059 Kraków, Al. A. Mickiewicza 24/28.

Sylwia Bonin, Paweł Baldyga, Edyta Lipińska

STAN MIKROBIOLOGICZNY PRODUKCJI ZAGĘSZCZONEGO SOKU JABŁKOWEGO

Zakład Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Wydziału Nauk o Żywności
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
Kierownik: dr hab. *S. Błażej*

Celem pracy było określenie zanieczyszczeń mikrobiologicznych w czasie produkcji zagęszczonego soku jabłkowego w jednym z krajowych Zakładów Przemysłowych. Próbkę pobierano w trzech seriach: pod koniec października, w połowie i pod koniec listopada, bezpośrednio z linii produkcyjnej. Stwierdzono, że w kolejnych seriach poziom zanieczyszczeń surowca wzrastał. W kolejnych etapach produkcji liczba pleśni i drożdży ulegała wahaniom – zarówno obniżała się, jak i wzrastała. Jednak produkt finalny – koncentrat, dzięki zastosowaniu wysokiej temperatury w czasie zagęszczania, był dobrej jakości mikrobiologicznej.

Hasła kluczowe: koncentrat jabłkowy, zanieczyszczenia mikrobiologiczne, drożdże, pleśnie.

Key words: apple juice concentrate, microbiological contaminations, yeasts, molds.

Polska jest czołowym producentem jabłek i koncentratu jabłkowego w Europie. Zbiory jabłek wynoszą rocznie średnio 2-2,5 mln ton. W 2008 roku zebrano ponad 2,8 mln ton, co było rekordowym wynikiem. Jednak ze względu na niekorzystne warunki meteorologiczne w roku 2010 zebrano około 1,8-1,9 mln ton jabłek. Znaczna część jabłek jest przeznaczana do produkcji zagęszczonego soku jabłkowego. W Polsce produkuje się go zazwyczaj ponad 200 tys. ton rocznie. Pod względem ilości produkowanego koncentratu soku jabłkowego Polska zajmuje pierwszą pozycję w Europie i drugie miejsce na świecie, po Chinach, gdzie roczna produkcja koncentratu jabłkowego wynosi około 650 tys. ton, z czego około 90% jest przeznaczony na eksport (1-3).

Produkcję zagęszczonych soków owocowych na skalę przemysłową rozpoczęto w Polsce w latach 60-tych XX wieku, jako metodę konserwacji i przechowywania surowca. Metoda ta jest bardzo rozpowszechniona ze względu na całkowite ograniczenie stosowania chemicznych środków konserwujących i stanowi ważną gałąź krajowego przetwórstwa przemysłu owocowo-warzywnego (4).

Zagęszczony sok jabłkowy jest produkowany z jabłek będących mieszaniną odmian przemysłowych i deserowych. Jabłka po dostarczeniu do zakładu są rozładowywane do betonowych, splawiakowych zbiorników, skąd

hydrotransportem są kierowane na taśmę inspekcyjną, po czym są myte i kierowane do rozdrabniania. Sposób rozdrabniania zależy od dojrzałości owoców i rodzaju stosowanej prasy do tłoczenia. W przypadku pras warstwowych miazga nie może być zbyt drobna, a w przypadku pras koszowych rozdrobnienie może być większe. Kolejnym etapem jest tłoczenie miazgi. Aby poprawić wydajność tłoczenia do miazgi dodaje się preparaty enzymatyczne. Najczęściej stosuje się preparaty pektynolityczne, które rozkładają substancje pektynowe i zmniejszają lepkość wydzielanego soku. Proces tłoczenia, w badanym Zakładzie, odbywał się w prasie koszowej typu Bucher-Guyer. Otrzymany moszcz surowy zawiera wiele substancji lotnych, które kształtują jego aromat i smak. Aby związki te nie uległy odparowaniu w procesie zagęszczania, aromat jest odbierany. Następnie zdearomatyzowany moszcz surowy poddaje się pasteryzacji. Po schłodzeniu spasteryzowanego moszczu prowadzi się jego obróbkę enzymatyczną, w celu rozłożenia substancji, takich jak: pektyny, skrobia, arabany. Związki te mogłyby wytrącić się w późniejszych etapach cyklu produkcyjnego i utrudniać filtrację, którą w badanym Zakładzie prowadzona metodą ultrafiltracji. Polega ona na oddzieleniu mikrocząstek przez membrany o właściwościach błon półprzepuszczalnych. Na koniec ultrafiltrat poddawany jest pięciostopniowemu zagęszczaniu (koncentracji) w stacji wyparnej, w temperaturze 111°C ($\pm 5^\circ\text{C}$). W tym miejscu linii technologicznej znajduje się krytyczny punkt kontrolny, jeżeli temperatura zagęszczania spadnie do wartości 105°C lub niżej, to koncentrat, który opuszcza stację wyparną jest zawracany do ponownej obróbki cieplnej. Po zagęszczaniu koncentrat jest chłodzony dwustopniowo do temperatury 6°C (4).

Celem pracy było określenie poziomu zanieczyszczeń mikrobiologicznych w czasie produkcji zagęszczonego soku jabłkowego w jednym z krajowych Zakładów Przemysłowych.

MATERIAŁ I METODY

Wszystkie próbki do badań zostały pobrane bezpośrednio z linii produkcyjnej Zakładu przetwarzającego owoce na zagęszczony sok jabłkowy. Materiał badawczy pochodził z kolejnych etapów produkcji. Były to: jabłka przed myciem, pobierane wprost z przemy; jabłka po myciu, pochodzące z taśmy inspekcyjnej; miazga; moszcz surowy; moszcz po pasteryzacji i depektynizacji; ultrafiltrat; koncentrat. Próbki podczas pobytu w Zakładzie produkcyjnym oraz w czasie transportu do laboratorium były przechowywane w lodówce, a następnie niezwłocznie badane. Jabłka przed myciem i jabłka po myciu były pobierane w całości, a następnie przed analizą były rozdrabniane w młynku laboratoryjny.

Oznaczenie liczby drożdży i pleśni zostało wykonane metodą płytkową z użyciem podłoża Sabourauda z chloramfenikolem (dodawanym w celu zahamowania rozwoju bakterii). Do przygotowania rozcieńczeń stosowano roztwory soli fizjologicznej. Podłoże hodowlane i roztwory soli fizjologicznej do rozcieńczeń, były sterylizowane w autoklawie w temperaturze 120°C, przez okres 20 minut.

Posiewy wykonywano metodą węglbną. Inkubacja odbywała się w temperaturze 28°C przez 7 dni.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Jabłka są przede wszystkim bogate w węglowodany, których zawierają średnio ok. 13–14% oraz charakteryzują się wysoką zawartością wody, wynoszącą ok. 85%. Zatem są surowcem szczególnie podatnym na zepsucia powodowane przez pleśnie i drożdże. Poza tym pH soku jabłkowego, które wynosi 3,5–4,5 jest optymalne dla rozwoju tej grupy drobnoustrojów, natomiast czyni jabłka środowiskiem niesprzyjającym dla rozwoju bakterii, które z reguły preferują pH neutralne lub wyższe (5, 6).

Liczbę drożdży i pleśni na poszczególnych etapach produkcji (tab. I) przedstawiono z podziałem na serie, ponieważ jabłka pochodziły od wielu różnych dostawców, co powodowało niejednorodność surowca, a poza tym każda seria była pobrana w innym czasie. Materiał z serii pierwszej pobrano 23 października, z serii drugiej 13 listopada, a trzeciej – 20 listopada.

Tabela 1. Liczba komórek drożdży i pleśni w próbach z kolejnych etapów procesu produkcyjnego [jtk/cm³/g]

Table 1. The amount of yeasts and molds in samples from subsequent steps of production process [cfu/cm³/g]

Rodzaj próbki	Seria 1		Seria 2		Seria 3	
	Pleśnie	Drożdże	Pleśnie	Drożdże	Pleśnie	Drożdże
Jabłka przed myciem	$1,2 \times 10^3$	$2,3 \times 10^2$	$1,9 \times 10^3$	$3,2 \times 10^3$	$8,3 \times 10^3$	$1,2 \times 10^4$
Jabłka po myciu	$7,5 \times 10^2$	$3,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	$1,0 \times 10^3$	$6,3 \times 10^3$	$1,2 \times 10^4$
Miazga	$7,3 \times 10^2$	$5,0 \times 10^4$	$9,0 \times 10^1$	$9,0 \times 10^2$	$8,9 \times 10^2$	$1,1 \times 10^4$
Moszcz surowy	$3,5 \times 10^2$	$>3,0 \times 10^5$	$3,0 \times 10^0$	$>3,0 \times 10^5$	0×10^0	$>3,0 \times 10^5$
Moszcz po depektynizacji i pasteryzacji	0×10^0	0×10^0	0×10^0	0×10^0	$1,0 \times 10^0$	5×10^0
Ultrafiltrat	0×10^0	$3,8 \times 10^2$	$3,6 \times 10^2$	$3,7 \times 10^2$	0×10^0	$4,4 \times 10^2$
Koncentrat	$1,0 \times 10^0$	0×10^0	$2,0 \times 10^0$	$2,0 \times 10^0$	4×10^0	$8,3 \times 10^1$

W serii pierwszej liczba pleśni w jabłkach przed myciem wynosiła $1,2 \times 10^3$ jtk/g, proces mycia obniżył liczbę pleśni do $7,5 \times 10^2$ jtk/g, która utrzymywała się na podobnym poziomie w miazdze i moszczu surowym. Natomiast zakażenie komórkami drożdżowymi jabłek świeżych wynosiło $2,3 \times 10^2$ jtk/g i wzrastało do powyżej $3,0 \times 10^5$ jtk/cm³ w moszczu surowym. Proces pasteryzacji spowodował obniżenie liczby drożdży i pleśni do zera jtk/cm³. Jednak następny proces - ultrafiltracja, spowodował zakażenie wtórne półproduktu drożdżami. Końcowy proces zagęszczania soku, odbywający się w temperaturze 111°C, ponownie zmniejszył ich liczbę do zera jtk/cm³.

W drugiej serii, podobnie jak w pierwszej, liczba pleśni malała od $1,9 \times 10^3$ jtk/g w jabłkach przed myciem do zera jtk/cm³ w moszczu po pasteryzacji. Jednak

półprodukt został wtórnie zakażony pleśniami na etapie ultrafiltracji. A następnie w procesie zagęszczania pleśnie zostały wyeliminowane. Liczba drożdży, podobnie jak w serii pierwszej, nieznacznie malała od jabłek świeżych, w których było $3,2 \times 10^3$ jtk/g, do etapu miazgi, kiedy stwierdzono 9×10^2 jtk/cm³. Następnie w moszczu surowym liczba wzrosła do powyżej 3×10^5 jtk/cm³, a etap pasteryzacji obniżył liczbę komórek drożdżowych do zera jtk/cm³. W trakcie ultrafiltracji, tak jak w serii pierwszej, liczba komórek drożdży wzrosła do poziomu 10^2 jtk/cm³, po czym została zredukowana w etapie zagęszczania.

W trzeciej serii podobnie, jak w przypadku serii pierwszej, liczba pleśni zmniejszała się podczas przebiegu całego procesu produkcyjnego. Przy czym największa redukcja nastąpiła po pasteryzacji. Natomiast liczba drożdży kształtowała się na stałym poziomie około $1,2 \times 10^4$ jtk/cm³ od jabłek przed myciem do miazgi surowej, a po jej tłoczeniu w moszczu surowym ilość drożdży wzrosła do poziomu powyżej $3,0 \times 10^5$ jtk/cm³. Jednak już w następnym etapie (pasteryzacja i depektynizacja) liczba drożdży została zredukowana. Kolejny etap, podobnie jak w poprzednich seriach, spowodował wtórne zakażenie półproduktu do poziomu $4,4 \times 10^2$ jtk/cm³. Koncentracja nie wyeliminowała tym razem wszystkich drożdży, gdyż w koncentracie stwierdzono jeszcze $8,3 \times 10^1$ jtk/cm³.

Porównując wyniki pomiędzy poszczególnymi seriami można zauważyć, że wraz z postępowaniem kampanii zwiększa się początkowe zanieczyszczenie jabłek zarówno drożdżami, jak i pleśniami: w pierwszej serii liczba pleśni w jabłkach przed myciem wynosiła $1,2 \times 10^3$ jtk/g, a drożdży - $2,3 \times 10^2$ jtk/g, w trzeciej odpowiednio $8,3 \times 10^3$ jtk/g i $1,2 \times 10^4$ jtk/g. W jabłkach może się znajdować 10^3 - 10^6 jtk/g drożdży i 0- 10^4 jtk/g pleśni (6).

W każdej z serii na etapie wyłaczania miazgi – produkcji moszczu surowego następowało zwiększenie liczby drożdży, spowodowane prawdopodobnie drobnoustrojami pochodzącymi ze ścianek pras oraz z tkaniny, przez którą miazga była wyłaczana. Za każdym razem proces pasteryzacji skutecznie ograniczał liczbę drożdży i pleśni w produkcie, i każdorazowo produkt ten był ponownie zakażony (głównie drożdżami) w procesie ultrafiltracji, co spowodowane jest prawdopodobnie osadzeniem się komórek drożdżowych wewnątrz ultrafiltru i wypłukiwaniem ich razem z ultrafiltratem. Jednak proces technologiczny pozwalał na wyeliminowanie tego zagrożenia poprzez obróbkę termiczną półproduktu w trakcie zagęszczania. Na tym etapie był również zlokalizowany krytyczny punkt kontrolny procesu.

W ramach pracy przeprowadzono także wstępną charakterystykę pleśni. Stwierdzono obecność kilku gatunków pleśni z rodzaju *Penicillium*, a także takich rodzajów jak: *Rhizopus*, *Cladosporium* i *Fusarium*, przy czym ich liczebność była zróżnicowana. W rozcieńczeniu 10^{-3} pojawiały się głównie pleśnie z rodzaju *Penicillium*.

Naturalnie na jabłkach znajdują się pleśnie z rodzajów: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Nodulisporium*, *Phoma*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Phialophora*, *Phomopsis*, *Stemphiliium*, *Fusarium*, *Penicillium*. Potencjalnie mykotoksyny mogą być wytwarzane przez pleśnie z rodzaju *Penicillium*, *Alternaria*

i *Aspergillus* (7). Na jabłkach są obecne różne gatunki pleśni z rodzaju *Penicillium*, np.: *P. expansum*, *P. aurantiogriseum*, *P. solitum*, *P. fungiculosum* (8).

Mykotoksyną najczęściej obecną w jabłkach i ich przetworach jest patulina. Jest ona wytwarzana głównie przez *Penicilium expansum*, które powoduje tzw. niebieską pleśń. *P. expansum* rośnie w niskich temperaturach, zatem w warunkach przechowalniczych możliwe jest również wytwarzanie patuliny (8). Ponadto jest ona termostabilna i nie rozkłada się w procesie pasteryzacji soku (9).

W badaniach modelowych (10), wykazano stabilność patuliny w temperaturze 100°C przez 15 min w pH wynoszącym 2.0. Pasteryzacja, pomimo że nie rozkłada patuliny, to zmniejsza ryzyko jej wytworzenia, ponieważ eliminuje pleśnie, odpowiedzialne za jej produkcję.

W prowadzonej równolegle na tych samych próbkach pracy, dotyczącej oceny zawartości patuliny, stwierdzono że w badanych próbkach poziom tej mykotoksyny nie przekroczył dopuszczalnego poziomu tj, 50 µg/kg (11).

WNIOSKI

1. Wraz z postępowaniem kampanii zwiększa się początkowe zanieczyszczenie jabłek, zarówno drożdżami, jak i pleśniami.
2. Podczas tłoczenia miazgi – w produkcji moszczu surowego, następowało zwiększenie liczby drożdży.
3. Proces pasteryzacji skutecznie ograniczał liczbę drożdży i pleśni w produkcji, jednak następowało ponowne zakażenie (głównie drożdżami) w procesie ultrafiltracji.
4. Proces zagęszczania eliminuje zanieczyszczenia mikrobiologiczne.

S. Bonin, P. Bałdyga, E. Lipińska

MICROBIAL QUALITY DURING THE PRODUCTION OF APPLE JUICE CONCENTRATE

Summary

The aim of this work was the examination of microbial contamination during the process of production of apple juice concentrate conducted in one of the Polish factories. The samples were collected directly from the production line in three series: in late October, mid November, and late November. It was stated that the level of microbial contamination increased in each subsequent series. The number of molds and yeasts fluctuated in subsequent steps of production. The increase as well as a decrease was observed. However microbial quality of the final product – the juice concentrate - was good because of using the high temperature in the time of concentration.

PIŚMIENNICTWO

1. Produkcja koncentratu jabłkowego w Polsce, źródło: http://www.fresh-market.pl/katalog_produkow/owoce/jablka/produkcja, data pobrania: 14.02.2011. – 2. Nosecka B.: Sytuacja na

rynku jabłek deserowych w sezonie 2010/11, www.sadinfo.pl, data pobrania: 20.03.2011.– 3. Chiny: rynek jabłek, źródło: http://www.fresh-market.pl/katalog_produkow/owoce/jablka/rynki_i_handel_zagraniczny, data pobrania: 14.02.2011.– 4. Jarczyk A., Berdowski J.B.: Przetwórstwo owoców i warzyw, część 1, Wyd. WSiP, Warszawa, 1997.– 5. Gawęcki J., Libudzisz Z.: Mikroorganizmy w żywności i żywieniu, Wyd. A.R., Poznań, 2006.– 6. Burbianka M., Pliszka A., Burzyńska H.: Mikrobiologia żywności, Wyd. PZWL, Warszawa, 1983.– 7. Granado J., Thürig B., Kieffer E., Petrini L., Fließbach A., Tamm L., Weibel F.P., Wyss G.S.: Culturable fungi of stored “Golden Delicious” apple fruits: A one-season comparison study of organic and integrated production systems in Switzerland, *Microbial Ecology*, 2008; 56: 720-732.– 8. Pitt J.I., Hocking A.D.: The Fungi and Food Spoilage, Springer Science+Business Media, 2009.– 9. de Souza Sant’Ana A., Rosenthal A., de Massaguer P.R.: The fate of patulin in apple juice processing: A review, *Food Res. Internat*, 2008; 41: 441-453.– 10. Scott P.M., Somers E.: Stability of patulin and penicillic acid in fruit juices and flour, *J. Agricult. Food Chem.*, 1986, 16: 483-485.

11. Sękul J.: Ocena zawartości patuliny w zagęszczonym soku jabłkowym z uwzględnieniem etapów procesu produkcyjnego, 2009, praca magisterska wykonana w Zakładzie Oceny Jakości Żywności SGGW w Warszawie.

Adres: 02-776 Warszawa, Nowoursynowska 159c.

Grażyna Pokorska-Lis, Andrzej Tokarz, Marta Robaczewska

AZOTANY W HERBATACH, HERBATKACH OWOCOWYCH I ZIOŁOWYCH OBECNYCH AKTUALNIE NA POLSKIM RYNKU

Katedra i Zakład Bromatologii Uniwersytetu Medycznego w Warszawie

Kierownik: prof. nadzw. dr hab. A. Tokarz

Podjęto próbę oceny skażenia azotanami (III) i (V) herbat, herbatek owocowych i ziołowych dostępnych na polskim rynku w roku 2010. Oznaczono zawartość tych związków w 31 produktach zarówno w suszu i w naparze.

Hasła kluczowe: azotany(V), azotany(III), herbaty, herbatki owocowe i ziołowe.

Key words: nitrate, nitrite, teas, fruit, herbal.

Jednym z najbardziej popularnych i najchętniej spożywanych napojów świata jest herbata. Pod tym pojęciem konsumenci rozumieją herbatę czarną i pozostałe jej odmiany pozyskiwane w różnych procesach technologicznych, jak również herbatki owocowe i ziołowe, spożywane jako napoje o odpowiednich walorach smakowych, jak i w celach prozdrowotnych w związku z rosnącym zainteresowaniem fitoterapią.

Problem obecności azotanów w produktach pochodzenia roślinnego dotyczy również herbat i wszelkich mieszanek owocowo-ziołowych. W związku z dużą popularnością jaką cieszą się te produkty można je uznać za znaczące źródło azotanów w codziennej diecie. Co ważne, całkowita ilość tych związków przyjmowana przez człowieka nie pochodzi jedynie z suszu ale także z wody, która używana jest do przyrządzenia naparów (1).

Liczne badania, w tym również wykonane w Katedrze i Zakładzie Bromatologii WUM w 1998 roku (2), wykazały znaczne zróżnicowania zawartości tych ksenobiotyków w poszczególnych gatunkach herbat i ziół. Szczególnie wysokimi zawartościami azotanów odznaczają się mięta, pokrzywa i melisa (3, 4, 7-11).

Celem prezentowanej pracy była ocena skażenia azotanami (III) i (V) herbat, herbatek owocowych oraz ziołowych dostępnych na polskim rynku w roku 2010. Oznaczono zawartość tych związków zarówno w suszu jak i w naparze, sporządzonym zgodnie z zaleceniami producenta.

MATERIAŁ I METODY

Analizie poddano 31 rodzajów herbat pochodzących od 6. różnych producentów. Zawartość azotanów (III) i azotanów (V) oznaczono w herbatach czarnych,

zielonych, zielonych z dodatkami, owocowych i ziołowych. Zbadano również 2. próbki wody wodociągowej pobrane w różnych dniach przeprowadzanego eksperymentu.

W przypadku herbat, w których stwierdzono wysoką zawartość azotanów (V), przeprowadzono oznaczenie stężeń azotanów w naparach sporządzonych zgodnie z zaleceniami producenta.

Azotany (III) i (V) oznaczono metodą spektrofotometryczną z użyciem odczynników Griessa, opisaną przez Polską Normę PN-92/A-75112 (12). Do analizy wyników wykorzystano test *t-Studenta*. Odzysk azotanów (V) w zależności od zawartości wynosił średnio 89%, przy zdolności redukcyjnej kadmu 95-103%.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Analizie poddano łącznie 31 gatunków herbat, herbatki owocowych i ziołowych, pochodzących od 6. różnych producentów, 2. próbki wody wodociągowej pobrane w różnych dniach eksperymentu oraz 10 naparów sporządzonych z herbat o wysokiej zawartości azotanów (V), tj:

- 8 herbat zielonych (tab.I pkt.3-10)
- 6 herbat czarnych (tab.I pkt. 11-16)
- 2 herbatki owocowe (tab.I pkt.17-18)
- 4 herbatki ziołowe (tab.I pkt.19-22)
- 11 mieszanek ziołowych o bardzo różnorodnym składzie (tab.I pkt. 23-33)

Wyniki oznaczeń zawartości azotanów (III) i (V) próbkach wody, w herbatach, herbatkach owocowych i ziołowych oraz mieszankach i naparach przedstawiono w tabelach I i II.

Azotany (III) i (V) wykrywane w herbatach stanowią ich zanieczyszczenia. Obecność tych ksenobiotyków wynika zarówno z procesu nawożenia uprawianych roślin, jak i z ich predyspozycji do akumulacji azotanów przez poszczególne gatunki. Obecnie brak jest norm określających dopuszczalną zawartość azotanów (III) i (V) w tego typu produktach, a ze względu na udokumentowaną ich toksyczność istnieje potrzeba monitorowania stężenia tych związków na etapie produkcji (13-18).

Na podstawie analizy próbek wody wodociągowej pobranych w dniach 3-III-2010 r. oraz 27-IV-2010 r. stwierdzono przekroczenie limitu zawartości azotanów (III) w wodzie w obu próbkach, natomiast dopuszczalny limit azotanów (V) w żadnym przypadku nie został przekroczony. Poziom azotanów (III) wyniósł średnio $0,15 \text{ mg NO}_2^-/\text{dm}^3$ ($0,23 \text{ mg NaNO}_2/\text{dm}^3$), podczas gdy dopuszczalną ilością jest $0,1 \text{ mg NO}_2^-/\text{dm}^3$. W przypadku azotanów (V) średnia zawartość wyniosła $13,48 \text{ mg NO}_3^-/\text{dm}^3$ ($21,97 \text{ mg KNO}_3/\text{dm}^3$) przy limicie $50 \text{ mg}/\text{dm}^3$ (tab.I pkt. 1-2) (6).

Z danych zbiorczych przedstawionych w tabeli I wynika, że zawartość azotanów (III) w herbatach mieści się w granicach od wartości śladowych do $7,84 \text{ mg NaNO}_2/\text{kg}$, wynosząc średnio $3,65 \text{ mg NaNO}_2/\text{kg}$. Największą ilość NaNO_2 stwierdzono w herbacie czarnej aromatyzowanej Peach Mango (tab.I pkt.16), przy

równoczesnej obecności KNO_3 w ilości 79,65 mg/kg. Wartości śladowe NaNO_2 odnotowano w przypadku herbaty zielonej jaśminowej oraz herbaty zielonej miętowej. Jednocześnie stężenia azotanów (V) wynosiły odpowiednio - 87,33 mg KNO_3/kg i 530,69 mg KNO_3/kg (tab.I pkt 6,7).

Tabela I. Zawartość azotanów (III) i azotanów (V) w wybranych gatunkach herbat

Table I. Nitrite and nitrate content of selected tea sorts

Lp.	Badany produkt	NaNO_2 [mg/kg]	KNO_3 [mg/kg]
1.	Woda wodociągowa z dnia 3 III 2010 r.	0,26 ± 0,10	27,85 ± 0,36
2.	27 IV 2010 r.	0,20 ± 0,00	16,09 ± 0,10
3.	Zielona, liściasta	3,95 ± 0,56	137,46 ± 5,25
4.	Zielona, fix	2,00 ± 0,00	110,11 ± 30,51
5.	Zielona z cytryną, fix	3,00 ± 0,00	93,74 ± 3,13
6.	Zielona jaśminowa, fix	ślady	87,33 ± 0,50
7.	Zielona z mięta, fix	ślady	530,69 ± 41,32
8.	Zielona z opuncją	4,01 ± 0,00	82,02 ± 0,00
9.	Zielona z mięta	5,92 ± 0,09	275,49 ± 2,53
10.	Zielona aromatyzowana, fix	3,00 ± 0,06	40,19 ± 10,67
11.	Czarna w torebkach Yellow Label Tea	3,00 ± 0,00	94,47 ± 0,00
12.	Czarna liściasta, Yellow Label Tea	2,00 ± 0,00	63,00 ± 0,00
13.	Czarna w torebkach	2,65 ± 0,55	115,94 ± 1,74
14.	Czarna liściasta, Yunnan	1,98 ± 0,01	127,64 ± 1,20
15.	Czarna liściasta łamana, Madras	4,01 ± 0,00	82,02 ± 0,00
16.	Czarna aromatyzowana, Peach Mango	7,84 ± 2,34	79,65 ± 6,16
17.	Dzika róża, cytryna i mięta	0,97 ± 0,01	846,54 ± 30,98
18.	Dzika róża i malina	1,98 ± 0,03	454,44 ± 32,82
19.	Mięta, fix	2,96 ± 0,06	17 106,98 ± 704,27
20.	Rumianek, fix	6,00 ± 0,00	577,32 ± 45,55
21.	Pokrzywa, fix	4,01 ± 0,00	19 165,05 ± 927,53
22.	Melisa, fix	1,99 ± 0,02	2 532,54 ± 79,34
23.	Gardło, fix	3,99 ± 0,05	2 552,25 ± 123,50
24.	Spokój i relaks, fix	3,96 ± 0,06	3 032,99 ± 167,41
25.	Odporność, fix	3,95 ± 0,02	275,67 ± 2,49
26.	Energia ciała i umysłu, fix	5,96 ± 0,03	426,39 ± 0,00
27.	Figura, fix	5,96 ± 0,03	478,76 ± 12,74
28.	Dobre trawienie, fix	5,11 ± 1,01	4 674,17 ± 178,25
29.	Regularna praca jelit, fix	5,00 ± 0,66	2 611,06 ± 141,68
30.	Rozgrzanie, fix	5,97 ± 0,06	276,92 ± 2,65
31.	Prawidłowa struktura włosów, fix	1,99 ± 0,02	5 237,14 ± 161,92
32.	Drogi moczowe, fix	3,99 ± 0,03	1 707,98 ± 57,09
33.	Prawidłowy poziom cholesterolu, fix	6,00 ± 0,00	276,86 ± 0,00

Zawartość azotanów (V) w badanych herbatach mieści się w przedziale od 40,19 mg KNO_3/kg do 19,17 g KNO_3/kg , wynosząc średnio 2,07 g KNO_3/kg . Najwyższy poziom stwierdzono w pokrzywie fix, natomiast najniższy w herbacie zielonej aromatyzowanej White Tea. Zawartość azotanów (III) w tych herbatach wynosi odpowiednio 4,01 mg NaNO_2/kg i 3,00 mg NaNO_2/kg (tab.I pkt 21 i 10).

