

*Wanda Dzedzianowicz*

BADANIA NAD TOKSYCZNOŚCIĄ NASION BUKA  
(*FAGUS SILVATICA* L.)\*

Zakład Badania Środków Spożywczych Akademii Medycznej w Warszawie  
Kierownik zakładu: prof. dr St. Krauze

WSTĘP

Przedstawiona praca dotyczy dziedziny poszukiwania namiastek w żywności i oceny ich wartości. Jej celem jest rozwiązanie zagadnienia, problematycznej wg danych z piśmiennictwa, toksyczności nasion buka (*Fagus silvatica* L., *Fagaceae*), pospolicie zwanych buczyną.

Problem wykorzystania nasion buka jako surowca jest w Polsce ważny ze względów gospodarczych, ponieważ nasiona te posiadają dużą zawartość tłuszczu i białek, a zbiory owoców buka są rokrocznie duże. Przemysł cukierniczy miał zamiar zastosować ten wysokokaloryczny surowiec jako namiastkę nasion sezamowych np. do wyrobu produktów typu chałwy.

W związku z tym należało odpowiedzieć na pytanie, czy z punktu widzenia zdrowia nasiona buka mogą być dopuszczone do żywności.

Problem toksyczności owoców bukowych nie jest nowy. Dane z piśmiennictwa dotyczące toksyczności nasion i makuchów bukowych, a także zastosowania ich jako artykułu spożywczego lub paszy, wynoszą do chwili obecnej 29 pozycji bibliograficznych<sup>1-29</sup>. Pierwsza wzmianka o toksyczności tych nasion pochodzi już z roku 1795<sup>3</sup>. Niestety, doniesienia z piśmiennictwa są całkowicie sprzeczne między sobą. Wg jednej grupy autorów nasiona buka są zupełnie nieszkodliwe dla ludzi i mogą stanowić cenny wysokokaloryczny produkt spożywczy<sup>4</sup>, a także paszę dla zwierząt<sup>1, 4, 9, 12, 13, 15-17</sup>. Natomiast inni autorzy określają nasiona buka jako truciznę dla ludzi<sup>3, 5, 6, 7, 9, 13</sup> i zwierząt<sup>5, 7-11</sup>, wyrażając przy tym zupełnie różne opinie dotyczące składnika toksycznego.

Jako przyczyny toksyczności nasion buka podawane są alkaloidy. Wymieniany jest zwłaszcza alkaloid fagina<sup>18-20</sup>, który jeszcze w r. 1956 został mylnie opisany jako saponina<sup>19</sup>. Jako składniki toksyczne wymieniane są

\* Wyciąg z pracy kandydackiej.

również kwas szczawiowy<sup>7, 22, 23</sup>, cholina<sup>24, 25, 28</sup> i powstająca z niej drogą przemian bakteryjnych zasada neuryna<sup>26, 27</sup>, wreszcie nadmiar garbników<sup>12</sup>.

Niektórzy autorzy uważają wprawdzie nasiona buka za toksyczne, lecz nie wyrażają zdecydowanych opinii dotyczących składnika toksycznego tych nasion<sup>5, 8, 9, 14</sup>. Nie godzą się oni również z poglądem, że przyczyną toksyczności nasion buka mogą być: kwas szczawiowy<sup>8, 9, 24, 28</sup>, alkaloidy<sup>9, 13</sup>, saponiny<sup>9</sup> lub cholina<sup>9, 29</sup>.

Mimo upływu przeszło 160 lat od chwili ogłoszenia pierwszej wzmianki o toksyczności nasion buka<sup>3</sup> i licznych badań prowadzonych w tej dziedzinie, zagadnienie to nie zostało dotąd rozwiązane, ponieważ żadne z przeprowadzonych badań nie doprowadziły do zadowalających wyników. Podejmując tę pracę i opierając się na własnych doświadczeniach, chciałam wyrobić sobie jasny sąd o przyczynie toksyczności nasion buka. Mając za podstawę dane z piśmiennictwa zajęłam się sprawdzeniem toksyczności nasion buka oraz ustaleniem i oznaczeniem składnika toksycznego.

