

MARIOLA FRIEDRICH, MAGDALENA KUCHLEWSKA

OCENA WPŁYWU WYBRANEJ MIESZANINY DODATKÓW DO ŻYWNOŚCI NA WSKAŹNIKI PRZEMIAN WĘGLOWODANOWO-LIPIDOWYCH

Streszczenie

Celem badań było określenie, na modelu zwierzęcym, czy i w jaki sposób mieszanina wybranych substancji dodatkowych do żywności, wraz ze zmianą składu diety na przetworzoną, oczyszczoną, wymagającą zastosowania tych dodatków, wpływają na metabolizm węglowodanowo-lipidowy ustroju.

Badania przeprowadzono na 48 samcach i 48 samicach (osobno dla każdej płci) szczura szczepu Wistar, podzielonych na cztery grupy. Do picia zwierzęta grupy I i III otrzymywały wodę. Zwierzętom z grupy II i IV podawano 5 ml roztworu wybranych dodatków do żywności: azotanu(V) potasu – E 252, azotanu(III) sodu – E 250, kwasu benzoowego – E 210, kwasu sorbowego – E 200 i glutaminianu sodu – E 621. Ilość podawanych dodatków wyliczono, biorąc pod uwagę średnie spożycie przez ludzi, w przeliczeniu na jednostkę masy ciała. Po wypiciu roztworu zwierzęta dopajano czystą wodą.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że dodatek do diety mieszaniny wybranych dodatków do żywności powodował istotny wzrost stężenia glukozy, cholesterolu całkowitego oraz jego frakcji LDL, co wskazuje, że zastosowane dodatki mogą sprzyjać powstawaniu lub nasilaniu zaburzeń lipidowych. Odpowiedź organizmu na zastosowane dodatki była istotnie związana z płcią badanych zwierząt, przy czym zmiany zachodzące w zakresie gospodarki węglowodanowo-lipidowej obserwowano również u samic, pomimo ochronnego wpływu estrogenów w tym zakresie. Niekorzystny charakter zmian zachodzących pod wpływem zastosowanej mieszaniny dodatków obserwowano zarówno u zwierząt karmionych paszą podstawową, jak i zmodyfikowaną. Jednak zmiany te występowały z różnym natężeniem, w zależności od badanego parametru.

Słowa kluczowe: dodatki do żywności, metabolizm węglowodanowo-lipidowy, szczur szczepu Wistar

Wprowadzenie

Problemy dotyczące zaburzeń gospodarki lipidowej należą do aktualnych obszarów badawczych specjalistów z wielu dziedzin. Związane jest to z faktem, że zaburzenia te uważa się za główny czynnik rozwoju miażdżycy – jednej z ważniejszych nieza-

Prof. dr hab. M. Friedrich, dr inż. M. Kuchlewska, Zakład Fizjologii Żywienia Człowieka, Wydz. Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Papieża Pawła VI 3, 71-459 Szczecin

każnych chorób przewlekłych, tzw. chorób cywilizacyjnych [20, 21]. Poszukiwane są zarówno metody leczenia, jak i zapobiegania dyslipidemii oraz miażdżycy. Istotne znaczenie w tym zakresie może mieć czynnik żywieniowy, tym bardziej że sposób żywienia może podlegać dość prostej interwencji i modyfikacji.

W Polsce na przestrzeni ostatnich lat zmieniły się upodobania żywieniowe konsumentów, którzy coraz częściej korzystają z żywności wysoko przetworzonej. Do jej produkcji wykorzystywane są zarówno nowoczesne procesy technologiczne, jak i wiele substancji dodatkowych, których obecność w diecie nie jest obojętna dla organizmu człowieka. Substancje dodatkowe do żywności mogą być stosowane tylko zgodnie z ich funkcjami technologicznymi, w dawkach, których wielkość jest uregulowana prawnie. Jednak ze względu na rosnące znaczenie globalizacji handlu artykułami spożywczymi konieczne jest prowadzenie ciągłej kontroli i badań nad bezpieczeństwem stosowania dodatków do żywności i ich oddziaływaniem na organizm. Ciągłe jeszcze nieliczne są dane informujące o synergistycznym wpływie mieszaniny różnych substancji dodatkowych do żywności na funkcje ustroju i podstawowe tory metaboliczne, których zmieniony przebieg może sprzyjać pojawianiu się nieprawidłowej odpowiedzi organizmu, niezwiązanej ze swoistą reakcją układu odpornościowego na spożyte pokarm lub związek dodany [16].

Celem podjętych badań było określenie, na modelu zwierzęcym, czy i w jaki sposób mieszanina wybranych, najczęściej stosowanych i spożywanych substancji dodatkowych, wraz ze zmianą składu diety na przetworzoną, oczyszczoną, wymagającą zastosowania tych dodatków, wpływają na metabolizm węglowodanowo-lipidowy ustroju.

Material i metody badań

Doświadczenie, po uzyskaniu zgody Lokalnej Komisji Etycznej (nr zgody 31/2006), przeprowadzono na 48 samcach i 48 samicach (osobno dla każdej płci) szczura laboratoryjnego szczepu Wistar, w wieku 5 - 7 miesięcy, które umieszczono w indywidualnych klatkach, w klimatyzowanym wiwarium, w temp. 21 ± 1 °C, w cyklu jasność/ciemność 12 h/12 h.

Zwierzęta podzielono na 4 grupy żywieniowe, po 12 sztuk w każdej, i żywiono *ad libitum* granulowanymi mieszankami, wyprodukowanymi z tych samych, poza różnicującymi, komponentów, po wdrożeniu procedury 5.14.5 „Czyszczenie maszyn i urządzeń”, przez Wytwórnę Pasz i Koncentratów w Kcyni. Grupy I i II otrzymywały paszę podstawową, grupy III i IV – paszę zmodyfikowaną, w której, w stosunku do paszy podstawowej, część pełnych ziaren pszenicy zastąpiono mąką pszenną typu 500, a 50 % kukurydzy – sacharozą. Udział pozostałych składników w obu paszach był identyczny.