Wśród przebadanych zielonych herbat zawartość NaNO_2 wahała się od ilości śladowych do 5,92 mg/kg (średnio 2,74 mg/kg). Stężenie KNO_3 wynosiła średnio 169,63 mg/kg (w zakresie od 40,19 mg/kg do 530,69 mg/kg). Najwyższą zawartość NaNO_2 stwierdzono w herbacie zielonej z dodatkiem mięty (tab.I pkt 9), natomiast KNO_3 - w herbacie zielonej również miętowej (tab.I. pkt. 7) pochodzącej od różnych producentów.

W grupie herbat czarnych stężenie NaNO_2 osiągało wartości od 1,98 mg/kg do 7,84 mg/kg (średnio 3,58 mg/kg), zaś KNO_3 - od 63,00 mg/kg do 127,64 mg/kg (średnio 93,79 mg/kg). Najwyższą zawartość NaNO_2 odnotowano w herbacie czarnej aromatyzowanej Peach Mango, natomiast KNO_3 - w herbacie czarnej liściastej Yunan (tab.I pkt 16 i 14).

Herbaty owocowe są źródłem średnio 1,48 mg/kg NaNO_2 (0,97 mg/kg i 1,98 mg/kg) i KNO_3 w ilości 454,44 mg/kg i 846,54 mg/kg (średnio 650,49 mg/kg). Wyższą wartość KNO_3 odnotowano w herbacie owocowej o składzie: dzika róża, cytryna i mięta (tab.I pkt 17).

Poddane badaniom zioła oraz mieszanki ziołowe należą do najbardziej popularnych i najczęściej stosowanych preparatów pochodzenia naturalnego. Wszystkie posiadają ugruntowaną pozycję na polskim rynku, są dostępne nie tylko w aptekach, ale także w sklepach zielarskich i drogeriach. Stosowanie ich ma na celu uzyskanie działania leczniczego, profilaktycznego, energetyzującego lub upiększającego. Wśród znaczących składników ziołowych można wyróżnić m. in. miętę, rumianek, pokrzywę, melisę.

Zawartość NaNO_2 w herbatach ziołowych mieści się w zakresie od 1,99 mg/kg (melisa) do 6,00 mg/kg (rumianek), średnio 3,74 mg/kg. W tej grupie wykazano najwyższą ilość KNO_3 wśród wszystkich herbat i wynoszącą od 577,32 mg/kg (rumianek) do 19 165,05 mg/kg (pokrzywa), średnio 9 845,47 mg/kg (tab.I pkt 19-22).

W mieszankach ziołowych stwierdzono obecność NaNO_2 w granicach od 1,99 mg/kg do 6,00 mg/kg (średnio 4,72 mg/kg). Zawartość KNO_3 w tej grupie produktów była zróżnicowana w szerokim zakresie ze względu na różnorodny skład poszczególnych mieszanek ziołowych i wynosiła od 275,67 mg/kg do 5,24 g/kg (średnio 1 959,11 mg/kg). Najwyższą zawartość KNO_3 stwierdzono w preparacie „Sposób na prawidłową strukturę włosów” (tab.I pkt 31), zawierającym w składzie m.in. pokrzywę, rumianek, bratka czy owies.

Z przedstawionych danych (tab. 1) wynika, że najwyższą zawartością azotanów (III) i azotanów (V) charakteryzują się herbaty i mieszanki ziołowe, w skład których wchodzi takie dodatki jak mięta, pokrzywa czy melisa.

W związku ze stwierdzoną wysoką zawartością azotanów (III) i (V) w suszu 10. badanych herbat i mieszanek ziołowych, przeprowadzono oznaczenie zawartości

tych ksenobiotyków w naparach sporządzonych zgodnie z zaleceniami producenta przestrzegając określonej ilości wody i czasu podanych na opakowaniu. Celem była ocena przechodzenia azotanów (III) i azotanów (V) z suszu (opakowania fix) do naparu oraz określenie, w jakiej ilości związki te znajdują się w porcjach spożywanych przez konsumenta. Wszystkie badane napary zostały przygotowane na wodzie redestylowanej. Należy zaznaczyć, że w przypadku naparów sporządzonych w warunkach domowych, azotany (III) i (V) pochodzą nie tylko z suszu, ale również z użytej wody.

Tabela II. Zawartość azotanów (III) i azotanów (V) w naparach herbat

Table II. Nitrite and nitrate content in tea infusion

Lp.	Herbata	NaNO ₂ [mg/kg]	KNO ₃ [mg/kg]	NaNO ₂ [mg/200 ml]	KNO ₃ [mg/200 ml]	NaNO ₂ w max. dziennej porcji [mg]	KNO ₃ w max. dziennej porcji [mg]
1.	Zielona z miętą	0,20 ± 0,00	8,49 ± 0,14	0,04	1,70		
2.	Mięta fix	0,20 ± 0,00	267,11 ± 7,28	0,02	26,71	0,06	80,13
3.	Pokrzywa fix	0,20 ± 0,00	153,58 ± 6,90	0,04	30,72	0,12	92,16
4.	Melisa fix	0,20 ± 0,00	28,04 ± 0,08	0,04	5,61	0,16	22,44
5.	Gardło	0,20 ± 0,00	28,13 ± 0,11	0,04	5,63	0,16	22,52
6.	Spokój i relaks	ślady	32,86 ± 0,11	ślady	6,57	Ślady	26,28
7.	Dobre trawienie	0,41 ± 0,00	59,27 ± 3,63	0,08	11,85	0,32	47,40
8.	Regularna praca jelit	0,20 ± 0,00	28,31 ± 0,19	0,04	5,66	0,16	22,64
9.	Prawidłowa struktura włosa	0,41 ± 0,00	56,52 ± 0,03	0,08	11,30	0,32	45,20
10.	Drogi moczowe	0,23 ± 0,05	19,32 ± 0,14	0,05	3,86	0,20	15,46

Zawartość NaNO₂ w naparach wynosiła średnio 0,23 mg/kg (od ilości śladowych do 0,41 mg/kg). Najwyższy poziom stwierdzono w mieszankach ziołowych: „Na dobre trawienie” oraz „Prawidłową strukturę włosa”. Ilość KNO₃ wynosiła od 8,49 mg/kg do 267,11 mg/kg (średnio 68,16 mg/kg).

Najwyższą zawartość stwierdzono w naparze z mięty fix (tab. II pkt 2). Obecność azotanów (III) i azotanów (V) w naparach wiąże się ze zwiększeniem pobrania tych związków przez konsumenta w odniesieniu do całodziennej diety. W celu oszacowania tych wartości przeprowadzono obliczenia dotyczące ilości azotanów (III) i (V) w pojedynczej porcji naparu, a także w dziennej dawce zalecanej przez producenta. Wyniki przedstawiono w tabeli II.

Dokonano analizy zawartości NaNO₂ oraz KNO₃ w porcjach naparów zalecanych przez producenta do spożycia w ciągu dnia i porównano z wartościami ADI zalecanymi dla osoby dorosłej ważącej 70 kg (dla NaNO₂ wynosi ona 7,70 mg, dla

KNO_3 – 416,5 mg). W żadnym z badanych produktów wartości te nie zostały przekroczone.

Dokonując przeglądu piśmiennictwa dotyczącego zawartości azotanów w wybranych gatunkach herbat czarnych, w herbatkach owocowo-ziołowych oraz w ziołach (melisa, rumianek, pokrzywa i mięta) (2-11) i konfrontacji ich z wynikami oznaczeń własnych przedstawionych w niniejszej pracy należy podkreślić fakt zmniejszania się ilości azotanów (III) oraz znaczący wzrost zawartości azotanów (V), szczególnie w herbatkach ziołowych.

Podsumowując należy stwierdzić, że badane napary ziół oraz mieszanek ziołowych nie stanowią zagrożenia jako źródło azotanów pod warunkiem dostosowania się do zaleceń producenta. Stosowana do przygotowywania naparów woda pochodząca z wodociągów miejskich nie wpływała w istotny sposób na zawartość ksenobiotyków. Nie budzi również zastrzeżeń konfrontacja zawartości azotanów z wartościami ADI. Jednocześnie, dobrze byłoby mieć świadomość, że herbaty i herbatki stanowią jedno z liczących się źródeł azotanów w codziennej diecie.

WNIOSKI

1. Najniższe zawartości azotanów (V) stwierdzono w herbatach zielonych, czarnych i owocowych bez dodatków ziołowych.

2. Dodatek ziół takich jak mięta, pokrzywa i melisa w znaczący sposób wpływa na wzrost zawartości azotanów w herbatach i herbatkach.

3. W związku z brakiem zaleceń producentów w zakresie maksymalnego spożycia herbat zielonych i czarnych, wskazane jest spożywanie ich w rozsądnych ilościach, szczególnie tych rodzajów, w których jako dodatek zastosowano miętę. W przypadku herbat i mieszanek ziołowych celowe jest stosowanie się ściśle do wskazań producenta, co do maksymalnego dziennego spożycia w zależności od wieku.

4. Na podstawie uzyskanych wyników badań można stwierdzić, że herbaty i herbatki należy traktować jak jedno z bardziej bogatych i liczących się źródeł azotanów w codziennej diecie.

5. Pobranie azotanów (III) i (V) z naparami, przygotowanymi według zaleceń producenta, nie budzi zastrzeżeń wobec ADI.

G. Pokorska-Lis, A. Tokarz, M. Robaczewska

NITRATES IN TEAS, FRUIT AND HERBAL TEAS AVAILABLE ON THE POLISH MARKET

Summary

The aim of the study was to determine nitrates (III) and (V) content in teas, fruit and herbal, and their mixtures. Currently there is lack of norms describing xenobiotics content in such products, thus monitoring concentrations of these compounds during production process is essential.

31 types of teas from different manufacturers, 2 samples of water obtained from water-supply system and 10 infusions were analyzed. Nitrates (III) and (V) were determined spectrophotometrically using Griess' reagent, according to Polish Norm PN-92/A-75112.

Nitrates (III) content in dried teas was 3.65 mg NaNO₂/kg on average and nitrates (V) - 2 069.45 mg KNO₃/kg. In studied infusions nitrates (III) content was 0.23 mg NaNO₂/kg on average, whereas nitrates (V) – 68.16 mg KNO₃/kg. The lowest nitrates (V) content was found in green teas, black teas and fruit teas without herbal supplements. Addition of herbs such as peppermint, nettle or melissa leads to significant increase in nitrates concentration of these mixtures. Intake of nitrates (III) and (V) with infusions, applied according to the manufacturer's recommendations is safe towards ADI.

The study revealed that teas and fruit-herbal teas account for one of the best and fundamental source of nitrates in the daily diet.

PIŚMIENNICTWO

1. *Tarant Sz., Gazdecki M.*: Czynniki kształtujące zachowania konsumentów dotyczące spożycia herbaty. *Roczn. Nauk.*, 2006; 8, 3: 145-148.-2. *Olędzka R., Pokorska-Lis G., Miśkiewicz W.*: Ocena skażenia herbat, herbatek owocowych i herbatek ziołowych azotanami i azotynami. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1998; 31 (4): 343-347.- 3. *Nabrzyski M., Gajewska R.*: Zawartość azotanów i azotynów w niektórych używkach. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1996; 29 (1): 59-62.-4. *Szydłowska E., Zaręba S., Szydłowski W.*: Azotany (III) i azotany(V) w wybranych lekach ziołowych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2002; 35 (4): 357-360.- 5. *Szydłowska E., Zaręba S., Szydłowski W.*: Ocena poziomów azotanów (III) i (V) w fitoterapeutykach stosowanych w leczeniu chorób układu oddechowego i moczowego. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2004; 37 (1): 71-76.- 6. *Szczerbiński R., Karczewski J., Filon J.*: Azotany (V) w wodzie do picia jako czynnik ryzyka zdrowotnego ludności województwa podlaskiego. *Roczn. PZH*, 2006; 57 (1): 39-48.- 7. *Figura B., Pluta J.*: Wpływ obecności azotanów (III) i (V) w wodzie wodociągowej na poziom zanieczyszczeń naparów ziołowych. *J. Elementol.* 2006; 11 (3): 271-281.- 8. *Balcerska I., Wędzisz A., Uramowski J.*: Azotany i azotyny w wybranych ziołach i preparatach zielarskich. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1997; 30 (2): 119-123.-9. *Leszczyńska T.*: Azotany i azotyny w wybranych ziołach. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1994; 27 (4): 323-325.- 10. *Leszczyńska T.*: Azotany i azotyny w herbacie, kawie oraz kakao. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1994; 27 (4): 327-330.

11. *Grzeszczuk M., Jadczak D.*: Nitrogen compounds in some species of spice herbs. *Herba Polonica*, 2007; 53 (3): 207-212.- 12. *Polski Komitet Normalizacji, Miar i Jakości*: Owoce, warzywa i ich przetwory. Oznaczanie zawartości azotynów i azotanów, PN-92/A-75112. *Dz. Norm. i Miar* nr 11/1992, poz. 27.- 13. *Seńczuk W.*: Toksykologia współczesna. PZWL, Warszawa, 2006; 468-470.- 14. *Traczyk I., Wojtasik A., Rutkowska U., Okolska G.*: Jakość zdrowotna krajowych racji pokarmowych – badania analityczne i ocena teoretyczna. *Cz. X. Zawartość azotanów i azotynów w racjach pokarmowych wybranych grup społeczno-dochodowych*, *Żyw. Człow. Metabol.*, 2000; 27 (2): 162-171.- 15. *Duchań B., Hady S.*: Trzy przypadki methemoglobinemii w przebiegu zatrucia azotynami. *Roczn. PZH*, 1992; 43 (3-4): 267-270.- 16. *Greer F.R., Shannon M.*: The Committee on nutrition, the committee on environmental health: infant methemoglobinemia. The role of dietary nitrate in food and water. *Pediatrics*, 2005; 116 (3): 784-786.- 17. *Zeman C.L., Kross B., Vlad M.*: A nested case-control study of methemoglobinemia risk factors in children of Transylvania, Romania. *Environ. Health Perspect.*, 2002; 110 (8): 817-822.- 18. *Gertig H., Duda G.*: Żywność a zdrowie i prawo. PZWL, Warszawa, 2004; 290-293.- 19. *Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 29 marca 2007r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi*. *Dz.U.* Nr 61, poz. 417.

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

*Elżbieta Radziejewska-Kubzdela, Dorota Walkowiak-Tomczak,
Róża Biegańska-Marecik*

WPLYW SKŁADU ATMOSFERY ORAZ CZASU PRZECHOWYWANIA NA ZMIANY ZAWARTOŚCI AZOTANÓW (V) I (III) W SURÓWCE WARZYWNEJ TYPU COLESLAW

Zakład Technologii Owoców i Warzyw, Instytut Technologii Żywności Pochodzenia
Roślinnego, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Kierownik: prof. dr hab. J. Czapski

W pracy badano wpływ składu atmosfery modyfikowanej (%O₂/ % CO₂/ % N₂: 5/10/85; 20/25/55; 50/30/20; 70/30/0) na zmiany zawartości azotanów (V) i (III) w sałatce warzywnej typu coleslaw przechowywanej przez 12 dni w temperaturze 4°C. Zastosowanie obróbki wstępnej - moczenia surówki warzywnej typu coleslaw w roztworze zawierającym 0,5 % kwasu askorbinowego i 0,5% kwasu cytrynowego, spowodowało istotny ($p \leq 0.05$) spadek zawartości azotanów (V) w porównaniu do ich zawartości w surówce świeżej bez obróbki. W czasie przechowywania badanych prób zapakowanych stwierdzono istotny ($p \leq 0.05$) spadek zawartości azotanów (V). W badanych próbach nie odnotowano obecności azotanów (III).

Hasła kluczowe: azotany (V) i (III), surówka typu coleslaw, atmosfera modyfikowana.

Key words: coleslaw mix, nitrates, nitrites, modified atmosphere.

Głównym źródłem azotanów (V) i (III) w naszej diecie są warzywa. Kumulacja tych związków w tkance surowca uwarunkowana jest m. in. czynnikami botanicznymi (gatunek, odmiana, organ jadalny), środowiskowymi (wilgotność, temperatura, nasłonecznienie) oraz agrotechnicznymi (termin i dawka nawożenia, termin zbioru) (1, 2). W ostatnich latach w literaturze światowej pojawiają się doniesienia o korzystnym wpływie azotanów (V) na organizm człowieka. Niektórzy badacze wskazują na związek pomiędzy spożyciem tych związków a redukcją ciśnienia tętniczego (3).

Szkodliwość azotanów (V) związana jest z ich redukcją do azotanów (III), które wywołują m.in.: methemoglobinemię, są czynnikiem nitrozującym i kancerogennym. Proces przemiany do azotanów (III) może zachodzić po zbiorze, podczas transportu i przechowywania warzyw, zwłaszcza w warunkach beztlenowych i podwyższonej temperaturze (4).

Celem pracy było określenie wpływu składu atmosfery modyfikowanej na zmiany zawartości azotanów (V) i (III) w sałatce warzywnej typu coleslaw przechowywanej przez 12 dni w temperaturze 4°C.

MATERIAŁY I METODY

Do badań użyto mieszankę warzywną typu coleslaw o składzie: 80% kapusty białej (*Brassica oleracea*) odmiany Galaxy oraz 20% marchwi (*Daucus carota*) odmiany Perfekcja.

Surowiec myto pod bieżącą wodą, następnie usuwano części niejadalne. Warzywa ponownie myto, a następnie rozdrabniano mechanicznie. Rozdrobniony surowiec poddano obróbce wstępnej moczenia przez 5 min w roztworze zawierającym 0,5% kwasu askorbinowego i 0,5% kwasu cytrynowego. Następnie odwirowano i odważono w ilości 200 g (160 g kapusty białej i 40 g marchwi) do tacek polipropylenowych o wymiarach: 205 x 160 x 60 mm, o przepuszczalności tlenu 7–8 cm³/m²/24h. Tacki z przygotowaną mieszanką zamykano folią o przepuszczalności tlenu 35 cm³/m²/24h* bar. Zastosowaną folię mikroperforowano jednym walcem o średnicy 7 cm z 10 igłami o średnicy 70 μm (1x10) (9±2 mikrootworów w folii zamykającej opakowanie). Surówki zamknięto w atmosferze powietrza oraz w atmosferze modyfikowanej o procentowym udziale O₂/CO₂/N₂: 5/10/85; 20/25/55; 50/30/20; 70/30/0. Surówki przechowywano przez 12 dni w temperaturze 4°C.

Zawartość azotanów (III) i (V) oznaczano metodą kolorymetryczną z odczynnikami *Griessa* (długość fali λ=538 nm), z wykorzystaniem bezpośredniej redukcji azotanów (V) kadmem, wg normy PN-92/A-75112 zgodnej z ISO 6635-1984 (5). Próby analizowano w trzech równoległych powtórzeniach pobranych z trzech opakowań.

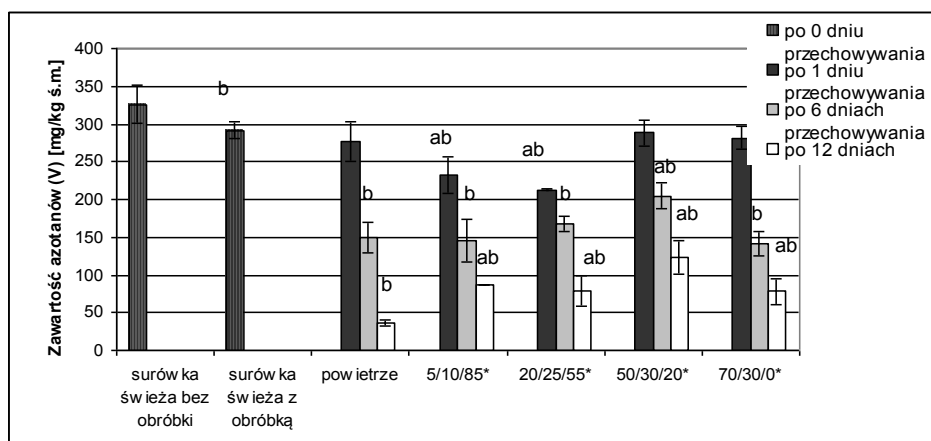
Pomiar zawartości tlenu i ditlenku węgla przy użyciu bezprzewodowego analizatora gazów OXYBABY®V firmy Witt-Gasetechnik.

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono na podstawie analizy wariancji dwuczynnikowej i testu NIR *Fishera*. Różnice istotne statystycznie oznaczono przy poziomie istotności p ≤ 0,05. Analizę przeprowadzono za pomocą programu komputerowego Statistica wersja 9.0 (StatSoft).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W surówce świeżej po 0 dniu przechowywania zawartość azotanów (V) wynosiła 325,4 mg/kg ś.m. Zastosowanie obróbki wstępnej - moczenia badanych prób w roztworze zawierającym 0,5 % kwasu askorbinowego i 0,5% kwasu cytrynowego, spowodowało istotny (p ≤ 0,05) spadek zawartości badanych związków. Po 1 dniu przechowywania, w surówkach zapakowanych w atmosferze o składzie: 5/10/85 oraz 20/25/55 (% O₂/% CO₂/% N₂) obserwowano dalszy spadek zawartość

azotanów (V). Natomiast w próbach zapakowanych w powietrzu oraz w atmosferze o wysokiej zawartości tlenu zawartość badanych związków utrzymywała się na poziomie ich zawartości w surówce świeżej po obróbce wstępnej. W czasie dalszego przechowywania odnotowano istotny ($p \leq 0.05$) spadek zawartości azotanów (V) we wszystkich badanych próbach. Po 12 dniach przechowywania najniższą zawartość wyżej wymienionych związków stwierdzono w próbach zapakowanych w atmosferze powietrza i wynosiła ona 36,30 mg/kg ś.m. W pozostałych surówkach zawartość azotanów (V) była istotnie wyższa ($p \leq 0.05$) (od 78,00 do 123,7 mg/kg ś.m) (ryc. 1).



Ryc.1. Wpływ składu atmosfery modyfikowanej oraz czasu przechowywania na zawartość azotanów (V) w surówkach warzywnych typu coleslaw, zapakowanych w folię o przepuszczalności dla tlenu $35 \text{ cm}^3/\text{m}^2/24\text{h} \times \text{bar}$, z mikroperforacją 1×10 (9 ± 2 mikrootworów w folii zamykającej opakowanie).

Fig.1 Effect of modified atmosphere composition and storage time on the nitrate content in coleslaw mix, packaged in film with oxygen permeability of $35 \text{ cm}^3/\text{m}^2/24\text{h} \times \text{bar}$ with microperforation 1×10 (9 ± 2 microopenings in the film sealing the packaging).

a - różnica istotna statystycznie ($p \leq 0,05$) pomiędzy zawartością azotanów (V) w surówkach zapakowanych w atmosferze modyfikowanej, a zawartością wyżej wymienionych związków w surówkach zapakowanych w atmosferze powietrza, po tym samym czasie przechowywania.

a - statistically significant difference ($p \leq 0.05$) between content of nitrates in coleslaw mix packaged in modified atmosphere, and the content of these compounds in salads packed in air at the same time storage.

b - różnica istotna statystycznie ($p \leq 0,05$) pomiędzy zawartością azotanów (V) w surówkach po kolejnych dniach przechowywania (w obrębie poszczególnych wariantów atmosfery).

b - statistically significant difference ($p \leq 0.05$) between content of nitrates in coleslaw mix after following days of storage (within the same variant).

*skład atmosfery modyfikowanej [%O₂, %CO₂, %N₂].

*content modified atmosphere [%O₂/%CO₂/%N₂].

Tabela 1. Wpływ składu atmosfery modyfikowanej oraz czasu przechowywania na zawartość tlenu i ditlenku węgla w opakowaniach z surówką warzywną typu coleslaw, zapakowaną w folię o przepuszczalności dla tlenu $35 \text{ cm}^3/\text{m}^2/24 \text{ h}$ x bar, z mikroperforacją 1×10 (9 ± 2 mikrootworów w folii zamykającej opakowanie)

Table 1. Effect of modified atmosphere composition and storage time on the content of oxygen and carbon dioxide in packages with a coleslaw mix, packaged in film with oxygen permeability of $35 \text{ cm}^3/\text{m}^2/24 \text{ h}$ x bar with microperforation 1×10 (9 ± 2 microopenings in the film sealing the packaging)

Próba	Czas przechowywania [dni]	Zawartość tlenu [%]		Zawartość ditlenku węgla [%]	
		Średnia	± SD	Średnia	± SD
Surówka zapakowana w atmosferze powietrza	1	14,2 b	0,5	6,3 ab	0,2
	6	9,8	1,4	12,3	1,4
	12	8,3	2,2	14,7	2,5
Surówka zapakowana w atmosferze modyfikowanej o składzie: 5/10/85 [%O ₂ , %CO ₂ , %N ₂]	1	6,4 a	1,0	9,3 a	1,1
	6	10,5	2,2	11,8	2,2
	12	9,4	3,2	13,3 a	3,8
Surówka zapakowana w atmosferze modyfikowanej o składzie: 20/25/55 [%O ₂ , %CO ₂ , %N ₂]	1	16,3 ab	0,4	14,2 ab	1,4
	6	12,7 a	0,9	11,4	1,9
	12	11,1 a	1,5	11,9	2,0
Surówka zapakowana w atmosferze modyfikowanej o składzie: 50/30/20 [%O ₂ , %CO ₂ , %N ₂]	1	29,2 ab	0,5	16,7 b	0,8
	6	14,0 ab	0,7	12,9	0,9
	12	10,8 a	0,4	12,7	0,7
Surówka zapakowana w atmosferze modyfikowanej o składzie: 70/30/0 [%O ₂ , %CO ₂ , %N ₂]	1	39,0 ab	1,4	16,1 ab	2,1
	6	14,3 ab	0,8	13,9	2,5
	12	10,4 a	0,6	13,3	1,3

a - różnica istotna statystycznie ($p \leq 0,05$) pomiędzy zawartością tlenu/ditlenku węgla w opakowaniach z surówką zapakowanych w atmosferze modyfikowanej, a zawartością tlenu/ditlenku węgla w opakowaniach z surówką zapakowanych w atmosferze powietrza, po tym samym czasie przechowywania.

a - statistically significant difference ($p \leq 0,05$) between content of oxygen / carbon dioxide in coleslaw mix packaged in modified atmosphere, and the content of these gases in salads packed in air at the same time storage.

b - różnica istotna statystycznie ($p \leq 0,05$) pomiędzy zawartością tlenu/ditlenku węgla w opakowaniach z surówką po kolejnych dniach przechowywania (w obrębie poszczególnych wariantów atmosfery).

b - statistically significant difference ($p \leq 0,05$) between content oxygen / carbon dioxide in coleslaw mix after following days of storage (within the same variant).