Badania chemiczne miały na celu wykrycie i oznaczenie podawanych w piśmiennictwie składników toksycznych, a mianowicie: alkaloidów, saponin, kwasu szczawiowego wolnego i związanego w postaci szczawianów oraz choliny i garbników.

Badania biologiczne prowadzone na szczurach miały na celu sprawdzenie toksyczności nasion buka przy podawaniu ich w diecie.

W badaniach chemicznych nie znalazłam w nasionach buka ani alkaloidów, ani saponin, ani garbników. Natomiast znalazłam i oznaczyłam cholinę oraz kwas szczawiowy wolny i związany w postaci szczawianów. W doświadczeniach biologicznych stwierdziłam toksyczność nasion buka na szczury przy podawaniu tych nasion w normalnej diecie.

## CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA

Z owoców buka zdejmowałam twardą pokrywą owocową, która stanowi około 35% wagi owoców. Otrzymane piramidalne nasiona wraz z okrywą nasienną, po dokładnym roztarciu, stanowiły materiał doświadczalny.

Oznaczyłam procentowy skład podstawowych składników w nasionach buka: 6,27% wody; 45,48% tłuszczu; 25,79% białka (Nx 6,25); 18,98% węglowodanów; 3,48% popiołu całkowitego. Wyniki te są zgodne z podawanymi przez piśmiennictwo<sup>11, 15—17, 24, 30—32</sup>.

### 1. Alkaloidy

Do badań nad zawartością alkaloidów w nasionach buka wykorzystałam systematyczną metodę rozdziału i wykrywania alkaloidów wg grup

— metodą Stas-Otto<sup>33</sup>. Ze względu na możliwość występowania alkaloidów w bardzo małych ilościach, ekstrakcje prowadziłam z czterech oddzielnych, dokładnie roztartych, porcji nasion. Waga każdej porcji wynosiła 1000 g. Nasiona z dodatkiem kwasu winowego ogrzewałam w łaźni wodnej z 90° alkoholem etylowym w temp. 40° w ciągu 24 godz. pod chłodnicą zwrotną. Odsączyłam alkohol, nasiona zalałam nową porcją alkoholu i powtórnie ekstrahowałam w ciągu 24 godz. w temp. 40°. Czynność tę powtórzyłam trzykrotnie. Odparowana na szkiełku kropla alkoholu nie zostawiała już widocznego śladu.

Połączone przesącze odparowałam w temp. 40° i płyn przesączyłam. Substancje białkowe i dekstryny strącałam przez dodawanie alkoholu kroplami aż do chwili, gdy od następnych kropeł osad już nie wytrącał się. Po 12 godz. osad odsączyłam, płyn odparowałam do gęstości syropu i ponownie strącałam alkoholem białka i dekstryny. Do przesącza dodałam wody i odparowałam resztę alkoholu. Otrzymałam około 50 ml roztworu, który przesączyłam, a następnie przez ekstrakcję eterem i chloroformem rozdzieliłam na 5 grup:

- do grupy I — należą alkaloidy przechodzące do eteru z roztworów kwaśnych;
- do grupy II — przechodzące do eteru z roztworów alkalicznych;
- do grupy III — przechodzące do eteru z roztworów amoniakalnych;
- do grupy IV — przechodzące do chloroformu z roztworów amoniakalnych;
- do grupy V — substancje, które pozostają w roztworze wodnym i nie dadzą się wyciągnąć eterem i chloroformem.

Po odparowaniu rozpuszczalników otrzymałam na szkiełkach zegarkowych nikłe osady substancji rozdzielonych na w. w. grupy. Osady te poddałam badaniom organoleptycznym, mikroskopowym i chemicznym.

a) Żaden z osadów nie wykazywał smaku gorzkiego.

b) W badaniu mikroskopowym żaden z osadów nie był krystaliczny.

c) W badaniach chemicznych wykonanych systematycznie wg metody Stas-Otto<sup>33</sup> nie uzyskałam w żadnym przypadku dodatniego wyniku reakcji na alkaloidy. Jest to zgodne z opiniami Eekelena i Laana<sup>9</sup> oraz Rosenthala i Budzyńskiej<sup>13</sup>, którzy uważają, że nasiona buka nie zawierają alkaloidów. Nie istnieje więc opisywany w piśmiennictwie alkaloid nasion buka — fagina<sup>18–20</sup>.