W celu ustalenia składu chemicznego zastosowanych w doświadczeniu pasz przeprowadzono podstawowe analizy chemiczne. Z przygotowanych prób, zgodnie

z zaleceniami [26], pobrano naważki (po 4 z każdej), w których oznaczano zawartość białka ogólnego, tłuszczu surowego, suchej masy i związków mineralnych w postaci popiołu ogólnego. Względną zawartość węglowodanów obliczano z różnicy pomiędzy suchą masą a sumą zawartości białka, tłuszczu i popiołu. Pełny skład zastosowanych w doświadczeniu pasz przedstawiono w tab. 1., a ich skład chemiczny w tab. 2. Pasje były izokaloryczne.

Tabela 1

Skład surowcowy pasz zastosowanych w doświadczeniu.
Ingredients contained in feedstuffs used in experiment.

Skład recepturalny Ingredients	Pasza podstawowa [%] Basic feedstuff [%]	Pasza zmodyfikowana [%] Modified feedstuff [%]
Pszennica /Wheat	36,4	6,0
Kukurydza / Corn grain	20,0	10,0
Otręby pszenne / Wheat bran	20,0	20,0
Śruta sojowa / Soya-bean grain	17,0	17,0
Serwatka suszona / Dry whey	3,0	3,0
Fosforan 2-CA / Phosphate 2-CA ¹	0,8	0,8
Kreda pastewna / Fodder chalk ²	1,5	1,5
Sól pastewna / Fodder salt ³	0,3	0,3
Premiks LRM / Premix LRM ⁴	1,0	1,0
Mąka pszenna typu 500 / Wheat flour type 500	–	30,4
Cukier biały / Saccharose	–	10,0

Objaśnienia: / Explanatory notes:

¹CaHPO₄; ²Mainly CaCO₃; ³Mainly NaCl; ⁴Vitamin-mineral composition used in animals feeds.

Tabela 2

Skład chemiczny pasz zastosowanych w doświadczeniu.
Chemical composition of feedstuffs used in experiment.

Składnik Component	Pasza podstawowa Basic feedstuff	Pasza zmodyfikowana Modified feedstuff
Białko ogólne / Total protein [%]	19,2	18,5
Tłuszcz surowy / Crude fat [%]	2,81	2,33
Węglowodany / Carbohydrates [%]	63,8	65,5
Sucha masa / Dry matter [%]	91,9	92,3
Popiół ogólny / Total ash [%]	6,09	6,00
Energia brutto / Gross energy		
[kcal/g]	3,99	3,98
[kJ/g]	16,7	16,7
Energia metaboliczna / Metabolic energy		
[kcal/g]	3,57	3,56
[kJ/g]	14,9	14,9

Do picia zwierzętom grup I i III podawano czystą, odstanną wodę wodociągową. Zwierzętom grup II i IV podawano, w porze wzmożonej aktywności, 5 ml wodnego roztworu wybranych dodatków do żywności: azotanu(III) sodu (E 250) w ilości 0,07 mg/kg masy ciała, azotanu(V) potasu (E 252) - 5,07 mg/kg masy ciała, kwasu benzoowego (E 210) - 1,39 mg/kg masy ciała, kwasu sorbowego (E 200) - 0,51 mg/kg masy ciała i glutaminianu sodu (E 621) - 17,65 mg/kg masy ciała. Podawane ilości dodatków wyliczono, biorąc pod uwagę średnie spożycie przez ludzi, w przeliczeniu na kilogram masy ciała [6, 33, 35], co wynosiło: w przypadku azotanu(III) sodu - 11,7 % ADI, azotanu(V) potasu - 137,0 % ADI, kwasu benzoowego - 27,8 % ADI, kwasu sorbowego - 2,0 % ADI [27]. Ponieważ ilość podawanych zwierzętom dodatków przeliczano na jednostkę masy ciała, dlatego co tydzień, po zważeniu zwierząt, ilość dodatków była aktualizowana. Po wypiciu roztworu dodatków, zwierzęta dopajano czystą, odstanną wodą wodociągową.

W trakcie 7-tygodniowego doświadczenia (po jednotygodniowym okresie kondycjonowania), codziennie, na bieżąco obliczano ilość pobranej przez zwierzęta wody i spożywanej przez nie paszy, a raz w tygodniu, zawsze o tej samej porze, kontrolowano masę ciała zwierząt. Na 12 h przed zakończeniem doświadczenia odstawiono paszę, a następnie zwierzęta uspioło anestetykiem Ketanest podanym domięśniowo i pobrano od nich krew do analiz.

W surowicy krwi oznaczano stężenia:

- glukozy i triacylogliceroli – metodami enzymatycznymi, kolorymetrycznymi, przy użyciu zestawów odczynników firmy BioMaxima, w spektrofotometrze Metertech SP-8001;
- cholesterolu całkowitego – metodą enzymatyczną, kolorymetryczną, przy użyciu zestawu odczynników firmy BioSystems, w spektrofotometrze Metertech SP-8001;
- HDL-cholesterolu – metodą strąceniową, przy użyciu zestawu odczynników firmy Aqua Med, w spektrofotometrze Metertech SP-8001;
- LDL-cholesterolu – metodą strąceniową, przy użyciu zestawu odczynników firmy BioSystems, w spektrofotometrze Metertech SP-8001 oraz
- wykonywano rozdział elektroforetyczny lipoprotein na żelu agarozowym Paragon Elektrophoresis System Lipo i przy użyciu odczynników firmy Beckman Coulter oraz komory firmy Cormay.