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że w żadnej z badanych prób (przy założeniu dziennego spożycia badanego produktu na poziomie ok. 0,5 kg) nie zostało przekroczone dzienne pobranie azotanów (V) (ADI), które dla dorosłego człowieka o masie 70 kg, wynosi $350 \text{ mg NaNO}_3/\text{dzień}$ (6). W badanych w tej pracy próbach zapakowanych w folię o przepuszczalności tlenu $35 \text{ cm}^3/\text{m}^2/24 \text{ h}$ * bar z mikroperforacją 1×10 , w czasie przechowywania stwierdzono istotny ($p \leq 0,05$) spadek azotanów (V). Nie odnotowano natomiast obecności azotanów (III). Spadek zawartości azotanów (V) w czasie przechowywania surówki coleslaw zapakowanej w litą folię o przepuszczalności tlenu $3000 \text{ cm}^3/\text{m}^2/24 \text{ h}$ * bar lub $1900 \text{ cm}^3/\text{m}^2/24 \text{ h}$ * bar obserwowali w swoich wcześniejszych badaniach Radziejewska-Kubzdela i współpr. (7). W badanych przez tych autorów sałatkach obecność azotanów (III), odnotowano w próbach zapakowanych w folię o niższej przepuszczalności dla tlenu, w których w atmosferze wewnątrz opakowania wytworzyły się warunki beztlenowe.

Na podstawie przeprowadzonego pomiaru zawartości gazów w atmosferze wewnątrz opakowania stwierdzono, że we wszystkich badanych próbach utrzymywały się warunki tlenowe do końca założonego okresu przechowywania. Po 12 dniach, zawartość badanego gazu, mieściła się w granicach od 8,3% do 11,1%. Największy spadek zawartości tlenu, w czasie przechowywania odnotowano w surówce zapakowanej w atmosferze modyfikowanej o składzie 70/30/0 (%O₂, %CO₂, %N₂). W przypadku ditlenku węgla, po 12 dniach przechowywania zawartość tego gazu w atmosferze wewnątrz opakowań z badanymi surówkami wynosiła od 11,9% do 14,7% (tab. I).

WNIOSKI

1. Zastosowanie obróbki wstępnej - moczenia surówki warzywnej typu coleslaw w roztworze zawierającym 0,5 % kwasu askorbinowego i 0,5% kwasu cytrynowego, spowodowało istotny ($p \leq 0.05$) spadek zawartości azotanów (V) w porównaniu do ich zawartości w surówce świeżej bez obróbki.

2. W czasie przechowywania badanych prób zapakowanych w folię o przepuszczalności tlenu $35 \text{ cm}^3/\text{m}^2/24\text{h}^* \text{ bar}$ z mikroperforacją 1x10, odnotowano istotny ($p \leq 0.05$) spadek zawartości azotanów (V). Po 12 dniach przechowywania najniższą zawartość wyżej wymienionych związków stwierdzono w próbach zapakowanych atmosferze powietrza i wynosiła ona 36,30 mg/kg ś.m. W pozostałych surówkach zawartość azotanów (V) była istotnie wyższa ($p \leq 0.05$) i wynosiła od 78,00 do 123,7 mg/kg ś.m.

3. W badanych próbach nie odnotowano obecności azotanów (III).

4. Na podstawie pomiaru zawartości gazów w atmosferze wewnątrz opakowania stwierdzono, że we wszystkich badanych próbach utrzymywały się warunki tlenowe do końca założonego okresu przechowywania.

E. Radziejewska-Kubzdela, D. Walkowiak-Tomczak, R. Biegańska-Marecik

EFFECT OF COMPOSITION OF ATMOSPHERE AND STORAGE TIME ON THE CHANGES OF NITRATE AND NITRITE IN COLESLAW MIX

Summary

The aim of this study was to determine the effect of modified atmosphere composition on the changes of nitrate and nitrite contents in coleslaw mix stored for 12 days at 4 °C. Material for analyses composed a salad containing 80% of white cabbage varieties Galaxy and 20% of carrot varieties Perfection. Shredded raw material pretreated by soaking 5 min in a solution containing 0.5% ascorbic acid and 0.5% citric acid. After separation from the solution 200 g raw material was placed to polypropylene trays with oxygen permeability $\text{cm}^3/\text{m}^2/24\text{h}$ 7-8. Trays sealed with plastic film with oxygen permeability of $35 \text{ cm}^3/\text{m}^2/24\text{h}^* \text{ bar}$. The applied film was micro-perforated using one ring of 7 cm in diameter with 10 needles of 70 μm in diameter. Salads were sealed in air and modified atmosphere on percentage of O₂/CO₂/N₂: 05/10/1985; 20/25/55, 50/30/20, 70/30/0. In the tested

samples to determine the content of nitrates and nitrite, measured the oxygen and carbon dioxide in the atmosphere inside the package.

The use of pre-treatment – soaking of coleslaw mix in a solution containing 0.5% ascorbic acid and 0.5% citric acid, resulted in a significant ($p \leq 0.05$) decrease of nitrates compared to their content in coleslaw mix without pre-treatment. During storage of tested sample a significant ($p \leq 0.05$) decrease of these compounds was found. After 12 days of storage the lowest content of nitrates was observed in samples packaged under air, and it amounted to 36.30 mg / kg f. m. In other salads nitrate content was significantly higher ($p \leq 0.05$) and ranged from 78.00 to 123.7 mg / kg f. m. In the tested samples, there were no presence of nitrite. By measuring the gas content in the atmosphere inside the package, it was found that in all samples tested oxygen conditions were kept throughout the period of storage.

PIŚMIENNICTWO

1. *Sady W.*: Czynniki ograniczające zawartość azotanów i metali ciężkich w warzywach. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2001; 5: 21-23.– 2. *Wojciechowska R., Smoleń S., Przybyła J.*: Zawartość azotanów w różnych częściach użytkowych wybranych gatunków warzyw. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie, ser. Sesja naukowa*, 2000; 71: 19-31.– 3. *Hord N.G., Tang Y., Bryan N.S.*: Food sources of nitrates and nitrites the physiologic context for potential health benefits, *Am. J. Clin. Nutr.*, 2009; 90(1): 1-10.– 4. *Amr A., Hadidi N.*: Effect of cultivar and harvest date on nitrate (NO_3) and nitrite (NO_2) content of selected vegetables grown under open field and greenhouse conditions In Jordan, *J. Food Compos. Anal.*, 2001; 14: 59-67.– 5. PN-92/A-75112. Owoce, warzywa i ich przetwory. Oznaczanie zawartości azotanów i azotanów. Oznaczenie ekstraktu ogółem.– 6. JECFA: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives – Evaluation of certain food additives and contaminants. World Health Organization, 2002.– 7. *Radziejewska-Kubzdela E., Walkowiak-Tomczak D., Biegańska-Marecik R.*: Wpływ pakowania i przechowywania w atmosferze modyfikowanej na zmiany zawartości azotanów (V) i (III) w sałatce warzywnej typu coleslaw oraz na jej cechy sensoryczne i fizykochemiczne. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 2008; 4 (59): 261-268.

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

Jolanta Wieczorek¹⁾, Zbigniew Wieczorek²⁾

POBRANIE WIELOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH Z ŻYWNOŚCIĄ

¹⁾ Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
Kierownik: dr hab. inż. *E. Gujska*, prof. UWM

²⁾ Katedra Fizyki i Biofizyki Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
Kierownik: dr hab. *Z. Wieczorek*, prof. UWM

Na podstawie średniego dziennego spożycia artykułów żywnościowych oszacowano wielkość pobrania wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych z głównymi grupami żywności. W obliczeniach wykorzystano wartości sumy średnich stężeń wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, związków które w mieszaninie i indywidualnie zostały uznane za indikator kancerogennego potencjału WWA.

Hasła kluczowe: WWA, pobranie, żywność.

Key words: PAHs, intake, food.

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) należą do dużej klasy związków organicznych, składających się z dwóch lub więcej pierścieni aromatycznych. Powstają w procesach niepełnego spalania i pirolizy materii organicznej. Niektóre procesy technologiczne mogą wpływać na podwyższenie poziomów WWA w żywności, szczególnie, takie jak: tradycyjne wędzenie produktów mięsnych i sera, grillowanie, pieczenie oraz prażenie nasion (1, 2).

Emisja WWA ze źródeł punktowych i powierzchniowych, palenie papierosów, ekspozycja zawodowa oraz sposób przygotowania żywności to źródła, które stwarzają ryzyko zdrowotne dla człowieka związane z bezpośrednim pobraniem tych związków do organizmu. Szczególne znaczenie w pobraniu WWA odgrywają dwie drogi: oddechowa oraz pokarmowa (3).

Ostatnio grupa tych związków podlegała ewaluacji, między innymi przez IPCS (International Programme on Chemical Safety) oraz EFSA (European Food Safety Authority). Oznaczenie poziomów stężeń WWA w 10 000 próbkach żywności w 18 krajach członkowskich UE i przeanalizowanie wyników badań przez CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain) umożliwiło ocenę współczynników TEF (toxic equivalency factor) i spowodowało podważenie ich

stosowania w charakterystyce ryzyka zdrowotnego stwarzanego przez mieszaninę WWA pobieraną z żywnością. CONTAM Panel zaproponował w 2008 roku, jako indyktor kancerogennego potencjału mieszaniny WWA, sumę stężeń ośmiu związków: benzo[a]antracenu (BAA), chryzenu (CHR), benzo[b]fluorantenu (BBF), benzo[k]fluorantenu (BKF), benzo[a]pirenu (BAP), dibenzo[a,h]antracenu (DBA), indeno[1,2,3-cd]pirenu (INP), benzo[ghi]perylenu (BPR), sumę czterech: BAP, CHR, BAA i BBF oraz sumę dwóch: BAP, CHR (4).

Celem prowadzonych badań było określenie, w oparciu o aktualne średnie dzienne spożycie produktów żywnościowych, wielkości pobrania związków uznanych za indyktor kancerogennego potencjału WWA drogą pokarmową. Obliczenia wykonano na podstawie własnych oznaczeń związków w owocach, warzywach, zbożach i nasionach roślin strączkowych, a także wykorzystując opublikowane wyniki badań dotyczących zawartości WWA w środkach spożywczych pochodzenia zwierzęcego.

MATERIAŁY I METODY

Warzywa, owoce, ziemniaki i ziarna zbóż zakupiono w latach 2005-2007 w województwie warmińsko-mazurskim, bezpośrednio od producentów. Do badań pobierano po pięć próbek (od 0,3 do 2 kg). Materiał był myty (warzywa i ziemniaki obierano), następnie osuszany, rozdrabniany i homogenizowany. Procedurę ekstrakcji WWA z materiału roślinnego i oczyszczania ekstraktów przyjęto za *Gao i Zhu* (5) oraz *Kipopoulou* i wółpr. (6). Ekstrakcję WWA z ziarna zbóż wykonano zgodnie z procedurą analityczną opracowaną i przeprowadzoną w Instytucie Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego w Warszawie (7).

Do identyfikacji i oznaczania WWA zastosowano metodę synchronicznej spektrofluorymetrii. Wykonywano skany synchroniczne (jednoczesna zmiana długości fali wzbudzenia λ_{ex} i emisji λ_{em} , zachowując stałą odległości $\Delta\lambda = \lambda_{em} - \lambda_{ex}$ między nimi) na spektrofluorymetrze LS 50B firmy Perkin Elmer w zakresie od 220 nm do 450 nm zmieniając $\Delta\lambda$ co 5 nm, począwszy od 15 nm, a skończywszy na 200 nm. Uzyskane widma były analizowane za pomocą oprogramowania przyrządu. Widma były wygładzane filtrem *Savitzsk'ego-Golay'a* a następnie obliczano ich drugą pochodną. Wartości minimum drugiej pochodnej widm w miejscach wybranych jako analityczne długości fal służyły do wyznaczenia stężenia danego związku poprzez porównanie z wcześniej uzyskanymi krzywymi wzorcowymi. Względne odchylenie standardowe w przypadku większości związków, dla stężeń na poziomie około 30 ng/ml, nie przekraczało 4%. W celu określenia precyzji i dokładności pomiarów wykorzystano roztwory wzorcowe ze standardem analitycznym - mieszaniną 16 WWA (J.T. Baker Chemikalien, Germany; Sigma Chemical Co., St Luis, MO) na trzech poziomach stężeń. Uzyskano zadawalającą powtarzalność i dokładność pomiarów. Zgodnie z propozycją *Eiroa* i wółpr. (8) i *Mastral* i wółpr. (9) oznaczono stężenia 7 związków, spośród 8 zaproponowanych przez CONTAM Panel, jako indyktor

kancerogennego potencjału mieszaniny WWA: BAA, CHR, BBF, BKF, BAP, INP, DBA (3).

Oznaczenie WWA w ekstraktach z ziaren zbóż wykonano w Laboratorium Działu Monitoringu Żywności i Ochrony Środowiska Instytutu Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego w Warszawie zgodnie z procedurami analitycznymi tam opracowanymi (7). Dla pozostałych produktów żywnościowych przyjęto wyniki oznaczeń opublikowane przez *Jankowskiego i Obiedzińskiego* (1), *Marti-Cid i współpr.* (10), *Baldygę i współpr.* (11), *Ciemniaka i Protasowickiego* (12), *Obiedzińskiego i współpr.* (13), *Ciemniaka* (14) i *Wieczorek i współpr.* (15).

Średnie dzienne spożycie produktów żywnościowych obliczono na podstawie danych opublikowanych przez Instytut Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej (16) i *Szponara i współpr.* (17)

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Średnie poziomy stężenia oznaczanych WWA w żywności uzyskane z badań własnych oraz opublikowanych przez innych autorów zestawiono w tabeli I. Spośród wszystkich grup żywności najwyższymi sumarycznymi stężeniami oznaczanych WWA charakteryzowały się oleje roślinne, przetwory mięsne oraz ziarna zbóż (tab. I), podobnie jak w badaniach prowadzonych przez *Marti-Cid i współpr.* (10).

Na dzienne pobranie WWA z żywnością duży wpływ miała wielkość dziennego spożycia poszczególnych grup żywności (tab. I). Stąd, przy stosunkowo wysokich sumarycznych stężeniach oznaczanych WWA oraz wysokim dziennym spożyciu, największe pobranie pochodziło z dziennej porcji produktów zbożowych – 1,6 µg, w tym 0,1 µg BAP. Stanowi to 52,9 % sumarycznego dziennego pobrania z żywnością WWA uznanych za indikator potencjału kancerogenności. Drugą grupą żywności pod względem wielkości pobrania WWA okazało się mięso i jego przetwory (13,4%). Grupa ta wniosła do dziennej porcji żywności około 0,41 µg związków kancerogennych, w tym 0,05 µg BAP. Ponad 90% pobrania kancerogennych WWA z tą grupą żywności pochodziło z przetworów mięsnych. Należy zwrócić uwagę, że częste i wysokie spożycie wysokogatunkowych wędlin, wyprodukowanych w oparciu o tradycyjne techniki wędzenia, znacząco może zwiększać dzienne pobranie WWA z przetworami mięsnymi (10, 12, 13). Trzecią grupą o dużym znaczeniu w wielkości dziennego pobrania kancerogennych WWA stanowią tłuszcze – 0,27 µg (8,7%), w tym przede wszystkim oleje roślinne – 0,22 µg.

Tabela I. Średnie dzienne spożycie produktów żywnościowych, stężenia oznaczanych WWA i dzienne pobranie

Table I. Average daily food consumption, PAHs concentrations and daily intake

Rodzaj żywności	Spożycie g/dzień	Stężenie WWA ng/g	Stężenie BAP ng/g	Pobranie WWA ng/dzień	Pobranie BAP ng/dzień
Warzywa i przetwory	164,54				
kapusta	19,07	1,37 ¹	0,110	26,13	2,09
kalafiorowate	5,09	0,16 ^{2,a}	0,020	0,81	0,10
pomidory	27,62	0,16 ^{2,a}	0,020	4,42	0,55
ogórki	18,41	0,44 ¹	0,028	8,10	0,52
buraki	8,55	0,13 ¹	0,014	1,11	0,12
marchew	17,92	0,32 ¹	0,068	5,73	1,22
cebulowe	15,78	4,81 ¹	0,608	75,90	9,59
pozostałe (seler, sałata i inne)	29,09	2,81 ¹	0,243	81,74	7,06
przetwory warzywne	23,01	0,41 ¹	0,030	9,43	0,69
Owoce	114,24				
ziarnkowe	49,15	1,06 ¹	0,189	52,09	9,29
pestkowe	16,11	1,00 ¹	0,108	16,11	1,74
jagodowe	14,30	1,10 ¹	0,109	15,73	1,56
cytrusowe	20,05	0,16 ^{2,a}	0,020	3,21	0,40
banany	12,82	0,16 ^{2,a}	0,020	2,05	0,26
orzechy	1,81	6,42 ¹	0,226	11,62	0,41
Ziemniaki	317,81	0,41 ¹	0,058	130,3	18,40
Zbożowe (ekw. ziarna)	376,71	4,35 ¹	0,273	1638,69	102,84
Strączkowe	3,2	2,89 ^{2,b}	0,434	6,09	1,39
Mięso i przetwory	178,52				
mięso	100,27	0,30 ^{2,c}	0,030	30,08	3,00
przetwory mięsne	78,25	4,90 ^{3,d}	0,600	383,43	46,95
Ryby	36,16	0,72 ^{2,a}	0,090	26,04	3,25
Mleko	495,89	0,53 ^{2,a} /0,09 ⁴	0,06/0,01 ⁴	262,82/44,63 ⁵	29,75/4,95 ⁵
Jaja	21,37	1,00 ^{2,a}	0,090	21,37	1,9
Tłuszcze	47,26				
masło	9,67	1,72 ^{2,e}	0,090	16,63	0,87
zwierzęce inne	6,33	0,41 ^{2,c}	0,060	2,59	0,38
margaryny	16,00	1,87 ^{2,e}	0,120	29,92	1,92
oleje	15,33	14,40 ^{2,d}	0,800	220,75	12,26
Herbata (0,1% z suszu, 2,6 g/400 ml)	400	0,03 ^{2,f}	0,003	10,00	1,00
Kawa (10% z ziarna, 9,64 g/200 ml)	200	0,06 ^{2,g}		12,00	

¹ Σ7 (BAA, CHR, BBF, BKF, BAP, IND, DBA), ² Σ8 (BAA, CHR, BBF, BKF, BAP, IND, DBA, BPR), ³ Σ9 (BAA, CHR, BAF, BKF, BAP, BEP, DBA, INP, BPR), ⁴ stężenie w mleku pełnym/półtłustym, ⁵ pobranie z mlekiem pełnym/półtłustym
^a dane z (10), ^b dane z (11), ^c dane z (12), ^d dane z (13), ^e dane z (14), ^f dane z (1), ^g dane z (15)

Z uwagi na niedostępność krajowych wyników oznaczeń, do obliczenia wielkości pobrania kancerogennych WWA z mlekiem i jego przetworami (wyrażone w ekwiwalencie mleka) wykorzystano dane dla mleka pełnotłustego i półtłustego przedstawione przez *Marti-Cid* i współpr. w 2008 roku (10). Z obliczeń wynika, że pobranie kancerogennych WWA z mlekiem pełnotłustym może być nawet około 6-krotnie wyższe w porównaniu z mlekiem częściowo odtłuszczonym i stanowi może 8,5% wielkości dziennego pobrania kancerogennych WWA z żywnością.

Poza produktami zbożowymi i olejami roślinnymi, pozostałe produkty pochodzenia roślinnego w niewielkim stopniu wpływały na wielkość pobrania kancerogennych WWA z żywnością. Warzywa wносиły do dziennej porcji żywności 0,20 µg kancerogennych WWA (6,6%), w tym BAP – 0,021 µg, najwięcej warzywa z podgrupy tzw. pozostałe (w tym warzywa liściowe). Z ziemniakami, przy znacznym średnim dziennym spożyciu tej grupy żywności w 2010 roku, pobranie było niewielkie i wyniosło 0,13 µg kancerogennych WWA (4,2%). Jeszcze mniej tych związków wprowadzanych jest drogą pokarmową z owocami (0,10 µg).

Porównanie średniego dziennego pobrania sumy kancerogennych WWA z żywnością w Polsce i pozostałych krajach UE wskazuje na znacznie wyższą ekspozycję na tę grupę związków konsumentów polskich. Zestawienie średniego pobrania kancerogennych WWA z żywnością w Polsce – 3096 ng/dzień z medianą sumy kancerogennych WWA obliczoną dla średniego pobrania przez konsumenta UE (1729 ng/dzień), przedstawioną w Opinii Komitetu Naukowego EFSA, wskazuje, że w Polsce pobranie to zbliżone jest do wartości mediany wysokiego pobrania przez konsumenta europejskiego – 3078 ng/dzień (4). Wysokie pobranie kancerogennych WWA przez europejskich konsumentów dochodzi do takich poziomów jak: 6600 ng/dzień w Islandii, 5600 ng/dzień w Słowacji, około 4000 ng/dzień w Norwegii, Holandii i Włoszech. Natomiast średnie pobranie kancerogennych WWA przez konsumentów wielu krajów nie przekracza 1400 ng/dzień (Wielka Brytania, Finlandia). W Hiszpanii, po uwzględnieniu różnych przedziałów wiekowych poszczególnych grup ludności, pobranie to wyniosło od 517 do 969 ng/dzień (10).

Zróżnicowane poziomy stężeń kancerogennych WWA w żywności spożywanej przez europejskich konsumentów zależą głównie od dwóch grup czynników: środowiskowych (np. wielkości emisji produktów niepełnego spalania ze źródeł przemysłowych i gospodarstw domowych) oraz technologicznych (takich, jak: suszenie nasion zbóż i roślin oleistych, wędzenie z użyciem zewnętrznych generatorów dymów, grilowanie i smażenie tłustego mięsa, kontakt mięsa z płomieniem).

WNIOSKI

1. Najwięcej WWA uznanych za indyktor potencjału kancerogennego, w tym BAP, do dziennego pobrania z żywnością w Polsce wnoszą produkty zbożowe, przetwory mięsne oraz oleje roślinne.

2. Na tle pozostałych krajów UE pobranie kancerogennych WWA w Polsce zbliżone jest do wartości mediany wysokiego pobrania tej grupy związków przez konsumenta europejskiego.

J. Wieczorek, Z. Wieczorek

INTAKE OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS WITH FOOD

Summary

On the basis of the average daily intake of food products, the intake of carcinogenic PAHs from food in Poland was estimated, which amounted to about – 3.1 µg/day and benzo[a]pyrene – 0.26 µg/day. A factor that determined the amount of PAH intake with food was the daily consumption of specific groups of products. Over half of the intake of carcinogenic PAHs took place with the consumption of cereal products. It was found that for this group a daily intake with food amounted to 1.6 µg of carcinogenic PAHs and 0.1 µg – of benzo[a]pyrene. Daily consumption of potatoes leads to the intake of about 0.13 µg, vegetables – 0.20 µg and fruit – 0.10 µg. The other part of daily PAH intake through the alimentary tract came mainly from such groups as meat and meat products, fats and milk.

PIŚMIENNICTWO

1. *Jankowski P.S., Obiedziński M.W.*: Badania nad występowaniem wielopierścieniowych węglowodorów (WWA) w tłuszczach roślinnych i zwierzęcych. *Tłuszcze Jadalne*, 2001; 36 (3/4): 111-124.- 2. *Kazerouni N., Sinha R., Hsu C.H., Greenberg A., Rothman N.*: Analysis of 200 food items for benzo[a]pyrene and estimation of its intake in an epidemiologic study. *Food Chem. Toxicol.*, 2001; 39: 423-436.- 3. *Wieczorek J.*: Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne w żywności pochodzenia roślinnego, *Rozprawy i Monografie, Wydawnictwo UWM, Olsztyn* 2009; 146: 5 -123.- 4. European Food Safety Authority: Polycyclic aromatic hydrocarbons in Food. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain (Question N° EFSA-Q2007-136). *The EFSA Journal*, 2008; 724: 1-114.- 5. *Gao Y., Zhu L.*: Plant uptake, accumulation and translocation of phenantrene and pyrene in soils. *Chemosphere*, 2004; 55: 1169-1178.- 6. *Kipopoulou A.M., Manoli E., Samara C.*: Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in an industrial area. *Environ. Pollut.*, 1999; 106: 369-380.- 7. Instytut Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego: Oznaczenie zawartości WWA analiza chromatograficzna. Procedura analityczna. *Wyd. IPMiT, Warszawa*, 2001: 1-6.- 8. *Eiroa A.A., Blanco E.V., Mahía P.L., Lorenzo S.M., Rodríguez D.P.*: Simultaneous determination of 11 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by second-derivative synchronous spectrofluorimetry considering the possibility of quenching by some PAHs in the mixture. *The Analyst*, 1998; 123: 2113-2117.- 9. *Mastral A.M., Lopez J.M., Callen M.S., Garcia T., Murillo R., Navarro M.V.*: Spatial and temporal PAH concentrations in Zaragoza, Spain. *Sci. Total Environ.*, 2003; 307: 111-124.- 10. *Marti-Cid R., Llobet J.M., Castell V., Domingo J.L.*: Evolution of the dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in Catalonia, Spain. *Food Chem. Toxicol.* 2008; 46: 3163-3171.
11. *Baldyga B., Borejszo Z., Wieczorek J., Dymkowska-Malesa M., Smoczyński S.*: Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne w nasionach fasoli, grochu i bobu z krajowego rynku w latach 1999-2002. *Roczn. PZH*, 2005; 56 (1): 83-90.- 12. *Ciemniak A., Protasowicki M.*:

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne w mięsnych i drobiowych artykułach spożywczych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2002; 30: 121-125.- 13. *Obiedziński M.W., Bartnikowska E., Węgrzyn E., Borys M., Cozel A., Matuszewska M., Grześkiewicz S., Jankowski P.*: Badania surowców i artykułów spożywczych pochodzenia roślinnego i zwierzęcego. W: Raport z monitoringu jakości gleb, roślin, produktów rolniczych i spożywczych w 2000 roku, Wyd. Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi, Rady Monitoringu Jakości Gleb, Roślin, Produktów Rolniczych i Spożywczych. Warszawa, 2001; 158-209.- 14. *Ciemniak A.*: Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) w herbatach zielonych i owocowych. *Roczn. PZH*, 2005; 56 (4): 317-322.- 15. *Wieczorek J., Mozolewski W., Smoczyńska K., Wieczorek Z.*: Występowanie wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w naparach kawy naturalnej, zbożowej i kakao. *Roczn. PZH*, 2002; 53 (3): 231-236.- 16. *Analizy Rynkowe. IERiGŻ-PIB, ARR, MRiRW*, 2010.- 17. *Szponar L., Sekuła W., Rychlik E., Oltarzewski M., Figurska K.*: Badania indywidualnego spożycia żywności i stanu odżywienia w gospodarstwach domowych. *IŻŻ Warszawa*, 2003; 1-833.