## 2. Saponiny

Wg definicji Rosenthalera<sup>34</sup> saponiny są to glikozydy (lub odpowiednie połączenia kwasu uronowego), których roztwory wodne silnie pienią się i których aglikony należą do grupy politerpenów albo cholanu. Sapo-

niny występują w niedużych ilościach w niektórych artykułach żywności np. w soi<sup>55</sup>, szpinaku<sup>36, 37</sup>, burakach cukrowych<sup>1</sup>, w winie<sup>38</sup>. Saponiny dodawane np. do chałwy polepszają jej smak<sup>39</sup>. Zaproponowano nawet dodatek max. 200 mg saponin na 100 g gotowego produktu. Wg Koflera<sup>39</sup> saponiny podawane z pokarmem świniom zwiększają przyswajalność substancji odżywczych, co powoduje szybsze przybieranie na wadze. Saponiny podawane doustnie w niewielkich dawkach nie wywierają działania toksycznego<sup>40</sup>. Dopiero przy podawaniu doustnym w bardzo dużych dawkach działają u ludzi drażniąco na błony śluzowe. Saponiny podane w iniekcji powodują śmierć, ponieważ są silnymi truciznami protoplazmy<sup>40</sup>. Jednak dodatek saponin do żywności np. do chałwy w Polsce nie jest dozwolony. Dlatego nasiona buka jako ewentualna namiastka żywności nie mogłyby ich zawierać.

W badaniach nad wykryciem saponin w nasionach buka wykorzystałam ich właściwości hemolityczne<sup>1, 41–44</sup>, działanie toksyczne na kijanki i ryby<sup>1</sup> oraz charakterystyczne reakcje barwne saponin<sup>1, 38, 42</sup>. Wyniki porównywałam każdorazowo z osiągniętymi na wzorcowych roztworach saponiny Mercka.

Badanie saponin metodą hemolizy krwinek czerwonych. Hemolityczne działanie saponin na krwinki polega na wiązaniu cholesterolu zawartego w krwinkach przez saponiny. Dzięki temu hemoglobina przechodzi do roztworu otaczającego krwinkę. Roztwór ten zabarwia się na czerwono, a krwinki rozpuszczają się.

Również woda hemolizuje krwinki, ponieważ zmienia ich ciśnienie osmotyczne. Dlatego doświadczenia przeprowadza się w roztworze soli fizjologicznej z dodatkiem buforu fosforanowego dla utrzymania stałego pH roztworu (miesza się 80,6 ml m/15  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  z 19,4 ml m/15  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  i dodaje 0,80%  $\text{NaCl}$ )<sup>41</sup>.

Z licznych metod ekstrakcji saponin wybrałam metodę Fischera<sup>41</sup>. Polega ona na półgodzinnym ogrzewaniu nasion ze zbuforowanym roztworem soli fizjologicznej we wrzącej łaźni wodnej i sączeniu.

Otrzymane wyciągi badałam bezpośrednio po ekstrakcji oraz po ich oczyszczeniu i zagęszczeniu. Oczyszczenie i zagęszczenie, przeprowadzone wg metody Müllera<sup>43</sup>, polegało na przepuszczeniu przez umieszczony w cylindrze wyciąg silnego strumienia obojętnego gazu ( $\text{N}_2$  lub  $\text{CO}_2$ ). Wyciekającą przez brzegi cylindra pianę zbierałam przez lejek do naczynia podstawionego pod nim. Ekstrakty z nasion pieniły się bardzo słabo w porównaniu z roztworami saponiny Mercka i wymagały przepuszczania bardzo silnego strumienia gazu.

Serię roztworów bezpośrednio po ekstrakcji oraz po zagęszczeniu w ilościach 0,05—1,0 ml uzupełniałam zbuforowanym roztworem soli fizjolo-

gicznej do 1 ml i dodawałam po 1 ml zawiesiny krwinek w soli fizjologicznej.