Uzyskane wyniki, po stwierdzeniu normalności rozkładu, poddano obliczeniom statystycznym przy użyciu komputerowego programu Statistica[®] 8 firmy StatSoft, z zastosowaniem testu Duncana oraz trzyczynnikowej (dodatki × dieta × płeć) analizy wariancji dla zmiennych niezależnych.

Wyniki i dyskusja

Analizując wpływ zastosowanej w doświadczeniu mieszanki dodatków na spożycie paszy stwierdzono, że modyfikowała ona, zarówno u samców, jak i samic, wielkość jej pobrania (tab. 3).

U samców wpływ ten manifestował się zwiększonym spożyciem paszy, niezależnie od jej rodzaju, zarówno ogółem, jak i w przeliczeniu na jednostkę masy ciała. U samic wpływ zastosowanych dodatków do żywności zaznaczył się wzrostem ogólnego spożycia paszy przez samice żywione paszą podstawową oraz zmniejszeniem ogólnego spożycia paszy przez samice żywione paszą zmodyfikowaną. Biorąc jednak pod uwagę ilość spożytej paszy, w przeliczeniu na 100 g masy ciała stwierdzono, podobnie jak u samców, wzrost spożycia pod wpływem zastosowanych dodatków, niezależnie od rodzaju paszy, i był on statystycznie istotny (tab. 4).

Zastosowana w doświadczeniu mieszanka dodatków do żywności tylko u zwierząt żywionych paszą podstawową sprzyjała większym przyrostom masy ciała, natomiast u żywionych paszą zmodyfikowaną powodowała zmniejszenie przyrostów masy ciała, tak bezwzględnie, jak i w przeliczeniu na 100 g spożytej paszy (tab. 3).

Obserwowany efekt jest trudny do wyjaśnienia, ale pozwala domniemywać, że albo składniki paszy zmodyfikowanej, na skutek wpływu dodatków do żywności, nie były w pełni wykorzystywane, albo były wykorzystywane w sposób, który nie pozwalał na adekwatne, do ich wartości energetycznej, przyrosty masy ciała. Wydaje się, że mógłby to być objaw wpływu zastosowanych w eksperymencie azotanu(V) i azotanu(III). Bilczuk [3], stosując te dodatki, również obserwowała zmniejszone przyrosty masy ciała badanych zwierząt.

Biorąc pod uwagę wyniki analizy statystycznej badanych interakcji pomiędzy zastosowanymi dodatkami do żywności a dietą i płcią (tab. 4), trudno jednoznacznie określić, co było bezpośrednią przyczyną obserwowanych zjawisk. Mogły nią być różnice w wielkości spożycia paszy i związane z nimi dowóz substancji regulujących lub też sama zamiana składników paszy, która zubażała lub pozbawiała ją np. składników mineralnych, obecnych w okrywie owocowo-nasiennej ziarniaków. Obserwowane zależności mogły być też efektem wpływu hormonów płciowych na metabolizm ustroju [13, 34], których odmienne działanie wyraźnie już zaznaczyło się przy analizowaniu badanych parametrów gospodarki węglowodanowo-lipidowej (tab. 5 i 6).

Tabela 3

Pobieranie paszy oraz przyrosty masy ciała szczurów w zależności od składu diety i zastosowanej mieszanki dodatków do żywności.
Feedstuff intake and gains in body mass in rats depending on diet composition and applied mixture of selected food additives.

Badany parametr Examined parameter	Płeć Gender	Pasza podstawowa Basic feedstuff (a)	Pasza podstawowa + dodatki Basic feedstuff + food additives (b)	Pasza zmodyfikowana Modified feedstuff (c)	Pasza zmodyfikowana + dodatki Modified feedstuff + food additives (d)	Istotność różnic Significance of differences
Spożycie paszy [g] Consumption of feedstuff [g]	Males	1348 ± 29,4	1353 ± 48,6	1224 ± 50,3	1245 ± 72,9	a – c**, d*; b – c, d** a – b**, b – d*
	Females	831 ± 47,7	892 ± 62,9	859 ± 43,0	840 ± 55,5	
Spożycie paszy [g/100 g masy ciała] Consumption of feedstuff [g/100 g of body mass]	Males	276 ± 13,8	278 ± 16,0	254 ± 15,9	265 ± 20,5	a – c**, b – c** a – b*, d**
	Females	312 ± 15,4	331 ± 16,6	323 ± 19,2	333 ± 21,9	
Przyrost masy ciała [g] Body mass gain [g]	Males	37,2 ± 12,84	40,6 ± 9,17	36,5 ± 8,75	31,4 ± 10,92	- d – a, b, c**
	Females	13,5 ± 7,89	14,8 ± 6,07	12,0 ± 7,56	6,84 ± 1,57	
Przyrosty masy ciała [g/100 g masy ciała] Body mass gain [g/100 g of feedstuff]	Males	2,74 ± 0,493	2,99 ± 0,720	2,98 ± 0,746	2,52 ± 0,837	- d – a, b, c**, b – c*
	Females	1,61 ± 0,365	1,65 ± 0,383	1,39 ± 0,574	0,81 ± 0,188	

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x} \pm s / SD$, n = 96; *, **, *** - różnica statystycznie istotna *p ≤ 0,05; ** p ≤ 0,01 / ***, *** - statystycznie istotna różnica *p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01.

Tabela 4

Wyniki analizy statystycznej wpływu mieszaniny wybranych dodatków do żywności i składu diety na spożycie paszy i przyrosty masy ciała szczurów.

Statistical analysis results of impact of mixture of selected food additives and diet composition on feedstuff intake and body mass gain in rats.