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

Marta Ciecierska, Mieczysław Obiedziński

OZNACZENIE ZAWARTOŚCI WIELOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH W KAWACH NATURALNYCH PALONYCH METODĄ HPLC-FLD/DAD*

Zakład Oceny Jakości Żywności Wydziału Nauk o Żywności SGGW w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. *M. Obiedziński*

Oznaczono zawartość 19 WWA w wybranych kawach naturalnych palonych przy użyciu chromatografii cieczowej z selektywnymi detektorami fluorescencyjnym oraz diodowym (HPLC-FLD/DAD). Stwierdzono bardzo wysoki udział lekkich WWA w sumarycznej zawartości tych związków, natomiast niski udział 15 WWA zalecanych do badań przez Komitet Naukowy ds. Żywności UE.

Hasła kluczowe: WWA, kawy naturalne palone, analiza HPLC-FLD/DAD.
Key words: PAHs, roasted natural coffee, HPLC-FLD/DAD analysis.

Zainteresowanie szerokiego spektrum nauk, w tym nauki o żywności, wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi (WWA) wynika przede wszystkim z ich działania genotoksycznego, mutagennego i kancerogennego (1). Zgodnie z zaleceniem Komisji Europejskiej z dnia 4 lutego 2005 (2) niezbędnym jest przeprowadzenie badań nad poziomami benzo[a]pirenu oraz pozostałych związków należących do 15 WWA wytypowanych przez Komitet Naukowy ds. Żywności UE w produktach spożywczych. Uwzględniając fakt, iż produkty wysokotłuszczowe są potencjalnym źródłem hydrofobowych WWA, kawa zawierająca od 10 do 17% tłuszczu, poza tym poddawana procesowi prażenia, może być w szczególności zanieczyszczona przez poliareny (3, 4). Związki te występują w żywności zazwyczaj jako złożone mieszaniny tzw. lekkich oraz ciężkich WWA.

Celem pracy było zatem oznaczenie zawartości 19 WWA, w tym 4 związków z grupy tzw. lekkich WWA (z listy rekomendowanej do badań przez EPA) oraz 15 WWA wg Komitetu Naukowego UE przy wykorzystaniu metody HPLC-FLD/DAD w wybranych kawach naturalnych palonych.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły kawy dwóch gatunków: Arabika - pochodząca z Brazylii, Peru, Etiopii, Indonezji, Tanzanii oraz Robusta - z Wybrzeża Kości

* Praca finansowana ze środków grantu KBN nr 501 0928 00 29.

Słoniowej, Indonezji, Indii, Ugandy, Wietnamu. Kawy zostały poddane prażeniu w temperaturze 125 - 135°C przy zastosowaniu ogrzewania bezprzeponowego (piece elektryczne). Badaniom poddano po trzy próbki każdej z kaw. Każdą z trzech próbek tego samego asortymentu analizowano w trzech powtórzeniach.

Metodyka badań obejmowała ekstrakcję tłuszczu, oczyszczenie ekstraktu na kolumnie z żelom krzemionkowym, izolację WWA z matrycy tłuszczowej przy wykorzystaniu chromatografii preparatywnej (GPC) oraz jakościowe i ilościowe oznaczenie związków metodą chromatografii cieczowej z detekcją fluorescencyjną oraz diodową (HPLC-FLD/DAD).

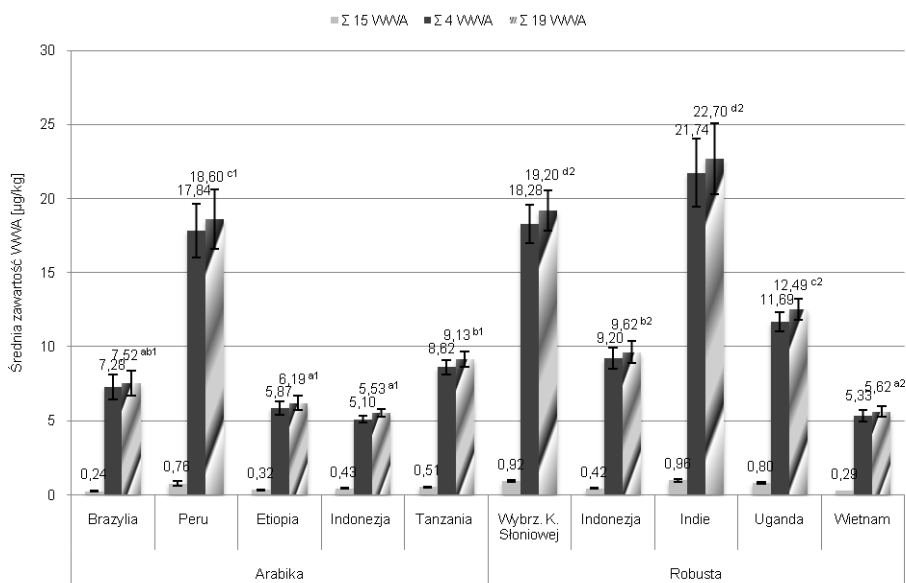
Naważkę kawy zalewano 50 cm³ mieszaniny heksan/ aceton (60/40, v/v) oraz umieszczano w łaźni ultradźwiękowej (30 min.). Uzyskany ekstrakt po przefiltrowaniu oraz zagęszczeniu (do ok. 50 µl rozpuszczalnika) przenoszono na szczyt kolumny wypełnionej Silica żelom (Fluka), a następnie wymywano cykloheksanem. Pierwsze 10 cm³ przesączu odrzucano, a kolejne zebrane 75 cm³ zatężano oraz rozpuszczano w 5 cm³ cykloheksanu. W celu oddzielenia frakcji WWA od związków interferujących zastosowano kolumnę do chromatografii żelowej TSK Gel G1000HXL, 300 x 7,8 mm, 5 µm. Do rozdziału wprowadzano 1 cm³ uprzednio przygotowanej mieszaniny. Rozdział prowadzono metodą izokratyczną przy przepływie 0,8 cm³/min. Fazę ruchomą stanowiła mieszanina cykloheksan/ octan etylu (50/50, v/v). Zastosowano detektor UV-VIS, dł. fali 254 nm. Zebraną frakcję WWA po zagęszczeniu i rozpuszczeniu w 1 cm³ acetonitrylu poddano analizie metodą HPLC-FLD/DAD przy zastosowaniu aparatu HPLC Shimadzu 2010 z detektorem fluorescencyjnym RF-10A_{XL} oraz diodowym SPD-M10A_{VP}. Rozdział prowadzono z zastosowaniem kolumny chromatograficznej BAKERBOND PAH-16 Plus 250 x 3mm, 5 µm firmy WITKO – Baker. Temp. termostataowania kolumny wynosiła 30°C. Analizy wykonywano metodą gradientową przy przepływie 0,5 cm³/min, stosując mieszaninę acetonitryl/ woda, 50/ 50 (A) oraz acetonitryl (B). Zastosowane warunki detekcji: detektor diodowy – 254 nm; detektor fluorescencyjny – zmienne nastawienia wzbudzenia i emisji (Ex/Em): 256/370, 270/420, 270/500, 270/470 nm. Analizę jakościowo-ilościową wykonano metodą standardów zewnętrznych.

Na podstawie wyznaczonych parametrów walidacyjnych stwierdzono, iż zastosowana metoda oznaczania 19 WWA techniką HPLC-FLD/DAD, poza spełnieniem wymagań prawa żywnościowego Unii Europejskiej stawianych metodom analitycznym w zakresie oznaczania benzo[a]pirenu, wykazuje zadowalające wartości parametrów walidacyjnych dla pozostałych 14 WWA z listy KN UE, jak również dla 4 lekkich poliarenow.

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy wykorzystaniu programu Statistica 7.1. Ocenę istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi sumarycznej zawartości 19 WWA dla poszczególnych kaw, w ramach ich dwóch analizowanych gatunków, przeprowadzono stosując test porównań wielokrotnych przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Średnie sumaryczne zawartości 19 WWA, w tym 15 WWA (wg listy KN UE, czyli od cyklopenta[c,d]pirenu do dibenzo[a,h]pirenu) oraz 4 lekkich WWA (fenantrenu, antracenu, fluorantenu oraz pirenu) w badanych kawach naturalnych palonych, oznaczone przy wykorzystaniu metody HPLC-FLD/DAD, przedstawiono na ryc. 1.



Ryc. 1. Średnia zawartość WWA w analizowanych kawach naturalnych palonych [µg/kg].

Fig. 1. Mean content of PAHs in the analysed roasted natural coffee [µg/kg].

Objaśnienia:

a1, b1, c1; a2, b2, c2 – wartości średnie Σ 19 WWA oznaczone innymi literami przy tej samej cyfrze (czyli w ramach jednego z 2 porównań sumarycznej zawartości 19 WWA) oznaczają statystycznie istotną różnicę między średnimi na poziomie $\alpha = 0,5$.

Niezależnie od gatunku kawy oraz miejsca ich pochodzenia, zaobserwowano bardzo podobne profile jakościowe zawartości WWA. Odnotowano, iż 4 lekkie węglowodory (fenantren, antraceni, fluoranteni i piren), rekomendowane do badań przez EPA, stanowiły od 92% do 97% sumarycznej zawartości poliarrenów w kawach Arabika oraz od 94% do 96% z puli WWA oznaczonych w kawach Robusta. Stwierdzono zatem bardzo niski udział ciężkich WWA w zanieczyszczeniu analizowanych kaw. Z listy 15 poliarrenów rekomendowanych do badań przez Komitet Naukowy ds. Żywności UE, oznaczono przede wszystkim

niewielkie ilości benzo[a]antracenu, chryzenu oraz 5-metylochryzenu. Benzo[b]- oraz benzo[k]fluoranten stwierdzono jedynie w śladowych ilościach, odpowiednio w przypadku dwóch kaw Robusta oraz jednej kawy Arabika. W żadnej z próbek kaw nie wykryto obecności benzo[a]pirenu oraz pozostałych ciężkich poliarenow, w tym najbardziej kancerogennych dibenzopirenów.

Wśród kaw palonych Arabika istotnie statystycznie najwyższym poziomem zanieczyszczenia 19 poliarenowi cechowała się kawa pochodząca z Peru (18,60 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Niższe zawartości Σ 19 poliarenow wykazywały kawa z Tanzanii oraz Brazylii (odpowiednio 9,13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i 7,52 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Statystycznie najniższym stopniem zanieczyszczenia 19 WWA cechowały się natomiast kawy Arabika z Etiopii oraz Indonezji (6,19 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i 5,53 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Pośród kaw palonych Robusta najwyższym statystycznie poziomem sumarycznej kontaminacji 19 WWA (wynoszącym 22,70 $\mu\text{g}/\text{kg}$) charakteryzowała się kawa pochodząca z Indii. Nieistotnie statystycznie niższą zawartość Σ 19 WWA stwierdzono w przypadku kawy z Wybrzeża Kości Słoniowej (19,20 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Istotnie statystycznie niższe zawartości Σ 19 WWA, w porównaniu do dwóch wyżej opisanych kaw, zaobserwowano w próbkach kaw pochodzących z Ugandy, Indonezji oraz Wietnamu (12,49 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 9,62 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i 5,62 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (ryc. 1).

Porównywalne wyniki badań zostały opublikowane w innych doniesieniach naukowych. Francuscy badacze stwierdzili, iż w próbkach kaw palonych pobranych z krajowego rynku w puli wszystkich 11 oznaczonych WWA dominujący udział stanowią fenantren, piren oraz fluoranten, a poziom ich zawartości kształtował się w zakresie od 10,0 do 25,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Sumaryczna zawartość 11 poliarenow, a pośród nich 4 lekkich WWA oraz 7 WWA z listy Komitetu Naukowego UE – od benzo[a]antracenu do benzo[g,h,i]perylenu, wahała się w granicach od 21,8 do 64,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (5). W badaniach traktujących o zanieczyszczeniu kaw palonych benzo[a]pirenem, jego zawartość kształtowała się pomiędzy 0,1 a 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ produktu i była uzależniona od stopnia prażenia kawy (3). W innych badaniach zawartość benzo[a]pirenu w kawach silnie palonych wynosiła maksymalnie 22,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$, natomiast w kawach mielonych oraz instant kształtowała się w granicach od poniżej 0,01 $\mu\text{g}/\text{kg}$ do 1,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (5-7).

Stwierdzone w niniejszej pracy bardzo duże zróżnicowanie poziomu sumarycznego zanieczyszczenia kaw naturalnych w ramach ich dwóch analizowanych gatunków może wynikać z różnego stopnia zanieczyszczenia środowiska, a także ze sposobu suszenia kawy po zbiorach. Według innych badaczy również powyższe czynniki różnicują poziom zawartości WWA w kawach. Na poziom zanieczyszczenia kaw palonych WWA wpływają także parametry prażenia kaw, czyli temperatura i czas procesu, jak również jego technika (4, 7, 8). Można zatem stwierdzić, iż odnotowany w niniejszej pracy względnie niski poziom zanieczyszczenia analizowanych kaw wynikał z zastosowania bardzo łagodnych warunków palenia, a więc niskiej temperatury oraz elektrycznego systemu grzewczego. Przemysłowo natomiast kawy prażone są najczęściej w zakresie temperatur 185–190°C. Doniesienia literaturowe wskazują, iż od około 170°C rozpoczyna się właściwy proces prażenia, podczas którego zachodzą reakcje

pirolityczne prowadzące do powstawania WWA (9-11). Kawy prażone długo i w wysokiej temperaturze odznaczają się prawie czarną barwą, ponadto ziarna w wyniku silnego prażenia pękają, a na ich powierzchni gromadzi się tłuszcz, co prowadzi do wyższego poziomu zanieczyszczenia lipofilnymi WWA (11, 12).

WNIOSKI

Odnotowane profile jakościowe i ilościowe zawartości WWA wskazują na środowiskowy charakter zanieczyszczenia analizowanych kaw palonych. Stwierdzony względnie niski poziom zawartości poliarenow w kawach wynikał z zastosowania łagodnych warunków prażenia ziarna przy użyciu elektrycznego systemu grzewczego, które nie sprzyjają powstawaniu WWA, a zwłaszcza ciężkich poliarenow. Niski poziom zanieczyszczenia analizowanych kaw palonych przez WWA wyznacza także niskie poziomy zanieczyszczenia ich naparów.

M. Ciecierska, M. Obiedziński

DETERMINATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS CONTENT IN ROASTED NATURAL COFFEE BY HPLC-FLD/DAD METHOD

Summary

The objective of this research was to perform studies dealing with the contamination of selected roasted natural coffee by 19 PAHs (including 4 light PAHs listed by EPA and 15 PAHs listed by the EU Scientific Committee on Food). The employed methodology comprised fat extraction, extract's clean up using silica gel column, PAHs isolation from fat matrix by gel permeation chromatography (GPC) and their determination using high performance liquid chromatography with selective detectors (HPLC-FLD/DAD).

Similar quality profiles of PAHs with light PAHs being predominant were revealed for all tested coffee. Summary content of 19 PAHs in the analyzed coffee was within 5.53 – 22.70 µg/kg. The obtained quality and quantity profiles of PAHs indicate the environmental nature of coffee contamination. Moreover, relatively low level of PAHs content is the consequence of the applied mild parameters of roasting coffee beans with the use of the electrical heating system, which does not create favourable conditions for the formation of PAHs, particularly heavy ones.

PIŚMIENNICTWO

1. Scientific Committee on Food: Opinion of the Scientific Committee on Food on the risks to human health of polycyclic aromatic hydrocarbons in food. CF/CNTM/PAH/29 Final 4 December 2002.– 2. Commission Recommendation 2005/108/EC of 4 February 2005 on the further investigation into the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in certain foods. Official Journal of the European Union, L 34/3.– 3. *De Kruif N., Schouten T., Gerrit H., Van der Stegen D.*: Rapid determination of benzo(a)pyrene in roasted coffee and coffee brew by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Agric. Food Chem.*, 1987; 35: 545-549.– 4. *Houessou J.K., Goujot D., Heyd B., Camel V.*: Modeling the formation of some polycyclic aromatic hydrocarbons during the roasting of Arabica coffee samples. *J. Agric. Food Chem.*, 2008; 56: 3648-3656.– 5. *Houessou J.K., Delteil C.*,

Camel V.: Investigation of sample treatment steps for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in ground coffee. *J. Agric. Food Chem.*, 2006; 54: 7413-7421.– 6. *Lai J.P., Niessner R., Knopp D.*: Benz[a]pyrene imprinted polymers: synthesis, characterization and SPE application in water and coffee samples. *Analyt. Chim. Acta*, 2004; 522: 137-144.– 7. *Garcia-Falcón M.E., Cancho-Grande B., Simal-Gandara J.*: Minimal clean-up and rapid determination of PAHs in instant coffee. *Food Chem.*, 2005; 90: 643-647.– 8. *Orecchio S., Ciotti V.P., Culotta L.*: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coffee brew samples: analytical method by GC-MS, profile, levels and sources. *Food Chem. Toxicol.*, 2009; 47 (4): 819-826.– 9. *Franca A.S., Mendonca J.C.F., Oliveira S.D.*: Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. *LWT*, 2005; 38: 709-715.– 10. *Houessou J.K., Benac C., Delteil C., Camel V.*: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee brew using solid-phase extraction. *J. Agric. Food Chem.*, 2005; 53: 871-879.

11. *Yeretizian Ch., Jordan A., Badoud R.*: From the green bean to the cup of coffee: investigating coffee roasting by on-line monitoring of volatiles. *Eur. Food Res. Technol.*, 2002; 214: 92-104.– 12. *Matajszczyk E.*: Czynniki kształtujące jakość kawy mielonej. *Przem. Spoż.*, 2001; 55 (1): 26-28.

Adres: 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159c.

Janusz F. Pomianowski, Jolanta Wieczorek, Waclaw Mozolewski

POZOSTAŁOŚĆ CHLOROWANYCH WĘGLOWODORÓW W KETCHUPACH

Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności, Wydział Nauki o Żywności
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Kierownik: dr hab. inż. *E. Gujska*, prof. UWM

W oparciu o przeprowadzone badania podjęto próbę ustalania czy w rynkowych przetworach roślinnych (ketchupach) występują trwale zanieczyszczenia organiczne, ze szczególnym uwzględnieniem chlorowanych węglowodorów.

Hasła kluczowe: DDT, γ -HCH, insektycydy, ketchup, produkty rynkowe.

Keywords: DDT, γ -HCH, insecticides, ketchup, market products.

Jakość toksykologiczna żywności zależy w znacznej mierze od stanu całego środowiska przyrodniczego oraz od metod i warunków pozyskiwania, przechowywania i przetwarzania surowców. Zanieczyszczenia występujące w żywności, spożywane nawet w małych ilościach, mogą powodować groźne następstwa. Tym bardziej, że niektóre zanieczyszczenia chemiczne występujące w żywności mogą się kumulować wzdłuż łańcucha troficznego. Wśród trwałych zanieczyszczeń organicznych występujących w żywności w dalszym ciągu budzą obawy pestycydy (1-4). Wśród nich przeważają chlorowane węglowodory, stosowane jako środki ochrony roślin (5, 6). Substancje te służyły również jako środki do zwalczania szeregu pasożytów zwierząt. Insektycydy chloroorganiczne przyczyniły się do ograniczenia zachorowań na malarię poprzez niszczenie przenoszących ją stawonogów (7). W taki sposób wprowadzono do środowiska ogromne ilości bardzo trwałych i szkodliwych dla człowieka związków chemicznych (8). Mimo, że w większości krajów związki te zostały wycofane z obrotu (5), to jednak ciągle są wykrywane w środowisku i żywności.

W związku z tym za cel niniejszej pracy przyjęto ocenę pozostałości związków chloroorganicznych w rynkowych przetworach warzywnych – ketchupach.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły najbardziej popularne wśród konsumentów ketchupy „łagodne” pięciu producentów zakupione w sieci detalicznej w Olsztynie. Z ketchupów wydzielano substancje lipidowe metodą ekstrakcyjną stosując

mieszaninę eteru etylowego i eteru naftowego w stosunku 1:1. W wyodrębnionym tłuszczu oznaczano zawartość insektycydów chloroorganicznych takich jak: γ -HCH, DDT oraz jego metabolity DDE, DDD - metodą opisaną przez Amarowicza 1986 (9). Identyfikację analizowanych insektycydów przeprowadzono za pomocą chromatografii gazowej. Wykorzystano w tym celu chromatograf gazowy PU 4600 z detektorem wychwytu elektronów - ECD. Stosowano następujące parametry rozdziału: kolumna szklana o długości 21000 mm oraz średnicy wewnętrznej 4mm. Nośnik Supelcoport 100/120. Faza ciekła 1,5% (SP - 2250 + 1,95% SP - 2401). Zastosowane temperatury: detektora 250°C, injektora 225°C, kolumny 195°C. Gazem nośnym był argon przy szybkości przepływu 60 cm³/min.

Identyfikację poszczególnych związków przeprowadzono za pomocą porównania czasów retencji odpowiednich wzorców oraz badanych próbek.

Otrzymane wyniki opracowano statystycznie uwzględniając średnie arytmetyczne \bar{X} , odchylenia standardowe $S(x)$ oraz współczynnik zmienności V . Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi ustalono testem *Duncana* przy poziomie istotności $p \leq 0.05$. Obliczenia wykonano przy użyciu programu komputerowego Statistica 9.0 PL.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W tabeli I zestawiono wyniki oznaczania insektycydów chloroorganicznych w ketchupach różnych producentów, pozyskanych z detalicznego rynku olsztyńskiego. We wszystkich badanych ketchupach stwierdzono obecność wszystkich oznaczanych związków: γ -HCH, DDT oraz jego metabolitów DDE i DDD. Oceniając ilości poszczególnych związków zaobserwowano zróżnicowanie ilości γ -HCH, w zależności od producenta ketchupu. Różnice te były istotne statystycznie przy poziomie istotności $p \leq 0,05$. Jednocześnie warto tu zwrócić uwagę na fakt przekroczenia dopuszczalnego poziomu stężenia tej substancji dla owoców i warzyw czy pozostałych środków spożywczych pochodzenia roślinnego (10). Porównując poziomy stężenie DDT w ketchupach zaobserwowano, że ketchup producenta 3 zawierał ponad trzy razy więcej tego pestycydu niż ketchup producenta 5. Zawartość DDT w ketchupach pozostałych producentów była zbliżona. Takie ilości tego związku nie znalazły swego odzwierciedlenia w ilości jego metabolitów DDD oraz DDE. Zawartość DDD w badanych ketchupach producentów 2, 3, 4 oraz 5 była dość niska i wahała od 0,0014 do 0,0037 mg/kg. Od tych wielkości znacznie odbiegał ketchup producenta 1 zawierający 0,0145 mg/kg DDD. Takie ilości tego metabolitu mogą wskazywać na przemiany zachodzące w środowisku przyrodniczym. Poparciem tej tezy mogą być wyniki analiz kolejnego metabolitu DDE. Ilości tego związku we wszystkich badanych ketchupach były zbliżone i wahały się od 0,0104 mg/kg u producenta 2 do 0,0169 mg/kg od producenta 4. Uzyskane wyniki potwierdzają dane literaturowe (11), że głównym metabolitem DDT pozostaje DDE. Można zatem sądzić, że do środowiska nie trafiają nowe porcje DDT.

Dość duże zróżnicowanie ilości DDT oraz jego metabolitów w ketchupach znalazło swoje odzwierciedlenie w łącznej ilości DDT, DDE i DDD. Największą łączną ilością tych substancji cechował się ketchup producenta 1 (0,0489 mg/kg) nieco mniejszą ketchup producenta 3 (0,0419 mg/kg) a najmniejsza ketchup producenta 5 (0,0229 mg/kg). Warto tu podkreślić fakt, że w żadnym z badanych ketchupów nie przekroczono ilości DDT dopuszczonych prawem (10).

Tabela 1. Insektycydy chloroorganiczne w ketchupach różnych producentów [mg/kg]

Table 1. Organochlorine insecticides in ketchup from different producers [mg/kg]

Ketchup	Parametry	γ -HCH	DDE	DDD	DDT	Σ DDT
1 (n=5)	X	0,0202a	0,0162b	0,0145a	0,0182b	0,0489a
	S(x)	0,0011	0,0003	0,0008	0,0002	0,0006
	V [%]	5,25	1,85	5,17	1,10	1,18
2 (n=5)	X	0,0120bc	0,0104e	0,0020b	0,0150d	0,0274d
	S(x)	0,0004	0,0002	0,0002	0,0022	0,0007
	V [%]	3,33	2,31	1,10	14,66	2,41
3 (n = 5)	X	0,0110b	0,0124c	0,0017b	0,0278a	0,0419b
	S(x)	0,0004	0,0002	0,0001	0,0011	0,0008
	V [%]	3,63	1,20	5,99	3,85	1,68
4 (n = 5)	X	0,0389bd	0,0169a	0,0014b	0,0160c	0,0343c
	S(x)	0,0020	0,0005	0,0001	0,0002	0,0007
	V [%]	5,14	2,95	8,76	1,25	1,99
5 (n = 5)	X	0,0117b	0,0117d	0,0037bc	0,0075e	0,0229e
	S(x)	0,0009	0,0004	0,0003	0,0004	0,0005
	V [%]	7,27	3,42	6,76	4,93	2,04

a - e - w kolumnach - różnice istotne statystycznie gdy $p \leq 0.05$
a - e - in column - statistically significant differences at $p \leq 0.05$

WNIOSKI

1. Wszystkie badane ketchupy zawierają szkodliwe insektycydy chloroorganiczne, takie jak γ -HCH oraz DDE, DDD i DDT.

2. Należy w dalszym ciągu monitorować obecność tych związków w żywności. Jednocześnie w celu uniknięcia przekroczenia odpowiednich limitów prawnych należy w procesie produkcyjnym zwrócić uwagę na odpowiedni dobór surowców.

J. F. Pomianowski, J. Wieczorek, W. Mozolewski

RESIDUE OF CHLORINATED HYDROCARBONS IN KETCHUPS

Summary

Aim of this study was to evaluate the content of chlorinated hydrocarbons Σ DDT, DDE, DDD and γ -HCH in ketchups from different manufacturers from the Olsztyn market. All tested substances were in

all analyzed ketchup. In the case of γ -HCH it was found that it exceeded the limits established for fruit and vegetables. Different amounts of DDT and its metabolites were found in ketchup. Such quantities of these compounds reflect the amount of Σ DDT. The concentrations of Σ DDT were lower than the acceptable limit.