Zawiesinę krwinek przygotowywałam co drugi dzień ze świeżej krwi końskiej przez wytrząśnięcie jej z kulkami szklanymi (pozbawienie włókniaka) i rozcieńczenie 39 objętościami zbuforowanej soli fizjologicznej<sup>41</sup>. W żadnym przypadku, nawet przy roztworach zagęszczonych, nie stwierdziłam hemolizy krwinek czerwonych w ciągu 24 godz. Obserwowany czas hemolizy nie powinien być dłuższy od 6 godz.

Hemolizy poszczególnych krwinek nie obserwowałam również wtedy, gdy zagęszczony roztwór badany umieszczałam pod mikroskopem i z boku dodawałam na szkiełko zawiesiny krwinek, tak, że wpływały one do roztworu badanego. Wg wielu autorów hemolizę obserwuje się pod mikroskopem już przy śladowych stężeniach saponin. Jest to jedna z najczulszych jakościowych prób na saponiny<sup>1, 42, 44</sup>.

Również posługując się czulszą metodą Müllera<sup>43</sup> (większe rozcieńczenie krwinek 1 : 99) nie otrzymałam w żadnym przypadku hemolizy.

Jakościowe odczynniki na saponiny<sup>1, 38, 42</sup> nie wywoływały reakcji barwnych ani bezpośrednio w wyciągach wodnych, ani w wyciągach zagęszczonych.

W tych samych warunkach saponina Mercka w stężeniu 0,01% daje dodatnie reakcje z odczynnikiem jakościowym, a 0,3 ml tego roztworu wywołuje hemolizę krwinek czerwonych metodą Fischera<sup>41</sup> w ciągu 15 min. Indeks hemolityczny tej saponiny, czyli rozcieńczenie, które w ciągu 15 min powoduje hemolizę, wynosi 10400.

Badałam również wpływ odczynników odbiałczających na saponiny<sup>1</sup>. Stwierdziłam, że odczynniki te wprawdzie częściowo wytrącają saponiny, lecz roztwory odbiałczone dalej silnie pienią się i wykazują wysokie indeksy hemolityczne. Natomiast ekstrakty z nasion po odbiałczeniu przedstawiały zupełnie pienieć się podczas przepuszczania przez nie obojętnego gazu i nie udało się ich zageścić metodą zbierania piany. Fakt ten wskazywałby na to, że słabe pienienie się wyciągów wodnych z nasion spowodowane jest obecnością białek, a nie saponin.

B a d a n i e s a p o n i n n a k i j a n k a c h i r y b a c h. W piśmiennictwie spotkałam wzmianki, że kijanki i małe ryby giną po umieszczeniu ich w roztworach saponin<sup>1</sup>. Właściwość tę chciałam wykorzystać jako próbę jakościową obecności saponin w wyciągach wodnych z nasion. Poza tym sądziłam, że obserwując czas śmierci kijanek i ryb jako funkcję stężenia czystej saponiny (np. Mercka), można by wysunąć pewne wnioski, dotyczące ewentualnego stężenia saponin w badanych wyciągach z nasion. Do badań wybrałam kijanki żab *Rana esculenta* oraz ryby z gatunku *Lebistes reciculatus* (Peters) przystosowane do życia w małych akwariach.

Wbrew danych z piśmiennictwa stwierdziłam, że kijanki są mało wrażliwe na saponiny. 5 kijanek umieszczonych w 0,2% roztworze saponiny Mercka zginęło po upływie 3,5 godz., a w roztworze 0,01% po 15 godzinach. W stężeniach poniżej 0,005% saponiny kijanki żyły w ciągu 7 dni.

Ryby okazały się wrażliwsze na saponiny. W 0,02% roztworze saponiny Mercka ryby giną w ciągu 30 min, wśród objawów gwałtownego niepokoju, trzepotania płetw, przekrwienia oskrzeli, pływania ruchem śrubowym i na boku.