Badany parametr Examined parameter	Istotność różnic i interakcje Significance of differences and interactions						
	Dodatki Food additives (A)	Dieta Diet (D)	Płeć Sex (P)	A×D	A×P	D×P	A×D×P
Spożycie paszy [g] Consumption of feedstuff [g]	-	**	**	-	-	**	-
Spożycie paszy [g/100 g masy ciała] Consumption of feedstuff [g/100 g of body mass]	*	-	**	-	-	*	-
Przyrost masy ciała [g] Body mass gain [g]	*	**	**	**	-	-	-
Przyrosty masy ciała [g/100 g masy ciała] Body mass gain [g/100 g of feedstuff]	*	**	**	**	**	**	*

Objaśnienia: / Explanatory notes:

n = 96; *, ** - różnica statystycznie istotna *p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01 / *, ** - statistically significant difference *p ≤ 0.05, ** p ≤ 0.01.

Zastosowane w doświadczeniu dodatki do żywności, zarówno u samców, jak i u samic spowodowały wzrost stężenia glukozy we krwi, niezależnie od rodzaju spożywanej paszy (tab. 5 i 6). Stężenie glukozy we krwi jest wypadkową składu diety, tempa wnikania glukozy do komórek i szybkości jej metabolizowania w komórkach. Szybkość metabolizmu glukozy w komórce zależy m.in. od aktywności enzymów biorących udział w jej przemianach. Aktywność ta może być modyfikowana obecnością lub brakiem określonych witamin z grupy B, pełniących w tych reakcjach rolę koenzymów. Biorąc powyższe pod uwagę wydaje się, że obserwowany efekt mógł wynikać z faktu, że zastosowane w doświadczeniu: azotan(V) i azotan(III) zmniejszają w produkcji, poprzez destrukcję, zawartość witamin z grupy B [18, 28]. Powstające niedobory nie tylko mogą zmieniać tempo metabolizmu glukozy w komórce, ale mogą również hamować proces jej wnikania do komórki [5, 15]. Mechanizm tego wpływu związany jest ze wzrostem, przy niedoborach witaminy B₆, stężenia kwasu ksantureninowego i tworzeniem kompleksów z insuliną, które wykazują niewielką aktywność hormonalną.

Tabela 5

Wartości wybranych parametrów gospodarki węglowodanowo-lipidowej u samców szczura w zależności od składu diety i zastosowanej mieszanki dodatków do żywności.

Values of selected parameters of carbohydrate-lipid metabolism in male rats depending on diet composition and applied mixture of selected food additives.

Badany parametr Examined parameter	Pasza podstawowa Basic feedstuff (a)	Pasza podstawowa + dodatki Basic feedstuff + food additives (b)	Pasza zmodyfikowana Modified feedstuff (c)	Pasza zmodyfikowana + dodatki Modified feedstuff + food additives (d)	Istotność różnic Significance of differences
Glukoza Glucose [mmol·l ⁻¹]	9,10 ± 0,98	9,60 ± 0,86	10,60 ± 0,89	11,38 ± 1,09	a – c, d** b – c*, d**
Triacyloglicerole Triacylglycerols [mmol·l ⁻¹]	0,69 ± 0,21	1,04 ± 0,31	1,01 ± 0,22	1,10 ± 0,27	a – b, c, d**
Cholesterol całkowity Total cholesterol [mmol·l ⁻¹]	2,51 ± 0,10	2,72 ± 0,24	2,77 ± 0,21	3,06 ± 0,10	a – b, c, d** b – d** c – d**
Cholesterol HDL HDL- cholesterol [mmol·l ⁻¹]	1,79 ± 0,17	1,76 ± 0,09	1,85 ± 0,15	1,88 ± 0,05	b – d*
Cholesterol LDL LDL- cholesterol [mmol·l ⁻¹]	0,43 ± 0,07	0,54 ± 0,06	0,46 ± 0,13	0,71 ± 0,14	a – b*, d** d – b, c**
α-lipoproteiny α-lipoprotein (HDL-) [%]	78,2 ± 5,46	72,7 ± 5,14	74,6 ± 6,17	75,9 ± 10,35	-
Pre-β-lipoproteiny Pre-β-lipoprotein (VLDL-) [%]	7,3 ± 2,54	11,9 ± 3,01	11,7 ± 3,07	9,2 ± 4,90	a – b, c**
β-lipoproteiny β-lipoprotein (LDL-) [%]	14,3 ± 2,51	15,0 ± 3,13	13,3 ± 3,42	14,4 ± 4,37	-

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x} \pm s$, n = 12 w grupie / $\bar{x} \pm SD$, n = 12 in a group

*,** - różnica statystycznie istotna *p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01 / *,** - statistically significant difference *p ≤ 0.05, ** p ≤ 0.01.

Tabela 6

Wartości wybranych parametrów gospodarki węglowodanowo-lipidowej u samic szczura w zależności od składu diety i zastosowanej mieszanki dodatków do żywności.

Values of selected parameters of carbohydrate-lipid metabolism in female rats depending on diet composition and applied mixture of selected food additives.

Badany parametr Examined parameter	Pasza podstawowa Basic feedstuff (a)	Pasza podstawowa + dodatki Basic feedstuff + food additives (b)	Pasza zmodyfikowana Modified feedstuff (c)	Pasza zmodyfikowana + dodatki Modified feedstuff + food additives (d)	Istotność różnic Significance of differences
Glukoza Glucose [$\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$]	9,05 ± 0,94	9,44 ± 0,93	10,7 ± 0,98	11,27 ± 0,80	a – c, d** b – c, d**
Triacyloglicerole Triacylglycerols [$\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$]	0,85 ± 0,08	0,79 ± 0,09	1,05 ± 0,17	0,97 ± 0,25	a – c** b – c, d**
Cholesterol całkowity Total cholesterol [$\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$]	2,64 ± 0,37	2,54 ± 0,36	2,77 ± 0,30	3,08 ± 0,26	d – a, b**, c*
Cholesterol HDL HDL-cholesterol [$\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$]	1,89 ± 0,20	1,59 ± 0,18	1,86 ± 0,21	1,90 ± 0,23	b – a, c, d**
Cholesterol LDL LDL-cholesterol [$\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$]	0,47 ± 0,12	0,64 ± 0,25	0,51 ± 0,19	0,79 ± 0,27	d – a, c**
α -lipoproteiny α -lipoprotein (HDL-) [%]	82,5 ± 2,92	78,2 ± 4,00	77,6 ± 4,69	79,0 ± 4,64	a – b, c**, d*
Pre- β -lipoproteiny Pre- β -lipoprotein (VLDL-) [%]	10,6 ± 3,38	11,7 ± 1,97	15,3 ± 4,88	11,1 ± 3,81	c – a, b, d**
β -lipoproteiny β -lipoprotein (LDL-) [%]	7,88 ± 2,63	10,58 ± 1,45	6,58 ± 2,55	10,06 ± 3,27	a – b**, d* c – b, d**