PIŚMIENNICTWO

1. *Falandysz J.*: Ocena narażenia środowiskowego na trwałe i toksyczne związki halogenoorganiczne. Roczn. PZH 1996; 47: 41-57. - 2. *Michna W.*: Raport z badań monitorowych nad jakością gleb, roślin, produktów rolniczych i spożywczych w 1997 roku. Wyd. MRGŻ i PIO, Warszawa, 1998. - 3. *Niewiadowska A., Semeniuk S., Żmudzki J.*: Pesticide residues in food of animal origin in 1997-2006 in Poland. Med. Wet., 2008; 64: 1221-1224. - 4. *Pomianowski J.F., Kubiak M.S.*: Jakość toksykologiczna mięsa drobiowego z rynku lokalnego. Biul. Nauk. UWM, 2009; 30 - 5. *Lewandowska A.*: Przemiany oraz drogi przemieszczania się pestycydów i ich pozostałości w środowisku. Pestycydy. 1997; 3-4: 63-68. - 6. *Czaplicki E., Podgórska B., Stobiecki S.*: Substancje organiczne trwale skażające środowisko – POP's (Persistent Organic Pollutants). Ochr. Rośl., 1998; 42: 3-5. - 7. *Pruszyński S.*: DDT – symbol przełomu i postępu czy zagrożenia w ochronie roślin? Ochr. Rośl., 2002; 7: 8-10. - 8 *Witkiewicz W., Romaniuk K., Witkiewicz A.*: Chlorowane węglowodory w środowisku. Życie Wet. 2000; 75: 579-581. - 9. *Amarowicz R., Smoczyński S., Borejszo Z.*: A rapid method of isolation of chlorinated hydrocarbons from fat. Roczn. PZH, 1986; 37: 542-545. - 10. Dz. U. z 2004 r., nr 85, poz. 801, z późn. zm. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 16 kwietnia 2004 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych poziomów pozostałości chemicznych środków ochrony roślin, które mogą znajdować się w środkach spożywczych lub na ich powierzchni.

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

Aleksandra Chmielewska, Lucyna Konieczna, Henryk Lamparczyk

OSNACZANIE ENROFLOKSACYNY W OSOCZU KRWI ZWIERZĘCEJ METODĄ RP-HPLC Z DETEKcją FLUORYMETRYCZNĄ

Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego w Gdańsku
Kierownik: dr hab. *Tomasz Bączek*, prof. nadzw.

Przeprowadzone badania enrofloksacyiny u świń po domięśniowym podaniu jednorazowej dawki leku pozwoliły na wyznaczenie całkowitego profilu farmakokinetycznego badanego związku. Opracowana metodyka może być z powodzeniem wykorzystana w badaniach biodostępności, biorównoważności i monitoringu stężeń po podaniu terapeutycznej dawki leku. Przedstawiona metoda jest specyficzna i selektywna, a prosta procedura przygotowania próbki umożliwia zastosowanie opracowanej metodyki również do oznaczeń seryjnych w badaniach pozostałości enrofloksacyiny w tkankach zwierzęcych, a tym samym do oceny jakości żywności pochodzenia zwierzęcego.

Hasła kluczowe: enrofloksacyina, osocze krwi zwierzęcej, wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC).

Keywords: enrofloxacin, animal plasma, high-pressure liquid chromatography (HPLC).

Postępowi cywilizacji coraz częściej towarzyszy występowanie zjawiska lekooporności u ludzi. Związane to jest niewątpliwie m.in. ze stosowaniem różnego rodzaju chemioterapeutyków jako leków weterynaryjnych.

Enrofloksacyina jest syntetycznym chemioterapeutykiem z grupy fluorochinolonów, należącym do najnowszej III generacji leków tej grupy. Mechanizm jej działania polega na hamowaniu aktywności gyrazy DNA (topoizomerazy), enzymu warunkującego proces zwijania się nici DNA. Dzięki szerokiemu spektrum działania antybakteryjnego (bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne, mykoplazmy, riketsje oraz chlamydie), korzystnym właściwościom farmakokinetycznym oraz niskiej toksyczności (posiada szeroki margines bezpieczeństwa) znajduje od lat szerokie zastosowanie w weterynarii. Jest wysoko skuteczna w zwalczaniu chorób ogólnych i miejscowych u zwierząt wywołanych przez wrażliwe na ten lek drobnoustroje, a w szczególności chorób układu oddechowego, pokarmowego, moczowego, rozrodczego i zakażeń okołolęgowych oraz zakażeń wtórnych towarzyszących chorobom wirusowym.

W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania chorobami bakteryjnymi wywołanymi przez drobnoustroje wrażliwe na działanie enrofloksacyny u bydła, świń, psów i kotów (1, 2). Lek ten stosuje się przede wszystkim w zwalczaniu infekcji bakteryjnych przewodu pokarmowego i dróg oddechowych (1). Szczególnym wskazaniem do podawania tej substancji leczniczej u świń i bydła są pasterelozy, mykoplazmozy, kolibaciloza, kolisepticemia oraz salmonellozy. U świń z powodzeniem stosowano enrofloksacynę w leczeniu chorób o złożonej etiologii takich jak zanikowe zapalenie nosa, enzootyczna pneumonia czy zespół MMA (3). W przypadku braku lub niezadowalającej odpowiedzi na podanie innych klas leków przeciwbakteryjnych czego skutkiem jest niedostateczna reakcja na leczenie, należy stosować leki z grupy fluorochinolonów, w tym enrofloksacynę. Powszechne występowanie chorób zwłaszcza o złożonej etiologii u zwierząt zwiększa ryzyko wystąpienia pozostałości aplikowanych leków w produktach pochodzenia zwierzęcego, co z kolei ma ujemny wpływ na zdrowie człowieka. Dlatego wciąż poszukiwane są wiarygodne, proste i szybkie metody analityczne, które pozwoliłyby na rutynowe badania farmakokinetyczne enrofloksacyny, przewidywanie jej losów w organizmie oraz ocenę skuteczności działania preparatów zawierających analizowaną substancję leczniczą. W dostępnej literaturze naukowej, w tym szczególnie w ostatnich latach, znajdujemy wiele przykładów przeprowadzonych badań farmakokinetycznych enrofloksacyny u świń (4), mlecznych owiec (5), koni (6), indyków (7), ryb (8). Ze względu na obecność w badanym związku chromoforów, a tym samym zdolność do emitowania energii o charakterystycznej długości fali, najczęściej do analiz farmakokinetycznych enrofloksacyny wykorzystuje się metody chromatograficzne z detekcją spektrofotometryczną (UV) (5, 7-11) i fluorescencyjną (12, 13). Prezentowana praca jest przykładem zastosowania chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz do oznaczenia enrofloksacyny w osoczu krwi zwierzęcej po podaniu jednorazowej dawki leku w formie iniekcji domięśniowej.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiło osocze krwi świni. Badania przeprowadzono na grupie 8 zdrowych osobników po podaniu domięśniowo jednorazowej dawki leku (enrofloksacyna 5% roztwór do wstrzykiwań) w ilości 2,5 mg na 1 kg m.c. Wykonanie badań poprzedziło uzyskanie zgody lokalnej Komisji Bioetycznej.

Zwierzęta żywione były mieszanką paszy przemysłowej typu PT-2 (50%) ze śrutą pszenną *ad libitum*, woda do picia podawana była bez ograniczeń.

Krew do analizy w ilości 10 ml pobierano z żyły brzeżnej ucha przed podaniem preparatu, a następnie w czasie 1.0; 2.5; 4.0; 7.0; 12.0; 24 h od chwili przyjęcia preparatu. Próbkę krwi pobierano do heparynizowanych probówek, odwirowywano, a uzyskane osocze przechowywano w temperaturze -20°C do momentu oznaczenia leku. W tym celu do 0,2 ml osocza dodawano wzorzec wewnętrzny (chininy chlorowodorek) w ilości 40 µg/ml i 3 ml dichlorometanu. Mieszaninę wytrząsano

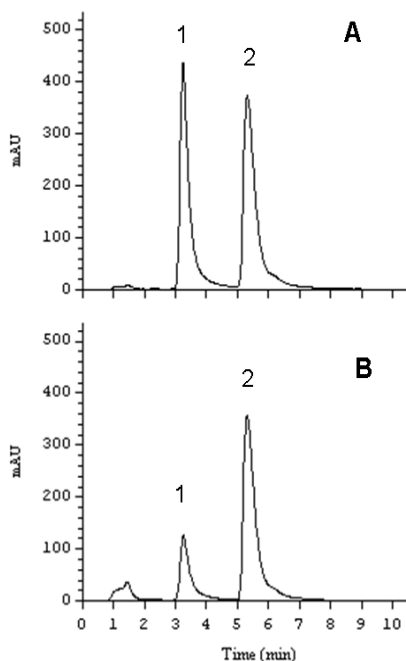
mechanicznie przez 10 min, a następnie odwirowywano przy 3500 obr./min w czasie 15 minut. Po odrzuceniu warstwy wodnej, warstwę organiczną przenoszono do czystej probówki, po czym odparowywano do sucha na łaźni wodnej w atmosferze sprężonego powietrza w 45°C. Suchą pozostałość rozpuszczano w 600µl metanolu, odwirowywano przy 10 000 obr./min. i dozowano na kolumnę chromatograficzną.

Do separacji chromatograficznej zastosowano chromatograf cieczowy firmy Knauer z detektorem fluorescencyjnym RF-551 firmy Shimadzu oraz system akwizycji danych EUROCHROM 2000.

Postępowanie analityczne realizowano w oparciu o wysokosprawną chromatografię cieczową w układzie faz odwróconych z detekcją fluorymetryczną. Długość fali wzbudzenia detektora fluorescencyjnego wynosiła 280 nm, długość fali emisji 445 nm. Właściwą separację chromatograficzną uzyskano na kolumnie LiChrospher-100 C₁₈ 5µm 125×4mm. Fazą ruchomą był binarny układ metanol-woda (68:32 v/v) doprowadzony do pH 3,4 za pomocą 85% kwasu fosforowego, przepływ 1ml/min. W opisanych warunkach czas retencji enrofloksacyny wynosił 3,2 min, natomiast wzorca wewnętrznego (chininy chlorowodorek) 5,3 min. Całkowity czas analizy wraz z regeneracją kolumny trwał 10 minut. Liniowość została doświadczalnie potwierdzona w szerokim zakresie stężeń od 10 do 1000 ng/ml. Równanie regresji prostej wyznaczone metodą najmniejszych kwadratów z współczynnikiem korelacji (r) 0.999, posłużyło do wyliczenia wartości stężeń enrofloksacyny w osoczu krwi każdego z osobników. Dokonano oceny statystycznej opracowanej metody. Przebadano specyficzność i selektywność, wyznaczono granicę wykrywalności i oznaczalności, zakres liniowości, powtarzalność oraz odtwarzalność metody. Uzyskane wyniki walidacji w pełni odpowiadają wymogom stawianym oznaczeniom ilościowym.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Zastosowanie fluorochinolonów, głównie enrofloksacyny w celu leczenia chorób infekcyjnych układu pokarmowego i oddechowego u trzody chlewnej i bydła jest powszechne, zwłaszcza w przypadku, gdy nie można stosować innych leków antybakteryjnych lub gdy infekcja ma charakter złożony. Okres karencji dla tkanek jadalnych u świń i bydła wynosi 10 dni, pomimo podstaw prawnych (14) spotyka się jednak przypadki występowania pozostałości enrofloksacyny w tkankach, co ma niekorzystny wpływ na organizm człowieka (15). Badania farmakokinetyczne są podstawowym badaniem warunkującym odpowiednią biodostępność leku oraz jego skutek terapeutyczny. Przydatność opracowanej metodyki oznaczania enrofloksacyny potwierdzono i zweryfikowano w badaniach farmakokinetycznych u ośmiu świń. Reprezentatywne chromatogramy ekstraktów osocza krwi pobrane od badanego osobnika po 2.5 i 24 h od momentu podania leku przedstawiono na ryc. 1.



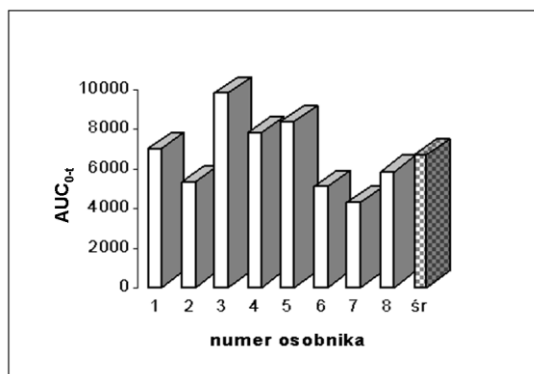
Ryc. 1. Chromatogram ekstraktu osocza krwi osobnika nr 6 po 2,5 h (A) i 24h (B) od podania domięśniowo jednorazowej dawki enrofloksacyny w ilości 2,5 mg na 1kg m.c.

1- enrofloksacyna; 2- chininy chlorowodorek (wzorzec wewnętrzny).

Fig. 1. Chromatogram of pig plasma extract from subject number 6 after 2,5 h (A) and 24 h (B) following single intramuscular injection of 2,5 mg per 1kg bw. of enrofloxacin.

1- enrofloxacin; 2- chinine hydrochloride (internal standard).

Wyznaczone podstawowe parametry farmakokinetyczne (c_{\max} , T_{\max} , AUC_{0-t}) odpowiadają oczekiwany wartościom po podaniu jednorazowej dawki leku i są porównywalne z wartościami literaturowymi (4). Wartości AUC_{0-t} dla poszczególnych osobników po domięśniowym podaniu jednorazowej dawki leku 2,5 mg na 1 kg m.c. przedstawiono na ryc. 2. Odmiennym kolorem oznaczono średnią wartość AUC_{0-t} . Po podaniu zaobserwowano szybkie narastanie stężenia enrofloksacyny w osoczu krwi badanych osobników z osiągnięciem stężenia maksymalnego po około 3 h. Do całkowania pól cząstkowych pod krzywą stężenie–czas zastosowano metodę Purvesa. Przeprowadzenie badań farmakokinetycznych jest podstawowym i koniecznym warunkiem przed dopuszczeniem leku do obrotu. Uzyskane wyniki wskazują, iż enrofloksacyna charakteryzuje się dobrą biodostępnością. Zgodnie z wytycznymi o stosowaniu fluorochinolonów pod pojęciem dopuszczalnej dawki należy rozumieć dawkę minimalną, a jej zwiększenie uzasadnione jest tylko w przypadku oporności lub słabej skuteczności. Udowodniono pięciokrotnie wyższą skuteczność enrofloksacyny w porównaniu z innymi fluorochinolonami. W oparciu o dostępne dane enrofloksacyna jako pierwszy lek z tej grupy wykazuje aktualnie taką samą a nawet wyższą skuteczność.



Ryc. 2. Wyznaczone wartości AUC_{0-t} dla poszczególnych osobników po domięśniowym podaniu jednorazowej dawki leku 2,5 mg na 1kg m.c. Odmiennym kolorem oznaczono średnią wartość AUC_{0-t} .

Fig. 2. Determined AUC_{0-t} values for individual subjects after a single intramuscular dose of 2.5 mg per 1 kg bw. of drug. A different colour was marked an average value of AUC_{0-t} .

WNIOSKI

Zaproponowana metodyka analizy farmakokinetycznej enrofloksacyny w osoczu krwi świń przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem fluorescencyjnym o wysokiej czułości umożliwiła wyznaczenie całkowitych profili farmakokinetycznych u przebadanych świń. Może być z powodzeniem stosowana zarówno do badań farmakokinetycznych w osoczu innych zwierząt, do badań pozostałości enrofloksacyny w tkankach zwierzęcych oraz do oceny jakości żywności pochodzenia zwierzęcego. Ponadto krótki czas analizy oraz szybkie i proste przygotowanie próbek pozwalają na wykonanie oznaczeń seryjnych i monitorowanie stężeń enrofloksacyny w płynach ustrojowych zwierząt.

A. Chmielewska, L. Konieczna, H. Lamparczyk

DETERMINATION OF ENROFLOXACIN IN ANIMAL PLASMA SAMPLES BY RP-HPLC METHOD WITH FLUORESCENCE DETECTION

Summary

In this study, we have been able to develop and validate a HPLC method, which is accurate and sensitive, and allows complete (92%) recovery of enrofloxacin from pig plasma. The reported RP-HPLC method used simple extraction procedure. The assay was specific for the determination of enrofloxacin concentrations in pig plasma after administration of single intramuscular 2,5 mg/kg dose of enrofloxacin. We conclude, that HPLC analysis is suitable for use in studies to examine the disposition of its in pig plasma and may be applicable as an alternative to other separation methods for the analysis of enrofloxacin.

PIŚMIENICTWO

1. Zhang L.L., Zhang J.R., Guo K., Ji H., Zhang Y., Jiang S.X.: Effects of fluoroquinolones on CYP4501A and 3A In Male broilers. Res. Vet. Sci., 2011; 90: 99-105. – 2. Validation o fan HPLC-UV

method according to the European Union Decision 2002/657/EC for the simultaneous determination of 10 quinolones in chicken muscle and egg yolk. *J. Chromatogr. B*, 2007; 859: 246-255. – 3. *Sumano L.H., Gutierrez O.L., Zamora Q.M.*: Strategic administration of enrofloxacin in poultry to achieve higher maximal serum concentrations. 2003; 165: 143-148. – 4. *Wiuiff C., Lykkesfeldt J., Svendsen O., Aarestrup F.M.*: The effect of oral and intramuscular administration and dose escalation of enrofloxacin on the selection of quinolone resistance among *Salmonella* and coliforms in pig. *Res. Vet. Sci.* 2003; 75: 185-193. – 5. *Haritova A., Lashev L., Pashov D.*: Pharmacokinetics of enrofloxacin in lactating sheep. *J. Chromatogr. A*, 2003; 74: 241-245. – 6. *Dunnett M., Richardson D.W., Lees P.*: Detection of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in equine hair. *Res. Vet. Sci.* 2004; 77: 143-151. – 7. *Dimitrova D.J., Lashev L.D., Yanev S.G., Pandova B.*: Pharmacokinetics of enrofloxacin in turkeys. *Res. Vet. Sci.*, 2007; 82: 392-397. – 8. *Koc F., Unev K., Atamanalp M., Tumer L., Kaban G.*: Pharmacokinetic disposition of enrofloxacin in brown trout (*Salmo trutta fario*) after oral and intravenous administrations. *Aquaculture* 2009; 295: 142-144. – 9. *e Souza M.J., Bittencourt C.F., Morsach L.M.*: LC determination of enrofloxacin. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2002; 28: 1195-1199. – 10. *Idowu O.R., Peggins J.O., Cullison R., von Bredow J.*: Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin in lactating dairy cows and beef steers following intravenous administration of enrofloxacin. *Res. Vet. Sci.*, 2010; 89: 230-235. – 11. *Wu G., Meng Y., Zhu X., Huang Ch.*: Pharmacokinetics and tissue distribution of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in the Chinese mitten-handed crab, *Eriocheir sinensis*. *Anal. Biochem.*, 2006; 358: 25-30. – 12. *Zeng Z., Dong A., Yang G., Chen z., Huang X.*: Simultaneous determination of nine fluoroquinolones in egg white and egg yolk by liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr. B*, 2005; 821: 202-209. – 13. *Ho C., Sin D.W.M., Tang H.P.O., Chung L.P.K., Siu S.M.P.*: Determination and on-line clean-up of (fluoro)quinolones in bovine milk using column-switching liquid chromatography fluorescence detection. *J. Chromatogr. A*, 2004; 1061: 123-131. – 14. Art. 7 ust. 2 ustawy z dnia 11 maja 2001 r. o warunkach zdrowotnych żywności i żywienia (Dz. U. Nr 63, poz. 634, z późn. zm.²⁾). – 15. *Posytniak A., Zmudzki J., Semeniuk S.*: Effect of the matrix and sample preparation on the determination of fluoroquinolone residues in animal tissues. *J. Chromatogr. A*, 2001; 914: 89-94.

Adres: 80-416 Gdańsk, ul Gen. Hallera 107.

Joanna Filon¹⁾, Alicja Karwowska¹⁾, Jan Karczewski¹⁾, Gabriela Kmiecik²⁾

ZAWARTOŚĆ OŁOWIU W PRODUKTACH ZBOŻOWYCH Z TERENU WOJEWÓDZTWA PODLASKIEGO

¹⁾ Zakład Higieny i Epidemiologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
Kierownik: prof. dr hab. n. med. *J. K. Karczewski*

²⁾ Zakład Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
Kierownik: prof. dr hab. *Z. Mackevič*

W pracy określono zawartość ołowiu w produktach zbożowych z terenu województwa podlaskiego. Stężenie ołowiu oznaczano metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej (ASA). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że średnie zawartości ołowiu w badanych produktach zbożowych nie przekraczały obowiązujących w Polsce norm. Przekroczenie dopuszczalnej zawartości Pb stwierdzono dopiero na poziomie 90-percentyla (w kaszy gryczanej i otrębach).

Hasła kluczowe: ołów, produkty zbożowe, atomowa spektrometria absorpcyjna.

Key words: lead, cereal products, atomic absorption spectrometry.

Przetwory zbożowe stanowią istotny składnik codziennej diety (ok. 30%). Są one źródłem przede wszystkim węglowodanów, białka oraz składników mineralnych (1, 2).

Produkty zbożowe, obok innych produktów roślinnych, dostarczają znacznych ilości metali ciężkich do organizmu człowieka. Metale te stanowią istotne zagrożenie dla zdrowia ludzkiego. Spośród nich na szczególną uwagę zasługuje ołów, który jest silnie toksyczny, łatwo przenika przez bariery biologiczne i ulega kumulacji w narządach wewnętrznych. Do narządów najbardziej narażonych na zatrucie ołowiem należą: wątroba, nerki, szpik kostny i mózg. Wykazuje on działanie mutagenne i rakotwórcze, indukuje nowotwory dróg oddechowych, rzadziej dróg moczowych i żołądka (3).

Celem pracy było określenie zawartości ołowiu w produktach zbożowych z terenu województwa podlaskiego.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły próbki produktów zbożowych, zakupione w różnych placówkach handlu detalicznego w woj. podlaskim w 2010 i 2011r. Badaniami objęto 110 próbek produktów zbożowych: mąki (pszenne i żytnie), kasze (gryczana, jagłana, jęczmienna i manna), otręby, pieczywo (białe, razowe, mieszane i chrupkie), makarony, ryż oraz płatki (kukurydziane, jęczmienne i owsiane).

Stężenia Pb w próbkach, po uprzedniej mineralizacji w piecu muflowym i rozpuszczeniu w 3 ml 1 mol/dm³ HNO₃, oznaczano metodą ASA z atomizacją elektrotermiczną w kuwecie grafitowej z korekcją tła *Zeemana*, przy długości fali 283,3 nm, na aparacie Z-5000 firmy Hitachi. Dokładność metody weryfikowano na certyfikowanym materiale odniesienia NSC ZC73009 - mąka.

Dokonano analizy zawartości Pb w badanych próbkach w zależności od rodzaju produktu oraz oceniono stopień zanieczyszczenia produktów spożywczych Pb w oparciu o obowiązujące w Polsce wymagania (4, 5).

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie przy pomocy programu komputerowego Statistica PL 7.1. Analizę zmian zawartości Pb w badanych produktach w zależności od rodzaju produktu dokonano metodą jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA stosując test *Duncana*. Za poziom istotności w obliczeniach przyjęto $p \leq 0,05$.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W tabeli I zestawiono wyniki oznaczeń Pb w poszczególnych produktach zbożowych oraz średnie zawartości i wartości 90-percentyla Pb w odniesieniu do obowiązujących w Polsce wymagań (4, 5).

Poziom Pb w woj. podlaskim wahał się w granicach od 0,007 mg/kg do 0,375 mg/kg w zależności od rodzaju produktu zbożowego. Jego średnia zawartość wynosiła $0,058 \pm 0,0662$ mg/kg, mediana równała się 0,033 mg/kg, a 90% wyników nie przekraczało 0,124 mg/kg.

Na podstawie przedstawionych wyników można stwierdzić wyraźny rozrzut zawartości badanych pierwiastków w obrębie jednego asortymentu. Najniższą średnią zawartość Pb odnotowano w kaszy mannie ($0,021$ mg/kg \pm 0,0069), a 90% wyników nie przekraczało 0,029 mg/kg. Niewiele wyższe stężenie badanego metalu było w płatkach owsianych ($0,022$ mg/kg \pm 0,0130) i kaszy jaglanej ($0,024$ mg/kg \pm 0,0058).

Analiza statystyczna wykazała (ryc. 1) istotnie wyższą w porównaniu z innymi produktami zbożowymi zawartość Pb w kaszy gryczanej ($0,144$ mg/kg \pm 0,2010), otrębach ($0,130$ mg/kg \pm 0,0828) i pieczywie chrupkim ($0,124$ mg/kg \pm 0,0000). W 10 % badanych próbek kaszy gryczanej zawartość Pb wynosiła 0,375 mg/kg.

Tabela 1. Zawartość Pb w produktach zbożowych pochodzących z woj. podlaskiego [mg/kg]

Table 1. Pb content in cereal products from Podlasie Province [mg/kg]

Produkty zbożowe	Zawartość Pb [mg/kg produktu]				% wartości dopuszczalnej	
	Rozrzut	Mediana	$\bar{X} \pm SD$	90-percentyl	\bar{X}	90-percentyl
kasza gryczana	0,017-0,375	0,038	0,144±0,2010	0,375	72,0	187,5
kasza jaglana	0,020-0,028	0,024	0,024±0,0058	0,028	12,0	14,0
kasza jęczmienna	0,011-0,179	0,023	0,059±0,0712	0,179	29,5	89,5
kasza manna	0,017-0,029	0,017	0,021±0,0069	0,029	10,5	14,5
makaron	0,066-0,299	0,038	0,061±0,0706	0,162	20,3	54,0
mąka pszenna	0,009-0,228	0,023	0,060±0,0706	0,157	30,0	78,5
mąka żytnia	0,060-0,102	0,069	0,075±0,0188	0,102	37,5	51,0
otręby	0,197-0,278	0,234	0,229±0,0338	0,278	65,0	139,0
pieczywo białe	0,013-0,044	0,026	0,027±0,0104	0,041	9,0	13,7
pieczywo chrupkie	0,124-0,124	0,124	0,124±0,0000	0,124	41,3	41,3
pieczywo mieszane	0,020-0,243	0,030	0,072±0,0958	0,243	24,0	81,0
pieczywo razowe	0,020-0,062	0,046	0,044±0,0172	0,062	14,7	20,7
płatki kukurydziane	0,014-0,062	0,023	0,028±0,0145	0,062	9,3	20,7
płatki jęczmienne	0,013-0,083	0,048	0,048±0,0494	0,083	16,0	27,7
płatki owsiane	0,014-0,041	0,016	0,022±0,0130	0,041	7,3	13,7
ryż i jego przetwory	0,012-0,218	0,029	0,050±0,0553	0,089	25,0	44,5
wszystkie produkty	0,007-0,375	0,033	0,062±0,0717	0,179	-	-

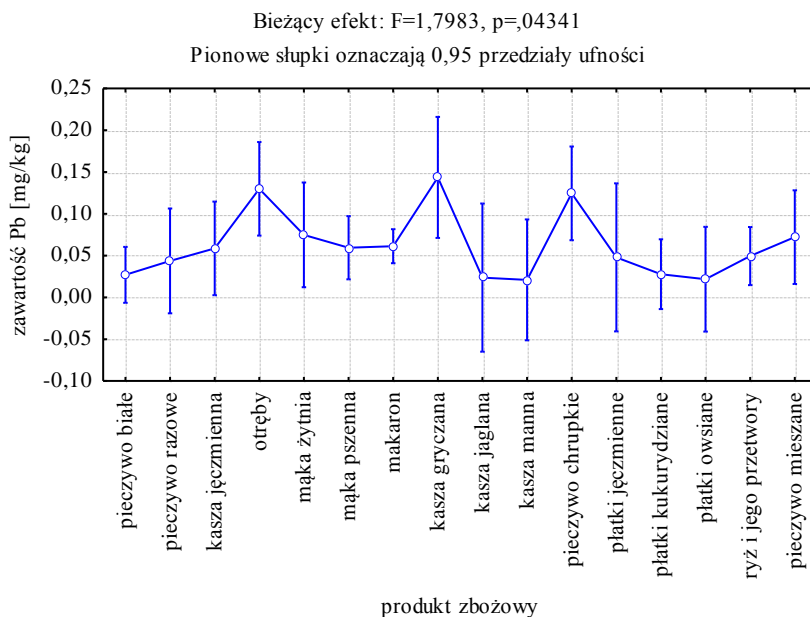
Przedstawione wyniki badań są zbliżone do danych uzyskanych przez innych autorów polskich (1-3, 6-9) i w ogólnopolskich monitoringowych badaniach żywności w 2004 r. (10).