W stężeniu 0,010%	saponiny ryby giną w ciągu	1 godz.
W stężeniu 0,005%	saponiny ryby giną w ciągu	2 godz.
W stężeniu 0,004%	saponiny ryby giną w ciągu	3—5 godz.
W stężeniu 0,003%	saponiny ryby giną w ciągu	10 godz.
W stężeniu 0,002%	saponiny ryby giną w ciągu	24—48 godz.

Do każdego doświadczenia używałam 5 ryb.

Stwierdziłam, że ryby żyją i zachowują się normalnie w roztworach o pH bliskim 7. Przy zbyt małych akwariach giną w ciągu kilku dni wskutek zakwaszenia wody  $\text{CO}_2$  wydzielonym w procesie oddychania. pH tych roztworów spada do około 5. Dlatego też, gdy roztwory badanej saponiny były zagęszczone za pomocą  $\text{CO}_2$ , przepuszczałam przez nie dodatkowo tlen z butli i dopiero wtedy umieszczałam w nich ryby.

Dla ryb okazał się toksyczny również i szczawian amonu. W dostępnym mi piśmiennictwie nie znalazłam żadnych danych na ten temat. Ponieważ pH 0,1% roztworów kwasu szczawowego jest zbyt niskie dla ryb (pH 2,26), do doświadczenia użyłam 0,1% roztwór szczawianu sodu o pH 6,1. 5 ryb umieszczonych w tym roztworze zginęło w ciągu 30 godz, chociaż pH roztworu pozostało bez zmiany.

Ryby umieszczone w ekstraktach wodnych z nasion buka zachowywały się normalnie w ciągu kilku godzin, a nawet dni i ginęły wtedy, gdy pH roztworów obniżyło się do około 5. Również w wyciągach zagęszczonych, przez które przepuszczałam tlen i w wyciągach odbiałczonych solami metali ciężkich nie zaobserwowałam ginięcia ryb w ciągu kilku dni. Stężenie szczawianów w wyciągach wodnych z nasion buka jest zbyt małe, aby działał on toksycznie na ryby.

Natomiast w zagęszczonych roztworach czystych saponin (powstałych z piany) w tych samych warunkach ryby ginęły w ciągu 5—15 min. W roztworach saponin pozostałych w cylindrze po wypłynięciu piany, ryby ginęły w ciągu 45—60 min.

Wbrew poglądom Hotovy'ego<sup>21</sup> wynika z powyższych doświadczeń, że nasiona buka nie zawierają saponin i dlatego saponiny nie mogą być przyczyną toksyczności tych nasion.

### 3. Garbniki

Z chemicznego punktu widzenia garbniki są to pochodne pirogalolu i pirokatechiny związane w postaci estrów lub glikozydów z fenolokwasami, np. galusowym, elagowym<sup>45</sup>.

Z punktu widzenia analizy chemicznej za garbnik roślinny uważana jest substancja pochłaniania przez skórę, rozpuszczalna w wodzie, strącana roztworem żelatyny i dająca z  $\text{FeCl}_3$  zabarwienia od zielonego do niebieskiego<sup>45</sup>.

Poza metodami chemicznymi, budzącymi zresztą wiele zastrzeżeń, analiza garbników oparta jest na pochłanianiu ich przez skórę. Ilość pochłanianego garbnika zależy od wielu czynników, jak stężenie roztworu, wartość pH, rodzaj i ilość niegarbników, właściwości proszku skórzanego użytego do oznaczania itd. Stworzyło to konieczność ścisłego przestrzegania postępowania analitycznego i używania ściśle znormalizowanej aparatury.

Garbniki w nasionach buka próbowałam oznaczyć międzynarodową metodą filtracyjną<sup>46, 47</sup> przez ich adsorpcję na proszku skórzanym\*.

Zmielone i odtłuszczone nasiona ekstrahowałam wodą w aparacie Kocha<sup>47</sup> o znormalizowanych wymiarach. Po 3 dniach zlałam płyn z nad osadu, część płynu zakwasałam  $\text{HCl}$  do pH 4 (najlepsza adsorpcja garbnika przez skórę) i przepuszczałam przez proszek skórzany, umieszczony w dzwonie szklanym. Rurką kapilarną dwa razy zgiętą odprowadzałam płyn odgarbowany. Wyciąg wodny i płyn odgarbowany w ilościach po 50 ml odparowałam w łaźni wodnej, suszyłam w temp.  $100^\circ$  do stałej wagi i obliczałam procent garbników z wzoru:

$$\text{procent garbników} = A\% - B\% ;$$

gdzie  $A$  — pozostałość całkowita wyrażona w procentach,  $B$  — niegarbniki wyrażone w procentach.