Objaśnienia: / Explanatory notes:

$\bar{x} \pm s$, n = 12 w grupie / $\bar{x} \pm \text{SD}$, n = 12 in a group;

*,** - różnica statystycznie istotna *p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01 / *,** - statistically significant difference *p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01.

Tabela 7

Wyniki analizy statystycznej wpływu zastosowanej mieszanki dodatków do żywności i składu diety na wybrane parametry gospodarki węglowodanowo-lipidowej badanych zwierząt.

Statistical analysis results of impact of mixture of selected food additives and diet composition on selected parameters of carbohydrate-lipid metabolism in animals studied.

Badany parametr Examined parameter	Istotność różnic i interakcje Significance of differences and interactions						
	Dodatki Food additives (A)	Dieta Diet (D)	Płeć Gender (P)	A×D	A×P	D×P	A×D×P
Glukoza Glucose [mmol·l ⁻¹]	**	**	**	-	-	**	-
Triacyloglicerole Triacylglycerols [mmol·l ⁻¹]	-	**	-	-	**	-	-
Cholesterol całkowity Total cholesterol [mmol·l ⁻¹]	**	**	-	*	-	-	-
Cholesterol HDL HDL-cholesterol [mmol·l ⁻¹]	-	**	-	**	-	-	-
Cholesterol LDL LDL-cholesterol [mmol·l ⁻¹]	**	**	-	-	-	-	-
α-lipoproteiny α-lipoprotein (HDL-) [%]	-	-	**	**	-	-	-
Pre-β-lipoproteiny Pre-β-lipoprotein (VLDL-) [%]	-	*	**	**	-	-	-
β-lipoproteiny β-lipoprotein (LDL-) [%]	**	-	**	-	-	-	-

Objaśnienia: / Explanatory notes:

n = 96; *, ** - różnica statystycznie istotna *p ≤ 0.05, ** p ≤ 0.01 / *, ** - statistically significant difference *p ≤ 0.05, ** p ≤ 0.01.

Na taki mechanizm wpływu może też wskazywać stwierdzenie najwyższego stężenia glukozy we krwi zwierząt żywionych paszą zmodyfikowaną i otrzymujących mieszankę dodatków do żywności. Obserwowany efekt byłby wypadkową składu diety zawierającej łatwo strawne i łatwo wchłaniane węglowodany, obniżonej, poprzez zamianę składników diety, ilości witamin z grupy B [11] oraz działania zastosowanych w doświadczeniu azotanu(V) i azotanu(III).

Obserwowane zjawisko nasilania, przez zastosowaną w doświadczeniu mieszankę dodatków, wzrostu stężenia glukozy w surowicy krwi jest o tyle ważne, że aktualny sposób żywienia, w którym dominują produkty przetworzone i oczyszczone, może w sposób zupełnie nieuświadomiony wpływać na stężenie glukozy we krwi, ze wszystkimi negatywnymi skutkami tego zjawiska, takimi jak insulinooporność, cukrzyca typu II, otyłość oraz zaburzenia lipidowe [8, 19, 24, 32].

W przeprowadzonym doświadczeniu zaobserwowano także wpływ zastosowanej mieszanki dodatków do żywności na stężenie triacylogliceroli we krwi badanych zwierząt. Niezależnie od rodzaju spożywanej paszy, wpływ ten zaznaczył się odmiennie w zależności od płci. U samców obserwowano wzrost, u samic zmniejszenie stężenia triacylogliceroli we krwi (tab. 5 i 6).

Biorąc pod uwagę omówiony wcześniej wzrost stężenia glukozy we krwi, jej prawie porównywalne wartości u samców i samic oraz metaboliczny związek tego ze stężeniem triacylogliceroli, można by przypuszczać, że efekt u obu płci będzie zbliżony.

Być może za stwierdzone różnice odpowiedzialne jest różne, u samców i samic, tempo usuwania triacylogliceroli z krwi. Wykazali to Sheorain i wsp. [30]. Biorąc jednak pod uwagę uzyskane wyniki, zastosowane dodatki musiały u samców jeszcze to tempo zwalniać, a u samic zwiększać. Wskazuje na to też stwierdzona wysoce istotna interakcja pomiędzy zastosowanymi dodatkami do żywności a płcią ($A \times P$) w odniesieniu do stężenia triacylogliceroli we krwi badanych zwierząt (tab. 7). W tym kontekście obserwowany efekt można też wiązać z ochronnym wpływem estrogenów na gospodarkę lipidową organizmu [29]. Wykazano już, że hormony płciowe, wpływając wielopłaszczyznowo na metabolizm lipidowy organizmu, regulują lipolizę i lipogenezę, modulują ekspresję czynników transkrypcyjnych i wpływają na proliferację adipocytów [31].