Prawie 2-krotnie wyższe od prezentowanych w pracy wyników uzyskano podczas badań monitoringowych w latach 90-tych (11). Stwierdzono wtedy średnią zawartość ołowiu w makaronie i pieczywie na poziomie 0,09 mg/kg. Znalazło to potwierdzenie w pracach wykonanych w latach 80-tych (12, 13) i 90-tych (14).

Wyniki badań prowadzonych w Niemczech (15, 16), Finlandii (17), a także wyniki monitoringu prowadzonego przez Food Standards Agency w Wielkiej Brytanii (18, 19) i w większości krajów uczestniczących w programie SCOOP (20) wskazują na niższe niż w Polsce zanieczyszczenie produktów zbożowych ołowiem (0,017-0,032 mg/kg).

Oceniając stopień zanieczyszczenia produktów zbożowych Pb (tab. I) stwierdzono, że dopiero na poziomie 90-percentyla zawartość tego metalu w kaszy gryczanej (187,5%) i otrębach (139%) przekraczała limit ustalony w ustawodawstwie polskim (4, 5). W innych produktach zbożowych średnie stężenia Pb jak i wartości 90-percentyla nie przekraczały 90% dopuszczalnej normy.

Biorąc pod uwagę wysokie spożycie produktów zbożowych poziom ołowiu należy uznać za podwyższony, niestanowiący jednak zagrożenia dla zdrowia ludzi.



Ryc. 1. Wyniki analizy wariancji ANOVA dla zawartości Pb w produktach zbożowych pochodzących z woj. podlaskiego.

Fig. 1. Results of Anova analysis for the Pb content in cereal products from Podlasie Province.

WNIOSKI

1. Średnie stężenia Pb nie przekraczały dopuszczalnych norm.
2. Przekroczenie dopuszczalnej zawartości Pb stwierdzono na poziomie 90-percentyla (w kaszy gryczanej i otrębach).
3. Wykazano istotne zróżnicowanie zawartości Pb w badanych produktach zbożowych w zależności od rodzaju produktu.

J. Fiłon, A. Karwowska, J. Karczewski, G. Kmiecik

LEAD CONTENT IN CEREAL PRODUCTS FROM THE AREA OF PODLASIE PROVINCE

Summary

The aim of this work was to determine lead content in cereal products from the area of Podlasie province.

Study material were samples of cereal products (flour, groats, bakery products, pasta, flakes and rice) collected in different places (retail sale facilities) in podlasie province. Lead was marked by atomic absorption spectrometry with the use of flameless technique with electrothermal atomization in a graphite furnace (ET AAS).

Contamination of cereal products with lead was marked and the obtained results were compared to the current Polish norms.

The obtained results were analyzed statistically with Statistica PL 7.1 software.

The level of Pb was the lowest in semolina ($0.021 \text{ mg/kg} \pm 0.0069$) and 90% of results did not exceed 0.029 mg/kg .

Statistical analysis revealed a significantly higher Pb content in buckwheat groats ($0.144 \text{ mg/kg} \pm 0.2010$), bran ($0.130 \text{ mg/kg} \pm 0.08281$) and crunchy bread ($0.124 \text{ mg/kg} \pm 0.0000$) as compared to other cereal products. In 10% of the examined buckwheat groats samples Pb content was 0.375 mg/kg .

Based on the obtained results it was observed that mean lead content in the examined cereal products did not exceed the permissible norms. The permissible level of Pb was crossed at the 90th-percentyl (in buckwheat groats and bran).

PIŚMIENNICTWO

1. *Buliński R., Kot A., Bloniarz J. Wyszogrodzka-Koma L.*: Badania zawartości niektórych pierwiastków w produktach spożywczych krajowego pochodzenia. Cz. XI. Ocena skażeń szkodliwymi metalami przetworów zbożowych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1990; 23 (3-4): 105-108. - 2. *Buliński R., Kot A., Bloniarz J.*: Badania zawartości niektórych pierwiastków w produktach spożywczych krajowego pochodzenia. Cz. XII. Ocena skażeń szkodliwymi metalami krajowego pieczywa. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1992; 25 (2): 193-196. - 3. *Kot A.*: Produkty zbożowe źródłem kadmu i ołowiu. *Żyw. Człow. Metab.*, 2003; 30 (3/4): 1097-1103. - 4. Rozporządzenie Komisji (WE) NR 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych. *Dz. U. L 364 z 20.12.2006* - 5. Ustawa z dnia 8 stycznia 2010 r. o zmianie ustawy o bezpieczeństwie żywności i żywienia oraz niektórych innych ustaw. *Dz. U. 2010. Nr 21 poz. 105.* - 6. *Iłow R., Regulska-Iłow B., Szymczak J.*: Próba oszacowania pobrania kadmu, ołowiu i rtęci przez ludność Legnicko-Głogowskiego Okręgu Miedziowego. Cz. III. Dzielne racje pokarmowe i oznaczenia analityczne zawartości kadmu i ołowiu w wybranych rynkowych produktach spożywczych jako podstawa oszacowania pobrania tych metali. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1999; 33 (3): 239-245. - 7. *Kot A., Zaręba S.*: Zawartość kadmu i ołowiu w produktach zbożowych. *Żyw. Człow. Metab.*, 2007; 34 (3/4): 889-895. - 8. *Kot A., Zaręba S., Wyszogrodzka-Koma L.*: Ocena skażenia ołowiem zbóż, przetworów zbożowych i ziemniaków z regionu lubelskiego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009; 4 (65): 86-91. - 9. *Orzeł D., Styczyńska M.*: Ocena zawartości ołowiu i kadmu w płatkach śniadaniowych dostępnych w handlu. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2008; 41 (1): 41-45. - 10. *Wojciechowska-Mazurek M., Starska K., Brulińska-Ostrowska, E., Plewa, M., Biernat, U., Karłowski, K.*: Monitoring zanieczyszczenia żywności pierwiastkami szkodliwymi dla zdrowia. Cz. I. Produkty zbożowe pszenne, warzywne, cukiernicze oraz produkty dla niemowląt i dzieci (rok 2004). *Roczn. PZH*, 2008; 59 (3): 251-266.

11. *Wojciechowska-Mazurek M., Karłowski K., Starska K., Brulińska-Ostrowska E., Kumpulainen J.T.*: Contents of lead, cadmium, copper and zinc in Polish cereal grain and powdered milk, *FAO REU Technical Series 49*, Rome, 1996, 93-101. - 12. *Nabrzyński M., Gajewska R.*: Badanie zawartości rtęci, kadmu i ołowiu w żywności. *Roczn. PZH*, 1984; 35 (1): 1-9. - 13. *Falandysz J., Lorenc-Biała H., Centkowska D.*: Zawartość metali w niektórych środkach spożywczych. *Roczn. PZH*, 1987; 38 (4-5): 344-346. - 14. *Smoczyńska K., Szaśiek M., Ciecierska Z., Smoczyński S.*: Zawartość ołowiu, kadmu, makro i mikroelementów w ziarniakach pszenicy pochodzącej z rejonu Tezewa i wybranego rejonu popowodzkiego Polski południowo-zachodniej. *Biul. Magnezol.*, 1999; 4 (1): 177-180. - 15. *Brüggemann J., Kumpulainen J.T.*: Spurenelementgehalte in deutschen Grundnahrungsmitteln aus Brotgetreide. *Getreide Mehl und Brot*, 1995; 49: 171-177. - 16. *Brüggemann J., Dörfner H.H., Hecht H., Kumpulainen J.T., Westermair T.H.*: Status of trace elements in sample foods from Germany 1990 - 1994, *FAO REU Technical Series 49* Rome 1996: 5-58. - 17. *Tahvonen R., Kumpulainen J.*: Lead and

cadmium contents in Finnish breads. *Food Addit. Contam.*, 1994; 11: 621-631. - 18. Food Standards Agency, 2000 Total Diet Study of 12 elements, FSIS 48/04, 2004. - 19. Food Standards Agency, Survey of metals in a variety of foods, FSIS 01/07, 2007. - 20. SCOOP (Scientific Co-operation on Questions Relating to Food), Assessment of dietary exposure to arsenic, cadmium, lead, mercury of the population of the European Union member states, 2004.

Adres: 15-089 Białystok, ul. Mickiewicza 2c.

Maria Fołta, Henryk Bartoń

STĘŻENIE LITU W WODACH MINERALNYCH ORAZ W WODACH PITNYCH POBRANYCH W DOMACH MIESZKAŃCÓW KRAKOWA I OBSZARU POLSKI POŁUDNIOWEJ

Pracownia Biopierwiastków, Zakład Bromatologii
Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie
Kierownik: dr hab. P. Zagrodzki

Przebadano stężenia litu w wodach pitnych z domów mieszkańców Krakowa, obszarów podkrakowskich i kilku miejscowości Polski Południowej oraz w dostępnych wodach mineralnych. Stężenie litu w domowych wodach wynosiło od 1 do 90 µg/L, a w wodach mineralnych 1-5900 µg/L. Wyniki wskazują, że wody w Krakowie nie są istotnym źródłem litu dla ludzi, natomiast wody z miejscowości podkrakowskich i Polski Południowej mogą mieć wkład do realizowania minimalnego zapotrzebowania na ten pierwiastek. Spośród przebadanych wód mineralnych około jedna trzecia może być znaczącym źródłem litu.

Hasła kluczowe: lit, woda pitna, wody mineralne, absorpcyjna spektrometria atomowa.

Key words: lithium, drinking water, mineral water, atomic spectrometry.

Lit (Li), najlżejszy z metali alkalicznych, został odkryty w 1817 roku przez *Johana Augusta Arfvedsona*. Jest składnikiem wielu minerałów (spodumenu, lepidolitu, petalitu) i w wyniku procesów wietrzenia przechodzi do wód podziemnych (czasem wykorzystywanych jako wody mineralne), a także gruntowych. W wodach zalanego kamieniołomu wapiennego Zakrzówek w Krakowie oznaczono lit w ilości 23-156 µg/l (1), a w jaskini Smocza Jama w Krakowie 31-101 µg/l (2). Kilkadziesiąt lub nawet kilkaset razy większe ilości litu zawierają solanki i wody kopalniane. W solance z Zakładów Górniczych w Sieroszowicach oznaczono największą zawartość litu 23,3 mg/l. Z 46 przebadanych próbek wód kopalnianych pochodzących z górnictwa węgla kamiennego, jedynie w siedmiu próbkach zawartość litu była wyższa niż 1,9 mg/l, przy czym największą jego zawartość (5,85 mg/l) oznaczono w próbce wody dołowej z KWK Knurów (3). Wody kopalniane wydobyte na powierzchnię dostają się do środowiska. Lit dostający się do gleby pobierany jest przez rośliny i wchodzi do łańcucha żywnościowego.

Do dzisiaj nie została poznana funkcja litu w organizmie człowieka, mimo, że ślady litu wykryto w narządach i tkankach płodu już pod koniec 19 wieku. Jest on obecny we wszystkich narządach i tkankach. Lit wydaje się odgrywać szczególnie ważną rolę we wczesnym rozwoju płodu, o czym świadczy wysoka zawartość litu

w embrionach. Mechanizmy biochemiczne działania litu są wieloczynnikowe i skorelowane z funkcjami wielu enzymów, hormonów i witamin, jak również z czynnikami wzrostu i transformacji (4). W badaniach przeprowadzonych w latach 1970-1990 stwierdzono, że szczury i kozy, które miały podaż litu na bardzo niskim poziomie, wykazywały zaburzenia behawioralne, wyższą śmiertelność i gorszą reprodukcyjność (5). Mimo, że u ludzi nie stwierdzono określonych jednostek chorobowych powiązanych z niedoborem litu, jednak badania wykazały, że niskie spożycie litu wiąże się ze zwiększeniem liczby samobójstw, zabójstw, aresztowań, zażywania narkotyków i innych przestępstw. Zaaplikowanie węglanu litu (w 1949r.) okazało się korzystne w chorobie maniakalno-depresyjnej (4, 6) i do dzisiaj węglan litu jest jednym z najczęściej przepisywanych leków psychiatrycznych. Związki litu znajdują też zastosowanie w onkologii i dermatologii.

Mimo niejasności odnośnie konkretnych funkcji litu w organizmie przedstawione powyżej obserwacje wskazują, że jego rola jest korzystna. Dzielne zapotrzebowanie człowieka na lit zostało oszacowane w USA na poziomie 1000 μg , a minimalne rzędu 100 μg (4). Dzielne pobranie litu z całodzienną racją pokarmową waha się w bardzo szerokich granicach w zależności od źródła danych od 8,6 μg w Belgii (7) do 1485 μg w Meksyku (8). W Niemczech i Austrii, krajach o podobnym położeniu geograficznym do Polski, dzielne pobranie litu na dobę wynosiło 348-494 μg (9). Głównymi źródłami litu w pokarmach są warzywa i zboża oraz w niektórych rejonach woda pitna. W Teksasie w wodach kranowych stężenie litu osiągało wartość do 170 $\mu\text{g/l}$ (10). Woda pitna stanowi tam istotne źródło pobrania litu. W rejonach tych wydalanie tego pierwiastka z moczem przez ludzi jest odwrotnie skorelowane z opadami deszczu, wskazując na rozcieńczenie pitnej wody wodą deszczową.

Niektóre wody mineralne oraz lecznicze dostępne na polskim rynku zawierają duże ilości litu. W wodzie *Piwniczanka* deklarowana zawartość litu wynosi 0,5 mg/l, a w wodzie *Franciszek* (Wysowa) 6 mg/l. Woda ze źródła *Marie-Christine Nord* we Francji zawiera 8 mg/l.

Celem niniejszej pracy było przebadanie czy woda Polski Południowej może być dobrym źródłem litu oraz jaki wkład w jego pobranie mogą mieć wody mineralne.

MATERIAŁ I METODY

Materiał: przebadano 162 próbki wody pobrane w domach mieszkańców różnych dzielnic Krakowa, pobliskich miejscowości (Alwernia, Skawina, Wieliczka) oraz z innych rejonów Polski Południowej (Miasteczko Śląskie, miejscowości podtatrzzańskie: Nowy Targ i Krościenko nad Dunajcem, tereny rolnicze w województwie podkarpackim: Błażowa, Dynów). Przebadano również 34 wody mineralne: 32 handlowe i 2 szczawy pobrane ze źródła. Probki wody zakwaszono stęż. HNO_3 (0,5 ml/100 ml wody).

Metody: zawartość litu w wodzie oznaczono metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej techniką płomieniową (acetylen – powietrze). Do sporządzenia

wzorców użyto certyfikowany Lithium Standard for AAS o stężeniu 1004 ± 4 mg/l firmy Fluka (nr kat 59916). Kalibrację wykonano w oparciu o 7 wzorców w zakresie 0-500 $\mu\text{g/l}$. Otrzymana kalibracja była liniowa ($r^2=0,9999$). Precyzja wynosiła 0,5% (100 $\mu\text{g/l}$), a limit detekcji 1,5 $\mu\text{g/l}$. Analizy kontrolowano za pomocą roztworu standardowego Li=100 $\mu\text{g/l}$, a wyniki korygowano w oparciu o ten pomiar. Dokładność wykonywanych analiz potwierdzono analizując jako materiał odniesienia testową próbkę wody z programu Aquacheck (LGC Standards – PT, Round 369, Sample: 4 – Metals). Uzyskano wartość stężenia litu równą $44,2 \pm 0,4$ $\mu\text{g/l}$, wobec wartości odniesienia $43,1 \pm 0,8$ $\mu\text{g/l}$.

Statystyka: wyniki analizowano za pomocą statystyk parametrycznych (Statistica 5.1./Stat Soft, Inc).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Stężenie litu w badanych, domowych wodach pitnych przedstawiono w tab. I.

Tabela I. Stężenie litu w domowej wodzie pitnej z Krakowa i innych lokalizacji w Polsce Południowej*

Table I. Lithium concentration in household drinking water from Krakow and other locations in Southern Poland*

Miejscowość lub rejon	Średnie stężenie Li [$\mu\text{g/l}$]	Odchylenie standardowe	Mediana	Zakres kwartylowy	Liczba próbek
KRAKÓW miasto	5	6	4	3 - 6	73
W tym:					
ujęcie Dobczyce	4	1	4	3 - 4	18
inne ujęcia lokalne	5	3	4	3 - 6	55
KRAKÓW okolice podkrakowskie	17	19	13	4 - 30	45
Miasteczko Śląskie	5	1	5	4 - 5	9
Nowy Targ, Krościenko	4	2	4	3 - 5	4
Rejony rolnicze /woj. podkarpackie/	15	11	15	6 - 21	31
W tym: studnie	18	12	15	8 - 24	19

* dodatkowo: woda z sieci wodociągowych z innych miast - Gdańsk 30 ± 1 $\mu\text{g/l}$; Warszawa 21 ± 3 $\mu\text{g/l}$.

Średnia zawartość litu w wodach z Krakowa wynosiła 5 ± 6 $\mu\text{g/l}$ (bez względu na ujęcie), w wodach z rejonów podkrakowskich 17 ± 19 $\mu\text{g/l}$, z Miasteczka Śląskiego 5 ± 1 $\mu\text{g/l}$, z Nowego Targu i Krościenka 4 ± 2 $\mu\text{g/l}$ oraz z terenów rolniczych w województwie podkarpackim 15 ± 11 $\mu\text{g/l}$. Stężenia litu w wodach ze studni i z innych ujęć w terenie rolniczym nie różniły się znacząco. Stężenia litu we wszystkich badanych próbkach wody mieściły się w zakresie 1-90 $\mu\text{g/l}$. Analizowano również stężenie litu w kilku próbkach wody pobranych z kranu z sieci wodociągowej innych miast Polski, a oznaczone stężenia wynosiły: z Warszawy 21 $\mu\text{g/l}$, z Gdańska 30 $\mu\text{g/l}$.

Tabela II. Stężenie litu (Li) w badanych wodach mineralnych

Table II. Lithium concentration (Li) in mineral water studied

Nazwa	Ujęcie	Miejscowość	Li±SD[μg/l]
Wody handlowe			
1. Zamecka	Studnia Zamecka	Prod. Jastrzębie Zdrój	0,6±0,2
2. Mama i ja	Ujęcie S-4	Damnica k/Słupska	1,8±0,1
3. Primavera	Źródło Primavera	Aleksandria k/Ozorkowa	2,8±0,4
4. Żywiecki Kryształ	Ujęcie W Borze nr 1	Ślemień	2,9±0,3
5. Dobrawa	Ujęcie S-3	Rzeniszów k/Kozięglowy	3,2±0,5
6. Żywiec Zdrój	Ujęcie Piłsko	Jeleśnia k/Żywca	3,7±0,3
7. Woda magnezowa	Ujęcie Arca North Studnia nr II	Ostromecko	4,5±0,1
8. Jura Skalka	Studnia Skalka	Skalka	4,6±0,5
9. MAGNEVita	Źródło Marter	Sierpc	5,2±0,4
10. Arctic	Otwór Arctic Plus	Grodzisko Wielkopol.	6,3±0,3
11. Babia Góra	Ujęcie ZB1 Zawojanka	Zawoja	7,5±0,3
12. Nałęczowianka	Otwór Nałęczowianka	Nałęczów	8,2±0,4
13. Kinga Pienińska	Źródła Św. Kinga i Kinga II	Krościenko n. Dunajcem	9,5±0,2
14. Ustronianka	Ujęcie Basia	Biała	10,1±0,3
15. Jan		Krynica-Zdrój	13,8±0,3
16. Nestle Aquarel	Otwór Kol.Bochotnica 5	Nałęczów	14,4±0,5
17. Jurajska	Otwór Jurajska	Postęp	15,1±0,5
18. Cisowianka	Ujęcie Cisowianka	Drzewce k/Nałęczowa	19,2±0,3
19. Kropla Beskidu	Ujęcie Kropla Beskidu	Tylicz	28,6±0,6
20. Staropolanka	Źródło Staropolanka	Polanica Zdrój	76,0±0,9
21. Polanicka	Otwór Sudety	Gorzanów k/Polanicy Zdr.	96,0±0,4
22. Wielka Pieniawa	Źródło Wielka Pieniawa	Polanica -Zdrój	118±1
23. Krystynka	Źródło nr 19a	Ciechocinek	126±1
24. Krynica	Ujęcie Zdrój Główny	Krynica Zdrój	276±1*
25. MultiVita	Ujęcie MultiVita	Tylicz	372±1
26. Wysowianka	Ujęcie W-24	Wysowa Zdrój	579±1
27. Muszynianka	Odwierty	Muszyna, Milik, Andrzejówka	590±1
28. Józef	Ujęcie Józef I	Wysowa Zdrój	741±1
29. Piwniczanka	Odwiert P1, P2, P5, P6, P8, P9, P11	Piwniczna Zdrój	788±2*
30. Anka	Źr. Dąbrówka, Mieszko, Młynarz, Marta	Szczawno Zdrój	824±1
31. Henryk	Ujęcie W-11 Henryk	Wysowa Zdrój	2014±1*
32. Franciszek	Ujęcie W-14 Franciszek	Wysowa Zdrój	5900±2*
Naturalne źródła**			
1. Michalina	Naturalna szczawa	Krościenko n. Dunajcem	2220±6
2. Stefan	Naturalna szczawa	Krościenko n. Dunajcem	2580±12

*Stężenia litu deklarowane na etykietach: Franciszek 6000 μg/L, Henryk 1000 μg/L, Piwniczanka 500 μg/L, Krynica 163 μg/L; **Źródła z wolnym dostępem dla ludności.

W handlowych wodach mineralnych oznaczone stężenia litu mieściły się w szerokim zakresie 1-5900 $\mu\text{g/l}$ (tab. II). Stężenie litu powyżej 1000 $\mu\text{g/l}$ stwierdzono w dwu badanych wodach, w dziewięciu w zakresie 100-1000 $\mu\text{g/l}$, w ośmiu w zakresie 10-100 $\mu\text{g/l}$ i stężenie poniżej 10 $\mu\text{g/l}$ w trzynastu próbkach wody. Tylko w czterech badanych wodach stężenia litu były zadeklarowane na etykietach. Dla niektórych wód handlowych brak jest takich informacji mimo wysokiego stężenia litu oznaczonego w niniejszych badaniach.

W wodach mineralnych (w szczawach) pobranych ze źródeł w Krościenku nad Dunajcem stężenia były wysokie, w zakresie 2220–2580 $\mu\text{g/l}$.

WNIOSKI

1. Wyniki wskazują, że wody w Krakowie są bardzo ubogie w lit, a jedynie wody z miejscowości podkrakowskich i rolniczych z Polski Południowej mogą mieć pewien niewielki wkład do realizowania minimalnego zapotrzebowania na ten pierwiastek. W innych miastach Polski stężenia litu mogą być podobne do stężenia tego pierwiastka w Polsce Południowej.

2. W związku z powyższym wskazane jest picie wód mineralnych z istotną zawartością litu, aby skorzystać z potencjalnego dobroczynnego działania litu. Badania dotyczące wpływu litu na organizm człowieka powinny być kontynuowane.

M. Fołta, H. Bartoń

LITHIUM LEVELS IN MINERAL WATER AND HOUSEHOLD DRINKING WATER FROM KRAKOW AND SOUTHERN POLAND

Summary

The purpose of this study was to examine whether drinking water of Southern Poland can be a source of lithium for humans. We examined about 160 samples of drinking water collected in houses of residents from different districts of Krakow and surroundings as well as other regions of Southern Poland. We also examined the 34 mineral waters available in the area studied. Determination of Lithium in water was performed using the flame injection atomic absorption spectrometry (acetylene - air). The concentration of lithium in household waters ranged from 1 to 90 $\mu\text{g/L}$, and in the mineral waters 1-5900 $\mu\text{g/L}$. The results indicate that the drinking water in Cracow was very poor in lithium and only water from the towns near Krakow and in Southern Poland may have a small contribution to the realization of the minimum requirement for this element. Among the surveyed mineral water approximately one third can be a significant source of lithium. The waters which contain more than 1000 $\mu\text{g/L}$ of this element should, because of this, be regarded as medicinal.

PIŚMIENNICTWO

1. Motyka J., Postawa A.: Influence of contaminated Vistula River water on the groundwater entering the Zakrzówek limestone quarry, Cracow region, Poland. *Environ. Geol.*, 2000; 39: 3-4. - 2. Motyka J., Gradziński M., Rózkowski K., Górny A.: Chemistry of cave water in Smocza Jama, city of

Kraków, Poland. Ann. Soc. Geol. Pol., 2005; 75: 189-198. - 3. *Fijałkowska, A., Kurowski, R., Czaplicka M.*: Polska baza surowcowa litu w kontekście światowych tendencji produkcji węgla litu z solanek i litonośnych wód termalnych. Rudy i Metale Nieżelazne, 2008; 53 (9): 548-554. - 4. *Schrauzer G. N.*: Lithium: Occurrence, Dietary Intakes, Nutritional Essentiality. J. Am. Coll. Nutr., 2002; 21 (1): 14-21. - 5. *Anke M, Groppe B, Kronemann H, Grun M*: Evidence for the essentiality of lithium in goats. In *Anke M, Baumann W, Braunlich H, Bruckner C* (eds): "Proceedings 4. Spurenelement Symposium 1983." Jena: VEB Kongressdruck, 1983; 58-65. - 6. *Avisar S., Schreibert G., Danon A., Belmaker R.H.*: Lithium inhibits adrenergic and cholinergic increases in GTP binding in rat cortex. Nature, 1988; 331: 440-442. - 7. *Van Cauwenbergh R., Hendrix P., Robberecht H., Deelstra H.*: Daily dietary lithium intake in Belgium using duplicate portion sampling. Z. Lebensm. Unters. Forsch. A., 1999; 208:153-155. - 8. *Schrauzer G.N., Shrestha K.P., Flores-Arce M.F.*: Lithium in Scalp Hair of Adults, Students, and Violent Criminals Effects of Supplementation and videncefor Interactions of Lithium with Vitamin B12and with Other Trace Elements. Biol. Trace Elem. Res., 1992; 34: 161-176. - 9. *Anke M, Arnhold W, Groppe U, Krause U*: The Biological importance of lithium. In *Schrauzer GN, Klippel KF* (eds): "Lithium in Biology and Medicine." Weinheim: VCH Verlag, 1991; 149-167. - 10. *Dawson EB*: The relationship of tap water and physiological levels of lithium to mental hospital admission and homicide in Texas. In *Schrauzer GN, Klippel KF* (eds): Lithium in Biology and Medicine, Weinheim, VCH Verlag, 1991; 171-187.

Adres: 30-688 Kraków, ul. Medyczna 9.

Joanna Gajda-Wyrębek¹⁾, Jolanta Jarecka¹⁾, Katarzyna Kuźma¹⁾,
Martyna Beresińska²⁾

ZAWARTOŚĆ BARWNIKÓW MAJĄCYCH SZKODLIWY WPŁYW NA AKTYWNOŚĆ I SKUPIENIE UWAGI U DZIECI W WYBRANYCH ŚRODKACH SPOŻYWCZYCH*

¹⁾ Zakład Badania Żywności i Przedmiotów Użytku Narodowego Instytutu
Zdrowia Publicznego Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie
Kierownik: dr J. Postupolski

²⁾ Zakład Toksykologii Środowiskowej NIZP-PZH
Kierownik: prof. dr hab. J. K. Ludwicki

Mając na uwadze ochronę zdrowia konsumenta, zawartość określonych barwników, dla których wyznaczono wartość akceptowanego dziennego pobrania (ADI), jest limitowana w żywności. Celem przeprowadzonych badań była ocena zawartości tych substancji, które według ostatnich doniesień naukowych mogą mieć szkodliwy wpływ na aktywność i skupienie uwagi u dzieci. Materiał do badań stanowiły napoje bezalkoholowe oraz wyroby cukiernicze. Zawartość barwników we wszystkich próbkach odpowiadała wymaganiom aktualnie obowiązującego ustawodawstwa.

Hasła kluczowe: barwniki spożywcze, ocena bezpieczeństwa, napoje bezalkoholowe, wyroby cukiernicze.

Key words: food colours, safety assessment, soft drinks, confectionery.

Barwniki stanowią jedną z grup substancji dodatkowych do żywności. Są dodawane do środków spożywczych w celu nadania lub przywrócenia im barwy (1). Stosowanie substancji dodatkowych, w tym barwników spożywczych, jest aktualnie uregulowane przez następujące akty prawne:

- rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 z dnia 16 grudnia 2008r. w sprawie dodatków do żywności - w zakresie przepisów ogólnych dotyczących stosowania substancji dodatkowych do żywności (1),
- rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 listopada 2010r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych - w zakresie szczegółowych warunków stosowania substancji dodatkowych, zgodnych z zapisami dyrektyw Unii Europejskiej w tym zakresie (2).

Sześć barwników, które były przedmiotem niniejszych badań w wybranych środkach spożywczych, należy do grupy barwników o określonym liczbowo, akceptowanym dziennym pobraniu (ADI). ADI jest to ilość substancji (wyrażona w mg/kg masy ciała człowieka/dzień), która może być pobierana przez człowieka ze

* Praca naukowa finansowana ze środków budżetowych na naukę w latach 2010-2013 jako projekt badawczy Nr N N404 110239.

wszystkich źródeł przez całe życie bez szkody dla zdrowia. Przy ustalaniu limitów danej substancji w żywności bierze się pod uwagę ADI jak również przewidywaną wielkość pobrania danej substancji. W związku z powyższym, mając na uwadze ochronę zdrowia konsumenta, zawartość barwników posiadających wyznaczone ADI podlega limitowaniu w żywności.

W 2007 r. w Wielkiej Brytanii zostały wykonane badania w celu stwierdzenia wpływu spożycia 6 barwników dopuszczonych do żywności na zachowanie dzieci (tzw. „badania z Southampton”) (3). Przedmiotem badań były: tartrazyna (E 102), żółcień chinolinowa (E 104), żółcień pomarańczowa FCF (E 110), azorubina (E 122), czerwień koszenilowa A (E 124) oraz czerwień Allura AC (E 129). Badania przeprowadzono w grupie 153 dzieci 3-letnich oraz 144 dzieci 8- i 9-letnich, którym w całym cyklu badań trwającym 6 tygodni podawano, naprzemiennie z dietą bez substancji dodatkowych, napój zawierający mieszaninę 4 z 6 wymienionych barwników (przygotowano 2 różne mieszaniny: Mix A i Mix B). Napój był konserwowany chemicznie przy użyciu benzoenu sodu. Wyniki badań wykazały, że spożycie napoju zawierającego mieszaninę barwników było związane z wystąpieniem nadaktywności w obu grupach wiekowych dzieci. Zaobserwowano następujące objawy: przerywanie cudzych wypowiedzi lub gadatliwość, „wiercenie się”, wzburzenie z błahej przyczyny (impulsywność), niepokój, nadpobudliwość ruchową, problemy z koncentracją.

Powyższe badania były następnie analizowane przez dwie niezależne organizacje naukowe: Komitet Toksykologiczny Wielkiej Brytanii (4) oraz Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) (5). Obie organizacje nie stwierdziły nieprawidłowości w przeprowadzonych badaniach.

Rezultatem tych badań było wprowadzenie w krajach Unii Europejskiej obowiązku umieszczania ostrzeżenia na etykietach środków spożywczych zawierających którykolwiek z 6 barwników. Ostrzeżenie jest podawane bezpośrednio po nazwie lub numerze E ... barwnika, w postaci następującego sformułowania: „może mieć szkodliwy wpływ na aktywność i skupienie uwagi u dzieci”. Przepis ten jest zawarty w rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 (1) i obowiązuje od dnia 20 lipca 2010 roku.

Rozporządzenie wspólnotowe nr 1333/2008 (1) zawiera również wymóg ustanowienia programu ponownej oceny dopuszczonych obecnie substancji dodatkowych przez EFSA. Szczegóły tego programu zostały następnie ujęte w rozporządzeniu Komisji (UE) nr 257/2010 z dnia 25 marca 2010r. (6). W opracowanym programie, jako priorytet wskazano ocenę bezpieczeństwa 6 barwników będących przedmiotem badań brytyjskich. Wyniki ponownej oceny dokonanej przez EFSA ukazały się w listopadzie 2009 roku (7-12). Akceptowane dzienne pobranie (ADI) dla trzech barwników: żółcień chinolinowej (E 104), żółcień pomarańczowej FCF (E 110) oraz czerwieni koszenilowej A (E 124) zostało obniżone. Jednocześnie EFSA stwierdził, że narażenie konsumentów na te barwniki, zarówno dorosłych jak i dzieci, może przekraczać nowo wyznaczone ADI. W przypadku pozostałych barwników ADI nie uległo zmianie, jednak EFSA zaznaczył, że ADI dla azorubiny (E 122) lub czerwieni Allura AC (E 129) może

być przekroczone przez dzieci, które spożywają duże ilości produktów zawierających te barwniki. Dodatkowo EFSA stwierdził, że nieduża część populacji może nie tolerować tartrazyny (E 102); objawami może być np. zaczerwienienie skóry. Jednocześnie stwierdzono, że nie można wskazać ciągu przyczynowo-skutkowego pomiędzy indywidualnymi barwnikami a wynikami badań dotyczącymi zachowania dzieci (dzieciom podawano napój zawierający mieszaninę barwników).

W tabeli I przedstawiono poprzednie oraz aktualne wartości ADI dla barwników będących przedmiotem ponownej oceny.

Tabela I. Wartości akceptowanego dziennego pobrania (ADI) barwników przed i po ponownej ocenie

Table I. Values of Acceptable Daily Intake (ADI) for colours before and after new evaluation

Nazwa barwnika i numer wg systemu oznaczeń Unii Europejskiej	Poprzednia wartość ADI [mg/kg masy ciała człowieka/dzień]	Obecna wartość ADI [mg/kg masy ciała człowieka/dzień]
Tartrazyna (E 102)	7,5	7,5
Żółcień chinolinowa (E 104)	10	0,5
Żółcień pomarańczowa FCF (E 110)	2,5	1
Azorubina (E 122)	4	4
Czerwień koszenilowa A (E 124)	4	0,7
Czerwień Allura AC (E 129)	7	7

W związku z wynikami najnowszej oceny barwników będących przedmiotem badań brytyjskich, w Komisji Europejskiej trwają aktualnie prace nad obniżeniem dopuszczalnych dawek tych barwników w żywności lub nawet wycofaniem ich dopuszczenia do niektórych środków spożywczych. Zmiany w przepisach dotyczących warunków stosowania ww. barwników powinny ukazać się do końca 2011 roku.

Aktualne wymagania zawarte w obowiązującym rozporządzeniu Ministra Zdrowia (2), dotyczące dopuszczalnych limitów ww. barwników w wybranych do badań produktach – napojach bezalkoholowych oraz wyrobach cukierniczych - podano w tabeli II.

Tabela II. Dopuszczalna zawartość barwników w aromatyzowanych napojach bezalkoholowych i wyrobach cukierniczych

Table II. Content limits of colours in aromatized soft drinks and confectionery

Środek spożywczy	Suma barwników: E 102, E 104, E 129, E 110, E 122, E 124	Maksymalny poziom każdego z barwników: E 110, E 122, E 124
Aromatyzowane napoje bezalkoholowe	100 mg/litr	50 mg/litr
Wyroby cukiernicze	300 mg/kg	50 mg/kg

Celem niniejszej pracy była ocena zawartości w wybranych środkach spożywczych barwników będących przedmiotem badań z Southampton. Barwniki te są stosowane w wielu produktach, które chętnie spożywają dzieci, np. napoje bezalkoholowe, wyroby cukiernicze, pieczywo cukiernicze, wyroby ciastkarskie, lody, desery, przekąski typu snack.

MATERIAŁ I METODY

Podstawą do zakwalifikowania produktów do badań był ich skład i deklarowana przez producenta obecność jednego lub kilku z następujących barwników: E 102, E 104, E 110, E 122, E 124, E 129. Wszystkie produkty pochodziły z obrotu handlowego i były zakupione w Warszawie na początku listopada 2010r. Analizie poddano łącznie 20 produktów, w tym 12 napojów bezalkoholowych i 8 wyrobów cukierniczych. Wśród zakupionych napojów bezalkoholowych znalazło się 8 napojów gazowanych i 4 napoje niegazowane. W składzie 7 napojów był wymieniony sok owocowy, 8 z nich było konserwowanych chemicznie, dodatek substancji słodzących był zadeklarowany w 10 napojach. Trzy napoje zawierały substancje wzbogacające. W przypadku wyrobów cukierniczych – 8 rodzajów – przeważały karmelki; ponadto wśród badanych produktów znalazły się cukierki pudrowe prasowane.

W odniesieniu do wyrobów cukierniczych metoda polegała na wyekstrahowaniu barwników z próbki wodą w temperaturze 60°C, a następnie oczyszczeniu na kolumnie SPE z wypełnieniem poliamidowym (CHROMABOND SPE PA F 6ml/1000mg, Macherey-Nagel). Na kolumnę SPE nanoszono od 10-30 ml roztworów barwników. W celu uniknięcia substancji niepożądanych, kolumny po naniesieniu roztworów próbek, przepłukiwano odpowiednimi rozpuszczalnikami (woda dla cukrów, aceton dla produktów zawierających tłuszcze). Barwniki wymywano za pomocą metanolu amoniakalnego (3 krople amoniaku/ 20 ml metanolu). Otrzymane metanolowe roztwory barwników odparowywano do sucha pod azotem, w temperaturze 60°C. Następnie barwniki rozpuszczono w 1 ml wody dejonizowanej. Roztwory wodne barwników przenoszono do fiolek przy zastosowaniu filtrów strzykawkowych Millex –LCR 25mm (średnica porów 0,45µm, Millipore).

W przypadku napojów bezalkoholowych 5 ml płynu nanoszono bezpośrednio na kolumnę SPE. W razie potrzeby próbki były uprzednio odgazowywane za pomocą łaźni ultradźwiękowej. Dalsze postępowanie przy przygotowywaniu próbki było identyczne jak dla wyrobów cukierniczych.

Założony ekstrakt rozdzielano na kolumnie HPLC w odwróconym układzie faz, a poszczególne barwniki identyfikowano oraz oznaczano ilościowo wykorzystując widma UV/VIS wykonane przy pomocy detektora fotodiodowego DAD (praca w zakresie długości fali 400-650 nm). Do badań wykorzystano system chromatograficzny Waters Alliance 2695 z detektorem DAD fotodiodowym –

absorpcyjnym 2996, wyposażony w automatyczny dozownik próbek oraz pompę, pozwalającą uzyskać elucję gradientową.

Do rozdzielania barwników zastosowano kolumnę ODS2 (250 mm/4,6mm/5µm, Waters) wraz z przedkolumną ODS2 (10 mm/4,6 mm, Waters). Zakres przepływu wynosił od 50 µl/min do 5 ml/min. Objętość nastrzyku - 10 µl. Fazę ruchomą stanowiły: Składnik A – metanol (Merck), składnik B – bufor: wodorofosforan diamonowy (Fluka) (1,32g w 1000 ml H₂O). Maksymalna absorpcja każdego barwnika wynosiła odpowiednio: E 102 – 426 nm, E 104 – 411 nm, E 110 – 485 nm, E 122 – 516 nm, E 124 – 505 nm, E 129 – 504 nm, E 133 – 630 nm. Do badań użyto wzorców barwników spożywczych wyprodukowanych w Instytucie Barwników i Produktów Organicznych w Zgierzu. W trakcie badań, jeżeli nie podano inaczej, stosowano odczynniki o czystości do analiz oraz wodę oczyszczoną w procesie dejonizacji i odwróconej osmozy.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Badane próbki napojów bezalkoholowych odznaczały się zróżnicowanym poziomem barwników, tj. w zakresie od 0,5 mg/l do 64,6 mg/l. W przypadku wyrobów cukierniczych zawartość poszczególnych barwników wynosiła od 1,6 mg/kg – 119,8 mg/kg (tab. III). Zawartości barwników w badanych produktach przedstawiono w tabelach IV i V.

Zawartość barwników we wszystkich próbkach odpowiadała wymaganiom ustawodawstwa. W badanej populacji napojów mediana wynosiła 8,6 mg/l; a 90-ty percentyl - 44,83 mg/l. W przypadku cukierków wartość mediany to 17,1 mg/kg; a 90-ty percentyl - 110,78 mg/kg. Uzyskane wyniki wskazują, że poziomy barwników w produktach spożywczych dostępnych na rynku są znacznie niższe od obowiązujących limitów.

Zaobserwowano, że wielu producentów zrezygnowało z użycia barwników będących przedmiotem badań, na rzecz innych barwników jak również soków owocowych lub wyciągów roślinnych, co może być spowodowane koniecznością umieszczenia na etykietach środków spożywczych ostrzeżenia o możliwości szkodliwego wpływu na aktywność i skupienie uwagi u dzieci.

Tabela III. Zakres oznaczonych poziomów barwników

Table III. The range of determined colours levels

Barwniki	Napoje bezalkoholowe [mg/l]	Cukierki [mg/kg]
E 102	1,4 - 8,3	3,9 - 119,8
E 104	0,5	9,0 - 36,1
E 110	0,9 - 7,8	1,6 - 26,0
E 122	11,3 - 40,1	21,8
E 124	2,3 - 19,9	1,6 - 12,7
E 129	64,6	3,4 - 35,9

Tabela IV. Zawartość barwników w napojach bezalkoholowych

Table IV. The coloures' content in soft drinks

Napoje	Barwniki	Zawartość [mg/l]	Uwagi
1	E 122 E 124 E 133	60,7	w tym E 122 - 40,1 mg/l E 124 - 19,9 mg/l
2	E 102	4,6	-
3	E 102 E 122	27,4	w tym E 122 -19,1 mg/l
4	E 102 E 110	8,5	w tym E 110 - 5,8 mg/l
5	E 104	0,5	-
6	E 124	2,3	-
7	E 129	64,6	-
8	E 122 E 124	44,8	w tym: E 122 - 34,7 mg/l E 124 - 10,1 mg/l
9	E 102 E 133	5,7	-
10	E 102 E 110	4,0	w tym E 110 - 0,9 mg/l
11	E 102 E 110	9,2	w tym E 110 - 7,8 mg/l
12	E 122	11,3	-

Tabela V. Zawartość barwników w wyrobach cukierniczych

Table V. The coloures' content in confectionery

Cukierki	Barwniki	Zawartość [mg/kg]	Uwagi
1	E 102 E 110 E 129	16,1	w tym: E 110 - 8,7 mg/kg
2	E 104 E 110 E 124	12,3	w tym: E 110 - 1,6 mg/kg E 124 - 1,7 mg/kg
3	E 104 E 110 E 124	16,7	w tym: E 110 - 1,6 mg/kg E 124 - 1,6 mg/kg
4	E 124	12,7	-
5	E 104 E 110	17,5	w tym: E 110 - 4,7 mg/kg
6	E 104 E 129 E 133	63,3	-
7	E 102 E 110 E 129 E 133	196,9	w tym: E 110 - 8,9 mg/kg
8	E 104 E 110 E 122 E 133	73,9	w tym: E 110 - 26,0 mg/kg E 122 - 47,8 mg/kg

WNIOSKI

1. Wyniki badań wskazują, że w wielu przypadkach barwniki są stosowane w napojach bezalkoholowych i cukierkach na poziomach znacznie niższych niż obowiązujące limity.

2. Wielu producentów napojów bezalkoholowych i wyrobów cukierniczych wycofało się z użycia barwników będących przedmiotem badań, na rzecz innych barwników a także soków owocowych lub wyciągów roślinnych.

3. Obniżenie dopuszczalnych poziomów badanych barwników w żywności, nad czym pracuje obecnie Komisja Europejska, wydaje się zasadne i realne do spełnienia przez producentów żywności.

4. Celowa jest kontrola zawartości badanych barwników w napojach bezalkoholowych i wyrobach cukierniczych, po wprowadzeniu obniżonych poziomów przez ustawodawstwo Unii Europejskiej.

J. Gajda-Wyrębek, J. Jarecka, K. Kuźma, M. Beresińska

THE CONTENT OF COLOURS WHICH MAY HAVE AN ADVERSE EFFECT ON ACTIVITY
AND ATTENTION IN CHILDREN IN SOME FOODSTUFFS

Summary

Having regard to a high level of protection of human life and health, the levels of some food additives, including colours, are limited in foodstuffs. These are food additives for which the Acceptable Daily Intake have been established. The results of study carried out in United Kingdom pointed out that the 6 colours: Tartrazine E 102, Quinoline Yellow E 104, Sunset Yellow FCF E 110, Azorubine E 122, Ponceau 4R E 124 and Allura Red AC E 129 may have an adverse effect on activity and attention in children. In 2009, the ADI values for three of these colours were lowered and there were stated that consumer exposure to five of them may exceeded ADI. The objective of this work was to determine the levels of 6 colours mentioned above in some soft drinks and confectionery products. In all samples the contents of colours were below the limits set up in the legislation.

PIŚMIENNICTWO

1. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 z dnia 16 grudnia 2008r. w sprawie dodatków do żywności. Dz. Urz. L 354, 31.12.2008, str. 16. - 2. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 listopada 2010r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych. Dz. U. RP Nr 232, poz. 1525. - 3. *McCann D., Barrett A., Cooper A., Crumpler D., Dalen L., Grimshaw K., Kitchin E., Lok K., Porteous L., Prince E.*, et al.: Food additives and hyperactive behaviour in 3-years-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *Lancet*, 2007; 370 (9598): 1560-1567. - 4. Committee on Toxicity. 2007. Statement on research Project (T07040) investigating the effect of mixtures of certain food colours and a preservative on behaviour in children. Committee on Toxicity. Available from: <http://cot.food.gov.uk/pdfs/colpreschil.pdf> (accessed 13 July 2009). - 5. European Food Safety Authority (EFSA) 2008. Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials (AFC) on a request from the Commission on the results of the study by *McCann et al.* (2007) on the effect of some colours and sodium benzoate on children's behaviour. *EFSA J* 660, 1-5. - 6. Rozporządzenie Komisji (UE) Nr 257/2010 z dnia 25 marca 2010r. ustanawiające program ponownej oceny dopuszczonych dodatków do

żywności zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 w sprawie dodatków do żywności. Dz. Urz. UE L 80, 26.03.2010, str. 19. - 7. European Food Safety Authority (EFSA). 2009. Scientific Opinion of the re-evaluation of Allura Red AC (E 129) as food additive. EFSA J., 2009; 7(11): 1327. - 8. European Food Safety Authority (EFSA). 2009. Scientific Opinion of the re-evaluation of Azorubine/Carmoisine (E 122) as a food additive. EFSA J., 2009; 7(11): 1332. - 9. European Food Safety Authority (EFSA). 2009. Scientific Opinion of the re-evaluation of Ponceau 4R (E 124) as a food additive. EFSA J., 2009; 7(11): 1328. - 10. European Food Safety Authority (EFSA). 2009. Scientific Opinion of the re-evaluation of Sunset Yellow FCF (E110) as a food additive. EFSA J. 2009; 7 (11): 1330.

11. European Food Safety Authority (EFSA). 2009. Scientific Opinion of the re-evaluation Tartrazine (E 102). EFSA J., 2009; 7 (11): 1331. - 12. European Food Safety Authority (EFSA). 2009. Scientific Opinion of the re-evaluation of Quinoline Yellow (E 104) as a food additive. EFSA J. 2009; 7 (11): 1329.

Adres: 00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24.

Hanna Mojska, Iwona Gielecińska, Katarzyna Świdarska

ZAWARTOŚĆ AKRYLOAMIDU W RÓŻNYCH RODZAJACH PIECZYWA W POLSCE

Zakład Żywności i Suplementów Diety Instytutu Żywności i Żywienia
Kierownik: dr n. rol. *K. Stoś*

Celem pracy była ocena zawartości akryloamidu w różnym rodzajach pieczywa dostępnego na polskim rynku. Oznaczanie zawartości akryloamidu wykonano metodami GCQ-MS/MS i LC-MS/MS. Zawartość akryloamidu w różnych rodzajach pieczywa wahała się od 13 µg/kg w drożdżówkach do 430 µg/kg w pieczywie chrupkim.

Hasła kluczowe: akryloamid, pieczywo, zawartość.
Key words: acrylamide, bread, content.

Akryloamid powstaje w czasie termicznego przetwarzania żywności jako jeden z produktów reakcji *Maillarda* zachodzącej pomiędzy wolną asparaginą a cukrami redukującymi. W badaniach na zwierzętach stwierdzono, że akryloamid wykazuje działanie neurotoksyczne, genotoksyczne i kancerogenne (1, 2). Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem w 1994 r. uznała akryloamid za związek „prawdopodobnie rakotwórczy dla ludzi” (grupa 2A) (3). Głównym źródłem akryloamidu są produkty z ziemniaków (frytki, chipsy), przetwory zbożowe (m in. płatki śniadaniowe, krakersy, pieczywo) oraz kawa.

Z badań prowadzonych w Instytucie Żywności i Żywienia w ostatnich latach wynika, że pieczywo dostarcza, w zależności od grupy wiekowej, od 33% do 49% całkowitego pobrania akryloamidu z dietą (4).

Celem pracy była ocena zawartości akryloamidu w różnym rodzajach pieczywa dostępnego na polskim rynku.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły 94 próbki różnego rodzaju pieczywa, pobrane w latach 2006 - 2010 na terenie całego kraju. Jedną próbkę produktu stanowiły co najmniej 2 produkty handlowe lub jednostkowe, pochodzące z tej samej partii produkcyjnej (tab. I). Pobrane próbki były przechowywane w temperaturze pokojowej (pieczywo chrupkie) lub w stanie zamrożonym w temperaturze -20°C (pozostałe rodzaje pieczywa) do czasu przygotowania średniej próby. Przygotowanie średniej próby polegało na rozdrobnieniu, wymieszaniu próbek, podwójnym zhomogenizowaniu oraz przetarciu przez sito.

Tabela I. Materiał do badań

Tabele I. Sampling

Rodzaj pieczywa	Ilości sztuk pieczywa, z których przygotowano jedną średnią próbkę do badań
chleb pszenno-żytni (n = 42)	2-10 bochenków
chleb żytni (n = 3), razowy (n = 7), graham (n = 4)	2 bochenki
pumpernikiel (n = 5), pieczywo chrupkie (n = 11)	2 opakowania jednostkowe
bułki pszenne (n = 9), grahamki (n = 4)	5 bułeczek lub 2 bułki wrocławskie
bułki maślane (n = 5)	4 rogalce słodkie lub 4 bułki maślane lub 2 chałki ozdobne
drożdżówki (n = 4)	4 bułki z różnymi nadzieniami w zależności od asortymentu w piekarni: jagodzianki, bułka z budyniem, jabłkiem, marmoladą, serem, makiem lub rodzynkami.

Badanie zawartości akryloamidu w pieczywie prowadzono dwoma metodami:

- metodą chromatografii gazowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas (GCQ-MS/MS) – próbki przebadane w latach 2006 – 2008 (38 próbek). Analizę chromatograficzną wykonano na aparacie GCQ firmy Finnigan wyposażonym w detektor masowy z pułapką jonową oraz dozownik typu split/splitless. Próbkę w ilości 1 µl analizowano techniką MS/MS z wykorzystaniem EI (70 eV). Analizę zawartości akryloamidu prowadzono na kolumnie chromatograficznej Rtx-5 MS firmy Restek. Wynik został przyjęty jako średnia z trzech równoległych oznaczeń (5).

- metodą chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) – próbki przebadane w latach 2009 – 2010 (56 próbek). Oznaczenia prowadzono na aparacie UltraMate 3000 firmy Dionex sprzężonym ze spektrometrem mas 3200 QTrap firmy Applied Biosystems. Rozdział chromatograficzny przeprowadzono na kolumnie HYPERCARB firmy Thermo Scientific. Wynik został przyjęty jako średnia z dwóch równoległych oznaczeń.