Stwierdzony wpływ zastosowanych w doświadczeniu dodatków do żywności na stężenie triacylogliceroli we krwi samców jest o tyle istotny, że aktualnie to triacyloglicerole, a nie cholesterol całkowity, obarcza się odpowiedzialnością za powstawanie miażdżycy [21].

Analizując zachodzące pod wpływem zastosowanej mieszanki dodatków do żywności zmiany stężenia cholesterolu całkowitego w surowicy krwi, trudno uznać je tylko za pochodne zmian stężenia triacylogliceroli. Szczególnie u samic żywionych paszą zmodyfikowaną, u których zmniejszeniu stężenia triacylogliceroli towarzyszył istotny wzrost stężenia cholesterolu całkowitego. Taki efekt wskazuje na dodatkowy wpływ zastosowanych w doświadczeniu dodatków do żywności na jego stężenie (tab. 6).

Być może przyczyną wzrostu stężenia cholesterolu całkowitego była stymulacja jego endogennej syntezy, wymuszana uszkodzeniami struktury błon komórkowych, zachodzącymi m.in. podczas reakcji wolnorodnikowych [25]. Obserwowane zmiany mogły wynikać również ze zmniejszonej, w diecie zmodyfikowanej, ilości naturalnych antyoksydantów, obecności fruktozy i dodatkowo azotanów(III), których wpływ na zaburzenie metabolizmu lipidów bezpośrednio poprzez ich właściwości utleniające, jak i pośrednio poprzez działanie na witaminę A, został już opisany przez Bilczuk [2, 3]. Biorąc pod uwagę istotną interakcję zachodzącą pomiędzy dodatkami, składem diety

i stężeniem cholesterolu całkowitego w surowicy krwi (tab. 7), można zastanowić się, czy efekt ten nie był również spowodowany jego zmniejszonym usuwaniem z krążenia, związanym z zaburzonym przekształcaniem w związki pochodne, np. hormony steroidowe [12].

Również stwierdzony istotny wzrost stężenia frakcji LDL-cholesterolu u samców, pod wpływem zastosowanej w doświadczeniu mieszanki dodatków do żywności, niezależnie od rodzaju paszy, poza nasiloną przez dodatki biosyntezą triacylogliceroli, mógł wynikać ze stwierdzonego we wcześniejszych badaniach, stymulującego wpływu zastosowanych dodatków do żywności na wzrost natężenia procesów wolnorodnikowych [25]. Natomiast stwierdzone równocześnie zmniejszenie stężenia frakcji HDL-cholesterolu u zwierząt karmionych paszą podstawową, nieistotny u samców i istotny u samic, wynikał z ujemnej korelacji jaka istnieje pomiędzy stężeniem we krwi frakcji HDL-cholesterolu a stężeniem cholesterolu całkowitego i frakcji LDL-cholesterolu [1].

Biorąc pod uwagę dane literaturowe nie można też wykluczyć udziału w tym efekcie wzrostu aktywności lipazy wątrobowej [14], która katalizuje reakcję hydrolizy fosfolipidów w remnantach lipoprotein i w HDL-cholesterolu oraz obniżenia syntezy apoAI odpowiedzialnej za kontrolowanie metabolizmu HDL-cholesterolu i warunkującej prawidłowe działanie zwrotnego transportu cholesterolu [9, 10, 17].

Obserwowane u samców żywionych paszą podstawową zmniejszenie stężenia frakcji HDL-cholesterolu, pod wpływem zastosowanych dodatków, przy równoczesnym wzroście stężenia cholesterolu całkowitego i jego frakcji LDL-cholesterolu, zmusza do zastanowienia się, jak silny musiał być wpływ zastosowanych dodatków, ponieważ u szczura główną rolę w transporcie cholesterolu spełnia frakcja HDL-cholesterolu, a genetyczny niedobór CEPT (cholesteryl ester transfer protein) uniemożliwia u niego wystąpienie miażdżycy [7].

Trudno natomiast wyjaśnić mechanizm zmian stężenia frakcji HDL-cholesterolu, pod wpływem zastosowanej mieszanki dodatków, u zwierząt karmionych paszą zmodyfikowaną. I u samców i u samic stężenie tej frakcji nieznacznie wzrastało. Może wynikało to ze zdecydowanie większego wzrostu, niż w grupie zwierząt żywionych paszą podstawową, stężenia frakcji LDL-cholesterolu.

Analizując procentowy udział poszczególnych frakcji lipidowych w surowicy krwi badanych zwierząt stwierdzono, że zastosowane w doświadczeniu dodatki jedynie u samic wywarły istotny wpływ w tym zakresie. Wpływ ten bardziej niekorzystnie zaznaczył się u samic na paszy zmodyfikowanej, u których obserwowano istotny wzrost procentowego udziału β -lipoprotein. Biorąc pod uwagę rodzaj tych zmian i towarzyszący im wzrost stężenia glukozy, cholesterolu całkowitego i jego frakcji LDL-cholesterolu w surowicy krwi badanych samic, należy zdawać sobie sprawę, że jest to grupa składników, których wzrost stężenia wskazuje na zagrożenie insulinopornością i miażdżycą, ze wszystkimi następstwami z tym związanymi [4, 22, 23].

Podsumowując uzyskane wyniki można stwierdzić, że zastosowane w przeprowadzonym doświadczeniu rodzaj i ilości dodatków do żywności, odpowiadających ich najczęstszemu i, w przeliczeniu na jednostkę masy ciała, średniemu spożyciu przez ludzi, wpływały na wartości wybranych parametrów gospodarki węglowodanowo-lipidowej ustroju, a analiza zmian zachodzących pod ich wpływem potwierdza opinię innych autorów o bardzo indywidualnej reakcji organizmu na obecność dodatków w diecie. Dodatkowo przeprowadzona analiza statystyczna uzyskanych wyników pozwoliła na zdefiniowanie określonych związków pomiędzy zastosowanymi dodatkami a badanymi parametrami, mogących mieć istotny wpływ na funkcjonowanie organizmu.