Wyniki zostały skorygowane o odzysk dla danego rodzaju żywności. W obu metodach analizę prowadzono w obecności wzorca wewnętrznego – akryloamidu deuterowanego. Identyfikacja badanych związków została przeprowadzona na podstawie czasów ich retencji i widma masowego (5).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wyniki zawartości akryloamidu w pieczywie przedstawiono w tabeli II. Wśród przebadanych próbek różnych rodzajów pieczywa najwyższą zawartość akryloamidu stwierdzono w pieczywie chrupkim, które zawierało średnio 430 µg/kg produktu (zakres: 65-1271 µg/kg). W próbce pieczywa chrupkiego oznaczono najwyższą zawartość akryloamidu (1271 µg/kg) wśród wszystkich przebadanych 94 próbek pieczywa. Podobne wyniki uzyskano w badaniach w Austrii (6), gdzie zawartość akryloamidu w pieczywie chrupkim wahała się w

szerokim zakresie od poniżej 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ do 1900 $\mu\text{g}/\text{kg}$. W badaniach prowadzonych w innych krajach najwyższe oznaczone zawartości akryloamidu w próbkach pieczywa chrupkiego nie przekraczały 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (7, 8, 9). Stosunkowo wysoką zawartością akryloamidu, wynoszącą średnio 190 $\mu\text{g}/\text{kg}$ produktu, charakteryzował się pumpernikiel (tab. II). Wydaje się, że na oznaczony poziom akryloamidu w przypadku tego rodzaju pieczywa podstawowy wpływ miał dodawany w procesie wytwarzania karmel.

Tabela II. Zawartość akryloamidu w różnych rodzajach pieczywa przebadanych w latach 2006 – 2010

Table II. Acrylamide content in various kinds of bread analyzed in 2006 - 2010

Rodzaj pieczywa	Liczba próbek	Zawartość akryloamidu [$\mu\text{g}/\text{kg}$]		Porcja produktu [g]	Zawartość akryloamidu [$\mu\text{g}/\text{porcja}$]
		$x \pm \text{SD}$	min ÷ max		
chleb pszenno-żytni	42	31 ± 26	$< 10 \div 99$	35	1,09
chleb żytni jasny	3	98 ± 12	$87 \div 110$	40	3,92
chleb żytni razowy	7	43 ± 46	$< 10 \div 108$	35	1,51
chleb graham	4	67 ± 15	$58 \div 90$	35	2,35
pumpernikiel	5	190 ± 172	$33 \div 430$	53	10,07
pieczywo chrupkie	11	430 ± 359	$65 \div 1271$	11	4,73
bułki pszenne	9	50 ± 21	$23 \div 85$	50	2,50
grahamki	5	51 ± 24	$27 \div 83$	50	2,55
bułki maślane	5	14 ± 6	$< 10 \div 24$	80	1,12
drożdżówki	4	13 ± 9	$< 10 \div 21$	80	1,04

* dane dotyczące gramatury porcji produktu (kromka chleba, bułka) pochodzą z opakowania produktu lub Albumu fotografii produktów i potraw (12).

W pozostałych przebadanych rodzajach pieczywa, średnia zawartość akryloamidu nie przekraczała 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Jedynie w przypadku jednej próbki chleba żytniego jasnego i dwóch chleba żytniego razowego zawartość badanego związku była wyższa niż 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Chleb żytni jasny zawierał średnio 98 μg akryloamidu na kg produktu, chleb graham 67 $\mu\text{g}/\text{kg}$, a chleb żytni razowy 43 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Najniższą zawartość akryloamidu stwierdzono w grupie drożdżówek i bułek maślanych odpowiednio 13 i 14 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (tab. II).

Uzyskane w naszych badaniach średnie zawartości akryloamidu w pieczywie pszenno-żytnim i żytnim razowym były takie same, jak te które uzyskali *Konings* i współpr. (7) w Holandii, odpowiednio 33 i 44 $\mu\text{g}/\text{kg}$ produktu. Natomiast w przypadku pieczywa żytniego jasnego wyniki holenderskie były około pięciokrotnie niższe (19 $\mu\text{g}/\text{kg}$) od uzyskanych w Polsce. Należy podkreślić, że średnia zawartość akryloamidu w pieczywie świeżym w Polsce wahała się od 31 $\mu\text{g}/\text{kg}$ w pieczywie pszenno-żytnim do 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ w pieczywie żytnim i była zbliżona do wyników badań monitoringowych prowadzonych w Europie w latach 2007-2008 (10, 11), wynoszących odpowiednio 55 ÷ 70 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (2007) i 32 ÷ 49 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (2008).

Analiza statystyczna zawartości akryloamidu w pieczywie pod kątem rodzaju użytego ziarna wykazała, że pieczywo żytnie zawierało więcej badanego związku w porównaniu do pieczywa pszennego i pszenno-żytniego, przy czym różnicę istotną statystycznie ($p < 0,01$) stwierdzono jedynie w odniesieniu do pieczywa mieszanego.

Zawartość akryloamidu w pieczywie w przeliczeniu na porcję przedstawiono w tabeli II. Analizując zawartość akryloamidu w przeliczeniu na porcję (kromkę pieczywa lub całą bułkę) produktu, najwyższą zawartość badanego związku stwierdzono w pumperniklu (10,07 $\mu\text{g}/\text{kg}$), a następnie w pieczywie chrupkim (4,73 $\mu\text{g}/\text{kg}$) oraz chlebie żytnim (3,92 $\mu\text{g}/\text{kg}$). W przypadku pozostałych rodzajów pieczywa zawartość akryloamidu wahała się od 1,04 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (drożdżówki) do 2,55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (grahamki).

Oznaczona w różnych rodzajach pieczywa zawartość akryloamidu była stosunkowo niska i z wyjątkiem pieczywa chrupkiego oraz pumpernikla wahała się w zakresie od 13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ do 98 $\mu\text{g}/\text{kg}$ produktu. Dla porównania przeciętna zawartość akryloamidu oznaczana w badanych w tym samym okresie frytkach i chipsach ziemniaczanych była od kilku do kilkunastu razy wyższa (13, 14). Należy pamiętać jednak, że ze względu na częstość i powszechność spożywania, pieczywo może wносить znaczące ilości akryloamidu w codziennej diecie. Warto również zaznaczyć, że szczególnie w rodzinach o niskich dochodach pieczywo jest jednym z głównych składników pożywienia (15, 16). Ze względu na niekorzystne działanie akryloamidu należy dążyć do obniżenia zawartości badanego związku w żywności, w tym pieczywie.

WNIOSKI

1. Najwyższą zawartość akryloamidu stwierdzono w pieczywie chrupkim 430 $\mu\text{g}/\text{kg}$, a w następnej kolejności w pumperniklu – 192 $\mu\text{g}/\text{kg}$, najniższą natomiast w bułkach maślanych – 14 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i drożdżówkach – 13 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Uzyskane wyniki są zbliżone do danych z innych krajów.

2. Zawartość akryloamidu w porcji (kromka, bułka) pieczywa wahała się w zakresie od 1,09 do 10,07 μg . Najwyższa stwierdzona zawartość akryloamidu w kromce pumpernikla (10,07 μg) był dwukrotnie wyższa niż w porcji pieczywa chrupkiego i blisko 10-krotnie wyższa niż w bułkach maślanych oraz w chlebie pszenno-żytnim.

3. Analiza statystyczna zawartości akryloamidu w pieczywie pod kątem rodzaju użytego ziarna wykazała, że pieczywo żytnie zawierało więcej badanego związku w porównaniu do pieczywa pszennego i pszenno-żytniego, jednakże różnica była istotna ($p < 0,01$) jedynie w przypadku pieczywa mieszanego.

4. Ze względu na fakt, że w przeciętnej polskiej diecie pieczywo stanowi ważny składnik i jest powszechnie spożywane, producenci powinni podejmować działania w celu obniżenia poziomu akryloamidu w tej grupie produktów żywnościowych.

H. Mojska, I. Gielecińska, K. Świdarska

ACRYLAMIDE CONTENT IN VARIOUS KIND OF BREAD IN POLAND

Summary

The purpose of our study was to estimate the acrylamide content in various kinds of bread available on the Polish market. We analyzed the acrylamide content of food using GCQ-MS/MS and LC-MS/MS methods. Acrylamide amounts in various kinds of bread ranged from 13 µg/kg in yeast rolls to 430 µg/kg in crispbread. Statistical analysis of acrylamide level in bread in dependence on kind of grain showed that rye bread contains higher amount of this substance in comparison with wheat bread and wheat-rye bread. The statistically significant difference ($p < 0.01$) was only between rye bread and wheat-rye bread.

PIŚMIENNICTWO

1. Bull R. J., Robinson M., Laurie R. D., Stoner G.D., Greisiger E., Meier J.R.J., Stober J.: Carcinogenic effects of acrylamide in Sencar and A/J mice, *Cancer Res.*, 1984; 44: 107-111. – 2. Granath F. N., Vaca C.E., Ehrenberg L.G., Tornqvist M. A.: Cancer risk estimation of genotoxic chemicals based on target dose and multiplicative mode, *Risk Anal.*, 1999; 19: 309-320. – 3. International Agency for Research on Cancer: Some Industrial Chemicals. International Agency for Research on Cancer: Lyon, France 1994, <http://www.iarc.fr/ENG/Databases/index.php>. – 4. Mojska H., Gielecińska I., Oltarzewski M., Szponar L.: Estimation of the dietary acrylamide exposure of the Polish population. *Food Chem. Toxicol.*, 2010; 48: 2090-2096. – 5. Mojska H., Gielecińska I., Malecka K.: Oznaczanie zawartości akryloamidu w produktach ziemniaczanych metodą GC-MS/MS oraz LC-MS/MS. *Roczn. PZH*, 2010; 61 (3): 237-242. – 6. Murkovic M.: Acrylamide in Austrian foods. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 2004; 61: 161-167. – 7. Konings E.J.M., Baars A.J., van Klaveren J.D., Spanjer M.C., Rensen P.M., Hiemstra M., van Kooij J.A., Peters P.W.J.: Acrylamide exposure from foods of the Dutch population and an assessment of the consequent risk. *Food Chem. Toxicol.*, 2003; 41: 1569-1579. – 8. Ariseto A.P., Toledo M.C., Govaert Y., van Loco J., Fraselle S., Weverbergh E., Degroot J.M.: Determination of acrylamide levels in selected foods in Brazil, *Food Addit. Contamin.*, 2007; 24 (3): 236-241. – 9. Ölmez H., Tuncay F., Özcan N., Demirel S.: A survey of acrylamide levels in foods from the Turkish market, *J. Food Comp. Anal.*, 2008; 21: 564-568. – 10. EFSA. 2009. Scientific Report of EFSA. Results on the monitoring of acrylamide levels in food. <http://www.efsa.europa.eu>
11. EFSA. 2010. Scientific Report of EFSA. Results on acrylamide levels in food from monitoring year 2008. <http://www.efsa.europa.eu> – 12. Szponar L., Wolnicka K., Rychlik E.: Album fotografii produktów i potraw, *Prace IŻŻ 96*, Warszawa, 2000. – 13. Mojska H., Gielecińska I., Chajewska K., Szponar L.: Zawartość akryloamidu w chipsach ziemniaczanych, *Roczn. PZH*, 2006; 57 (3): 243-249. – 14. Gielecińska I., Mojska H.: Ocena zawartości akryloamidu we frytkach ziemniaczanych, *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009; 42 (3): 486-490. – 15. *Rocznik Statystyczny Rzeczypospolitej Polskiej*, GUS, Warszawa, 2008. – 16. *Rocznik Statystyczny Rzeczypospolitej Polskiej*, GUS, Warszawa, 2009.

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

Iwona Ścibisz, Stanisław Kalisz, Marta Mitek

ZAWARTOŚĆ HYDROKSYMETYLOFURFURALU ORAZ FURFURALU W DŻEMACH BORÓWKOWYCH*

Zakład Technologii Owoców i Warzyw, Wydział Nauk o Żywności, SGGW w Warszawie
Kierownik: dr hab. *M. Mitek*, prof. SGGW

Zbadano wpływ temperatury gotowania oraz rodzaju dodanego cukru na tworzenie się hydroksymetylofurfuralu (HMF) oraz furfuralu podczas produkcji dżemów borówkowych. Dżemy gotowano w temperaturze 65°C i 100°C. Wyprodukowano cztery produkty, które w składzie różniły się rodzajem dodanego sacharydu. Zawartość HMF, furfuralu oraz cukrów w dżemach oznaczono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

Słowa kluczowe: dżem, HMF, furfural, obróbka termiczna, cukier.
Key words: jam, HMF, furfural, thermal treatment, sugar.

Dżemy otrzymane z owoców kolorowych są cenionymi przez konsumentów produktami ze względu na atrakcyjną barwę, smakowitość oraz wysoką wartość żywieniową. Podczas otrzymywania dżemów tworzą się jednak produkty reakcji Maillarda takie jak hydroksymetylofurfural (HMF) oraz furfural, które wpływają negatywnie na jakość przetworów. Według *Gentry i Roberts* (1) reakcja powstawania HMF podczas ogrzewania cydrów przebiega zgodnie z kinetyką zerowego rzędu i na jej tempo wpływa temperatura procesu oraz pH produktu. Na zawartość HMF w dżemach wpływać może także rodzaj sacharydu, który dodawany jest w produkcji. Badania wykazały, że podczas pieczenia ciastek dodatek glukozy zwiększa szybkość powstawania HMF w porównaniu do produktów gdzie w recepturze wykorzystano sacharozę (2). Również badania przeprowadzone na winach oraz sokach winogronowych udowodniły, że obecność fruktozy przyspiesza tempo powstawania HMF w porównaniu do glukozy (3, 4).

Produkty poddawane obróbce termicznej mogą zawierać także furfural. Badania modelowe wykazały, że na zawartość furfuralu oprócz temperatury prowadzenia procesu termicznego wpływ ma także obecność kwasu askorbinowego (5). Związane jest to prawdopodobnie z beztlenową degradacją kwasu askorbinowego podczas której powstaje furfural (6). Celem pracy było określenie wpływu temperatury gotowania, a także rodzaju i ilości użytego sacharydu na powstawanie HMF oraz furfuralu w dżemach otrzymanych z owoców borówki.

* Praca naukowa finansowana ze środków Komitetu Badań Naukowych w latach 2007-2010 jako projekt badawczy nr N N312 1832 33.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły dżemy otrzymane z owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.) odmiany Patriot. Zakres pracy obejmował wyprodukowanie czterech rodzajów dżemów o zróżnicowanym składzie pod względem rodzaju i stężenia cukrów. Dżemy gotowane były w kotle otwartym (w temp. 100°C) oraz w wyparce (w temp. 65°C). Do produkcji przetworów wykorzystano sacharozę, fruktozę oraz syrop glukozowo-fruktozowy, a także pektynę niskometylowaną oraz kwas cytrynowy. Recepturę dżemów opracowano na podstawie składu chemicznego owoców oraz założeń technologicznych, które dotyczyły wsadu owoców (450 g na 1 kg dżemu) ekstraktu końcowego produktów (dżemy niskosłodzone – 38%, dżemy wysokosłodzone – 60%) oraz kwasowości ogólnej dżemów (1,2%).

W dżemach oznaczono zawartość HMF oraz furfuralu metodą HPLC (7), a także podstawowy skład chemiczny otrzymanych przetworów: zawartość ekstraktu metodą refraktometryczną, kwasowość ogólną metodą potencjometryczną, pH oraz zawartość sacharozy, fruktozy, glukozy z metodą HPLC (8). Wyniki poddano wieloczynnikowej analizie wariancji. Dla porównania średnich wykorzystano test *t-Tukey'a*, przy poziomie istotności $\alpha=0,05$. Średnie oznaczone tą samą literą oznaczają przynależność do tej samej lub wspólnej klasy.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W celu scharakteryzowania dżemów wykonano oznaczenia ich podstawowego składu chemicznego (tab. I). Zawartość ekstraktu i kwasowość była zbliżona do wartości założonych w recepturze. Dżemy uzyskane podczas gotowania w kotłach otwartych charakteryzowały się stosunkowo wysoką zawartością cukrów bezpośrednio redukujących, a niską sacharozy, w porównaniu do jej ilości dodanej. Sacharoza dodawana do przetworów mogła ulec częściowej inwersji, w wyniku której powstała mieszanina równej ilości glukozy i fruktozy. Inwersja ta zachodzi intensywnie w środowisku kwaśnym oraz w wysokiej temperaturze (9).

Dżemy z dodatkiem fruktozy zawierały niewielką ilość sacharozy (0,1-0,2 g/100 g), co związane było z niską zawartością tego cukru w owocach borówek. Według *Kader* i współpr. (10) zawartość sacharozy w owocach borówek wysokich kształtuje się na poziomie od 0,15 do 1,0 g/100 g.

Zawartość HMF w badanych dżemach borówkowych wahała się w szerokim zakresie od 0,14 do 0,42 mg/100 g dżemu (ryc. 1). Podobną ilość HMF (0,3 mg/100 g) oznaczono w dżemie truskawkowym zakupionym na rynku norweskim (11). Wyższe zawartości HMF (1,35 mg/100 g) notowano w hiszpańskich dżemach komercyjnych w badaniach przeprowadzonych przez *Rada-Mendoza* i współpr. (7). Należy jednak zauważyć, że większość badanych we wspomnianej pracy dżemów była wysokosłodzona, co mogło wpłynąć na ilość HMF jaka powstała podczas produkcji. Ponadto badania wykazują, że na zawartość HMF w produktach mogą

wpływać warunki oraz czas ich przechowywania (12). W niniejszej pracy dżemy analizowano bezpośrednio po produkcji, co mogło wpłynąć na otrzymanie niższych zawartości HMF w porównaniu do dżemów komercyjnych zakupionych na rynku, które mogły być długo przechowywane w wysokiej temperaturze.

Tabela 1. Podstawowy skład chemiczny dżemów

Table 1. Basic chemical composition of jams

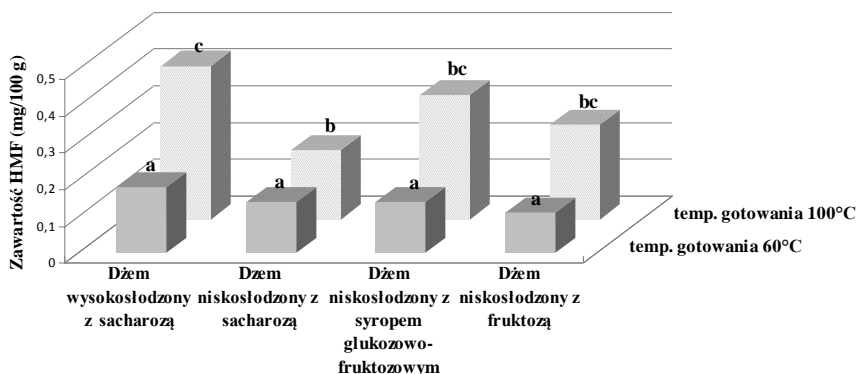
	Temperatura gotowania	Ekstrakt	Kwasowość ogólna [g/100 g]	pH	Zawartość sacharydów [g/100 g]		
					Glukoza [g/100 g]	Fruktoza [g/100 g]	Sacharoza [g/100 g]
					x±SD	x±SD	x±SD
Dżem wysokosłodzony z dodatkiem sacharozy	65°C	59,9±1,7	1,3±0,5	2,3±0,5	25,2±1,3	23,2±1,5	7,9±0,4
	100°C	59,4±1,6	1,2±0,4	2,4±0,34	27,2±0,8	26,0±1,2	1,9±0,2
Dżem niskosłodzony z dodatkiem sacharozy	65°C	37,8±0,9	1,3±0,2	2,3±0,4	15,4±1,0	13,9±0,9	3,8±0,2
	100°C	37,5±0,9	1,2±0,3	2,3±0,4	17,0±0,5	16,1±0,7	1,6±0,2
Dżem niskosłodzony z dodatkiem syropu glukozowo-fruktozowego	65°C	37,9±0,9	1,2±0,4	2,3±0,3	16,0±0,7	14,9±0,9	4,5±0,3
	100°C	37,9±0,3	1,2±0,3	2,4±0,3	16,2±0,5	16,0±0,8	3,3±0,3
Dżem niskosłodzony z dodatkiem fruktozy	65°C	37,8±0,6	1,2±0,2	2,4±0,4	2,2±0,1	33,2±1,4	0,1±0,01
	100°C	37,6±0,6	1,2±0,2	2,3±0,3	2,2±0,1	32,8±1,6	0,1±0,01

X – średnia zawartość, SD – odchylenie standardowe.

W pracy obserwowano wpływ temperatury gotowania dżemów na zawartość HMF. Istotnie wyższą zawartością charakteryzowały się dżemy otrzymane w kotle otwartym w porównaniu do produktów gotowanych w wyparce próżniowej. Podobnie w modelowych badaniach przeprowadzonych na puree brzoskwińowym udowodniono, że temperatura oraz czas ogrzewania wpływa na zawartość HMF (9).

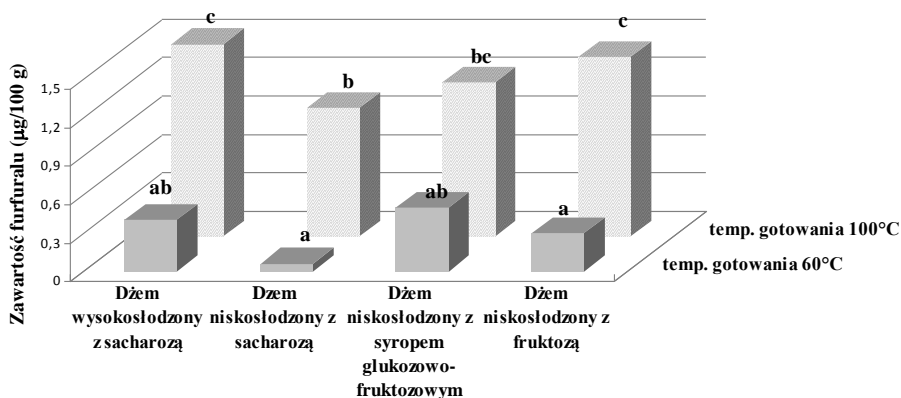
W niniejszej pracy wykazano także istotny wpływ ilości dodanej sacharozy na zawartość HMF w dżemach gotowanych w temp. 100°C. Dżem wysokosłodzony charakteryzował się najwyższą zawartością HMF. Istotnego wpływu dodatku sacharydów nie obserwowano natomiast w dżemach gotowanych w temp. 65°C. Podobne wyniki badań uzyskano w badaniach modelowych prowadzonych przez *Chen* i współpr. (13). Wykazano, że w podczas ogrzewania zakwaszonych (pH 2,6-3,2) roztworów fruktozy w temp. 95°C ilość tworzącego się HMF jest tym wyższa, im wyższe jest stężenie sacharydu. Podobnie jak w niniejszej pracy takiej zależności nie obserwowano podczas ogrzewania roztworów cukrów w niższej temperaturze.

W otrzymanych dżemach oznaczono zawartość furfuralu, którego średnia ilość wynosiła jedynie 0,9 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ produktu (ryc. 2). Niska zawartość witaminy C w dżemach mogła mieć wpływ na powstanie tak małych ilości furfuralu, który może powstawać jako jeden z produktów podczas beztlenowej degradacji kwasu L-askorbinowego. W pracy nie obserwowano istotnego wpływu temperatury gotowania oraz rodzaju dodanego sacharydu na zawartość furfuralu w badanych dżemach.



Ryc. 1. Zawartość HMF w otrzymanych dżemach.

Fig. 1. The content of HMF in jams.



Ryc. 2. Zawartość furfuralu w badanych dżemach.

Fig. 2. The content of furfural in jams.

WNIOSKI

1. Na zawartość HMF w dżemach niskosłodzonych istotny wpływ ma temperatura gotowania. Dżemy otrzymane w kotle otwartym charakteryzują się prawie dwukrotnie wyższą zawartością HMF w porównaniu do produktów gotowanych w temp. 65°C pod zredukowanym ciśnieniem.

2. Rodzaj oraz stężenie sacharydów istotnie wpływa na ilość HMF w dżemach gotowanych w kotle otwartym. Najwyższą zawartością HMF wyróżniał się dżem wysokosłodzony gdzie jako substancji słodzącej wykorzystano sacharozę.

3. Podczas produkcji dżemów powstają niewielkie ilości furfuralu, które nie zależą od temperatury gotowania dżemów oraz od rodzaju i stężenia dodanych sacharydów.

I. Ścibisz, S. Kalisz, M. Mitek

THE CONTENT OF HYDROXYMETHYLFURFURAL AND FURFURAL IN BLUEBERRY JAM

Summary

The influence of boiling temperature and the type of saccharides on furfural and hydroxymethylfurfural (HMF) formation was studied during blueberry jam production. The jams were boiled at different temperatures (65°C and 100°C) and four different products were prepared by varying the type of sugars. High pressure liquid chromatography technique was used for the determination of HMF, furfural and sugars content.

PIŚMIENNICTWO

1. *Gentry T.S., Roberts J.S.*: Formation kinetics and application of 5-hydroxymethylfurfural as a time-temperature indicator of lethality for continuous pasteurization of apple cider. *Innovat. Food Sci. Emerg. Techn.*, 2004; 5: 327-333. – 2. *Gökmen V., Açar Ö.C., Serpen A., Morales F.J.*: Effect of leavening agents and sugars on the formation of hydroxymethylfurfural in cookies during baking. *Eur. Food Res. Technol.*, 2008; 226: 1031-1037. – 3. *Kroh L.W.*: Caramelisation in food and beverages. *Food Chem.*, 1994; 51 (4): 373-379. – 4. *Göğüş F., Bozkurt H., Eren S.*: Kinetics of Maillard Reactions between the major sugars and amino acids of boiled grape juice. *Lebensm-Wiss. u. Technol.*, 1998; 31: 196-200. – 5. *Murata M., Shinoda Y., Homma S.*: Browning of model orange juice solution and changes in the components. *Inter. Cong. Series*, 2002; 459-460. – 6. *Gasik A.*: Kwas askorbinowy – właściwości i zastosowanie w technologii żywności. *Przem. Spoż.*, 1990; 7: 352-357. – 7. *Rada-Mendoza M., Olano A., Villamiel M.*: Determination of hydroxymethylfurfural in commercial jams and in fruit based infant food. *Food Chem.*, 2002; 79: 513-516. – 8. *Agblevor F.A., Murden A., Hames B.R.*: Improved method of analysis of biomass sugars using high-performance liquid chromatography. *Biotechn. Lett.*, 2004; 26 (15): 1207-1211. – 9. *Garza S., Ibarz A., Pagan J., Giner J.*: Non-enzymatic browning in peach puree during heating. *Food Res. Inter.*, 1999; 32: 335-343. – 10. *Kader F., Rovel B., Girardin M., Metche M.*: Fractionation and identification of the phenolic compounds of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Food Chem.*, 1996; 55 (1): 35-40.

11. *Husøy T., Haugen M., Murkovic M., Jobstl D., Stølen L.H., Bjellaas T., Rønningborg C., Glatt H., Alexander J.*: Dietary exposure to 5-hydroxymethylfurfural from Norwegian food and correlation with urine metabolites of short-term exposure. *Food Chem. Toxic.*, 2008; 46: 3697-3702. – 12. *Rada-*

Mendoza M., Sanz M.L., Olano A., Villamiel M.: Formation of hydroxymethylfurfural and furosine during the storage of jams and fruit-based infant foods. *Food Chem.*, 2004; 85: 605-609. – 13. *Chen S.L., Yang D.J., Chen H.Y., Liu S.C.:* Effect of hot acidic fructose solution on caramelisation intermediates including colour, hydroxymethylfurfural and antioxidant activity changes. *Food Chem.*, 2009; 114: 582-588.

Adres: 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159c.