Wnioski

1. Dodatek do diety mieszaniny wybranych dodatków do żywności powodował istotny wzrost stężenia glukozy, cholesterolu całkowitego oraz jego frakcji LDL, co wskazuje, że zastosowane dodatki mogą sprzyjać powstawaniu lub nasilaniu zaburzeń lipidowych.
2. Odpowiedź organizmu na zastosowane dodatki była istotnie związana z płcią badanych zwierząt, przy czym zmiany zachodzące w zakresie gospodarki węglowodanowo-lipidowej obserwowano również u samic, pomimo ochronnego wpływu estrogenów.
3. Niekorzystny charakter zmian zachodzących pod wpływem zastosowanej mieszaniny dodatków obserwowano zarówno u zwierząt żywionych paszą podstawową, jak i zmodyfikowaną, z różnym jednak natężeniem, w zależności od badanego parametru, a nie grupy żywieniowej.

Praca współfinansowana przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Społecznego i Budżetu Państwa Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki 2007-2013 w ramach projektu „Inwestycja w wiedzę motorem rozwoju innowacyjności w regionie”.

Literatura

- [1] Bigazzi F., Pino B.D., Forastiere F., Pistelli R., Rossi G., Simoni M., Baldacci S., Viegi G., Bionda A., Sampietro T.: HDL and clinical and biochemical correlates in Italian non-smoker woman. Clin. Chem. Lab. Med., 2004, **42**, 1408-1416.
- [2] Bilczuk L.: Próba oceny ochronnego wpływu witaminy A na organizm szczurów narażonych na przedłużone działanie azotynu sodowego. Bromat. Chem. Toksykol., 1980, **1 (13)**, 49-54.
- [3] Bilczuk L.: Wpływ przedłużonego podawania azotynu sodowego na niektóre wskaźniki biochemiczne u zwierząt doświadczalnych. Bromat. Chem. Toksykol., 1980, **1 (13)**, 41-47.

- [4] Chachaj A., Drożdż K., Szuba A.: Procesy transportu zwrotnego cholesterolu i ich rola w regresji miażdżycy. *Post. Bioch.*, 2008, **54**, 301-307.
- [5] Connick J.H., Stone T.W.: The role of kinurenes in diabetes mellitus. *Med. Hypotheses*, 1985, **18**, 371-376.
- [6] Dąbrowska M., Rutowicz A., Brzozowska A.: Oszacowanie pobrania z diety wybranych substancji konserwujących na podstawie danych o spożyciu żywności z badań budżetów gospodarstw domowych. *Żyw. Człow. Metab.*, 2003, **1-2 (30)**, 335-340.
- [7] de Grooth G.J., Klerx A.H., Stroes E.S., Anke H.E., Klerx M., Erik S., Stroes G., Anton F.H., Stalenhoef J.J., Kastelein P., Kuivenhoven J.A.: A review of CEPT and its relation to atherosclerosis. *J. Lipid Res.*, 2004, **11 (45)**, 1967-1974.
- [8] Figurska-Ciura D., Orzeł D., Styczyńska M., Leszczyński W., Żechałko-Czajkowska A.: Wpływ skrobi odpornej RS4 na metabolizm szczurów rasy *Wistar*. Wskaźniki biochemiczne i lipidowe. *Roczn. PZH*, 2007, **1 (58)**, 1-6.
- [9] Frank P.G., Marcel Y.L.: Apolipoprotein A-I: structure, function, relationship. *J. Lipid Res.*, 2000, **6 (41)**, 853-872.
- [10] Fredenrich A., Bayer P.: Reverse cholesterol transport, high density lipoproteins and HDL cholesterol: recent data. *Diabetes Metab.*, 2003, **3 (29)**, 201-205.
- [11] Friedrich M., Dolot A.: Assessment of effects of diet composition and vitamin B supplementation on free radical-related processes in the body. Contents of non-enzymatic components of antioxidation defence and lipid peroxidation products in rat tissues. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2009, **3 (59)**, 255-262.
- [12] Friedrich M., Goluch-Koniuszy Z.: Wpływ składu diety i jej suplementacji witaminami z grupy B na stężenie lipidów i lipoprotein we krwi szczura. *Żyw. Człow. Metab.*, 2007, **3/4 (34)**, 1052-1057.
- [13] Gołębiowska-Gągała B., Szewczyk L.: Regulacja hormonalna przemiany białkowo-aminokwasowej. *Endokrynol. Ped.*, 2005, **3 (12)**, 51-58.
- [14] Jansen H., Verhoeven A.J., Sijbrands E.J.: Hepatic lipase: a pro- or anti- atherogenic protein? *J. Lipid Res.*, 2002, **43**, 1352-1362.
- [15] Kotake Y., Ueda T., Mori T., Murakami E., Hattori M.: The physiological significance of the xanthurenic acid-insulin complex. *J. Biochem.*, 1975, **3 (77)**, 685-687.
- [16] Krygier K.: Problemy bezpieczeństwa dodatków do żywności. *Przem Spoż.*, 2005, **8**, 42-46, 68.
- [17] Kuliszewicz-Janus M., Abdulrahman S.M.: Biologia lipoproteidy HDL i jej przeciwmiażdżycowe działanie. *Postepy Hig. Med. Dośw.*, 2006, **60**, 307-315.
- [18] Lhuissier M., Suschetet H., Causeret J.: Influence des nitrites et des nitrates sur certains aspects de l'état de nutrition vitaminique. *Ann. Nutr. Alim.*, 1976, **30**, 847-858.
- [19] Ludwig D.S.: Dietary glycemc index and obesity. *J. Nutr.*, 2000, **130**, 280S-283S.
- [20] Mazur A., Ostański M., Szymanik I., Kalina-Faska B., Januszek-Trzciakowska A.: Tkanka tłuszczowa nasierdziowa – nowy wskaźnik stanu metabolicznego ustroju? *Endor. Otyłość, Zaburz. Przem. Materii*, 2007, **3**, 29-32.
- [21] Mazurek T.: Aktywność prozapalna tkanki tłuszczowej – nowe spojrzenie na etiologię miażdżycy. *Kardiol. Pol.*, 2009, **67**, 1119-1124.
- [22] Naruszewicz M.: Miażdżycorodne działanie małych gęstych cząsteczek LDL, ochronna rola HDL. *Med. Dopl.*, 2000, **3/4**, 17-21.
- [23] Niebisz A.J., Jasik M., Karnafel W.: Insulinooporność a czynniki ryzyka sercowo-naczyniowego. *Kardiologia na co Dzień*, 2007, **1 (2)**, 3-6.
- [24] Paśko P., Bartoń H., Fołta M., Krośniak M., Zachwieja Z., Gorinstein S.: Właściwości żywieniowe i zdrowotne szarłatu i komosy. Część II: Wpływ dodatku nasion szarłatu i komosy do pasz szczurów na wybrane wskaźniki biochemiczne tych zwierząt karmionych dietą wysokofruktozową. *Żyw. Człow. Metab.*, 2007, **3/4 (34)**, 1261-1268.

- [25] Radziszewska M.: Assessment of the effects of designated food additives on contents of non-specific components of antioxidation defense in blood of male's rats. Mat. VI Krajowej Konferencji Adeptów Fizjologii, Poznań 8-9.05.2009, 13.
- [26] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 6 marca 2006 r. w sprawie metodyki postępowania analitycznego w zakresie określania zawartości składników pokarmowych i dodatków paszowych w materiałach paszowych, premiksach, mieszankach paszowych i paszach leczniczych. Dz. U. 2006 r. Nr 54, poz. 389.
- [27] Rutkowski A., Gwiazda S., Dąbrowski K.: Substancje dodatkowe i składniki funkcjonalne żywności. Wyd. Agro & Food Technology, Czeladź 1997.
- [28] Saint-Blanquat G.: Aspects toxicologiques et nutritionnels des nitrates et des nitrites. Ann. Nutr. Alim., 1980, **34**, 827-864.
- [29] Schneider J.G., Tompkins C., Blumenthal R.S., Mora S.: The metabolic syndrome in women. Cardiol. Rev., 2006, **14**, 286-291.
- [30] Sheorain V.S., Mattock M.B., Subrahmanyam D.: Mechanism of carbohydrate-induced hypertriglyceridemia: plasma lipid metabolism in mice. Metabolism, 1980, **10** (29), 924-929.
- [31] Siemińska L.: Tkanka tłuszczowa. Patofizjologia, rozmieszczenie, różnice płciowe oraz znaczenie w procesach zapalnych i nowotworowych. Endokr. Pol., 2007, **4** (58), 330-342.
- [32] Szurkowska M., Szafraniec K., Gilis-Januszewska A., Szybiński Z., Huszno B.: Wskaźniki insulinooporności w badaniu populacyjnym i ich wartość predykcyjna w określeniu zespołu metabolicznego. Prz. Epid., 2005, **59**, 743-751.
- [33] Traczyk I., Gielecińska I., Szponar L., Stachowska E., Rams M., Walkiewicz A.: Ocena wielkości pobrania kwasu benzoowego i butylohydroksyanizolu wśród dzieci i młodzieży. Żyw. Człow. Metab., 2003, **1/2** (30), 556-560.
- [34] Vijayakumar A., Novosyadlyy R., Wu Y.J., Yakar S., LeRoith D.: Biological effects of growth hormone on carbohydrate and lipid metabolism. Growth Hormone & IGF Research, 2010, **1** (20), 1-7.
- [35] Wawrzyniak A., Hamułka J., Pająk M.: Ocena pobrania azotanów (V) i azotanów (III) z żywnością w gospodarstwach domowych w Polsce w latach 1996-2005. Roczn. PZH, 2008, **1** (59), 9-18.

ASSESSING THE EFFECT OF SELECTED MIXTURE OF FOOD ADDITIVES ON CARBOHYDRATE-LIPID METABOLISM

S u m m a r y

The objective of this study was to verify, using an animal model, whether or not, and in what way, a mixture of some selected additional substances added to food had an effect on the carbohydrate-lipid metabolism of organism since the addition of those additives was required to enrich the changed diet composition containing processed and purified ingredients.

The experiment was carried out on 48 male and 48 female Wistar laboratory rats (separately for each gender); the animals were arranged into four groups. The animals from groups I and III received tap water to drink. The animals from groups II and IV received a 5 ml portion of the solution of selected food additives: sodium nitrite – E 250, potassium nitrate – E 252, benzoic acid – E 210, sorbic acid – E 200, and monosodium glutamate – E 621. The amount of food additives administered to the animals was computed on the basis of the average human consumption rate of those additives per 1 kg of body mass. After the animals had drunk the solution, they drank supplemental tap water.

Based on the experimental results obtained, it was found that the addition of those selected food additives to the animal diet caused the concentration rates of glucose, total cholesterol and its LDL fraction to

significantly increase; this increase indicated that the food additives could foster the development or the potentiation of lipid disorders. The organism response to the additives applied was significantly correlated with the gender of the animals examined; however, the changes occurring in the carbohydrate-lipid metabolism were also found in female rats despite the protective impact of estrogens herein. An undesirable character of the changes occurring owing to the effect of the applied mixture of food additives was found both in animals fed the basic and the modified feedstuffs. Yet, the intensity of the changes varied depending on the parameter studied.

Key words: food additives, carbohydrate-lipid metabolism, Wistar laboratory rats ☒