W skład niegarbników wchodzi związek, które przechodzą do wyciągów wodnych razem z garbnikiem. Są to węglowodany (jedno-, dwu- i wielocukry), substancje azotowe, fenolowe, ligninowe oraz sole kwasów mineralnych i organicznych<sup>45</sup>.

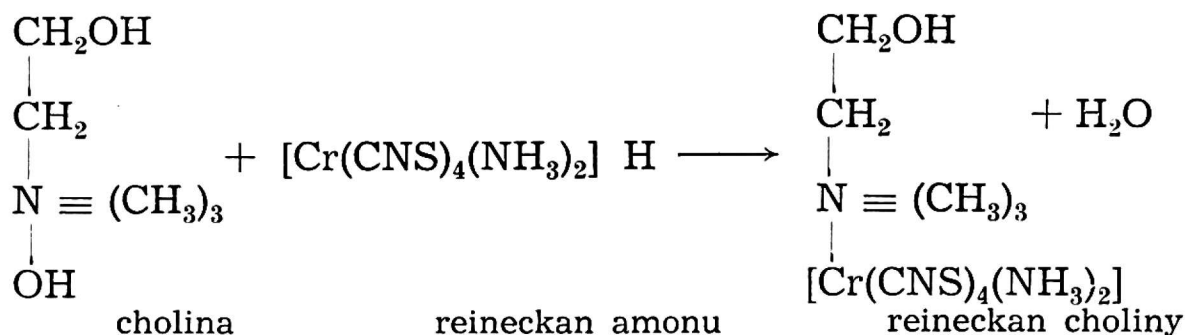
Stwierdziłam, że różnice wagowe suchych pozostałości wyciągów wodnych przed i po filtracji ( $A\%$  i  $B\%$ ) mieszczą się w granicach błędów doświadczalnych.

Wyniki negatywne na obecność garbników otrzymałam również w reakcjach jakościowych (z żelatyną i  $\text{FeCl}_3$ ) przeprowadzonych bezpośrednio z wyciągami wodnymi. Nasiona buka nie zawierają więc garbników, a Engels<sup>12</sup> nie miał racji uważając, że garbniki są przyczyną toksyczności tych nasion.

\* Oznaczenie garbników wykonałam w Instytucie Przemysłu Skórzanego w Warszawie.

## 4. Cholina

Z metod ilościowego oznaczania choliny wybrałam metodę kolorymetryczną<sup>48-49</sup>. Reineckan amonu strąca cholinę ilościowo, dając ciężki czerwono-srebrzysty osad reineckanu choliny, rozpuszczalny w acetonie, nierozpuszczalny w wyższych alkoholach, strącający się wodą z roztworów acetonowych.



Wzór sumaryczny reineckanu choliny jest następujący:  $\text{C}_9\text{H}_{20}\text{ON}_7\text{S}_4\text{Cr}$ , ciężar cząsteczkowy wynosi 422,58. Mierzyłam fotometrycznie przepuszczalność światła czerwonych acetonowych roztworów reineckanu choliny jako funkcję stężenia choliny.

Wykreślenie krzywej pracy. Do 5% wodnego roztworu chlorku choliny dodałam 2% roztwór reineckanu amonu w metanolu w 10% nadmiarze stechiometrycznym. Strącony osad reineckanu choliny odsączyłam, przemyłam alkoholem izobutylovym, rozpuściłam w acetonie i strąciłam ponownie wodą, w celu otrzymania osadu o większej czystości. Osad przemyty alkoholem izobutylovym suszyłam nad  $\text{H}_2\text{SO}_4$  do stałej wagi.

Rozpuszczając otrzymany reineckan choliny w acetonie sporządziłam roztwór podstawowy, zawierający 50 mg% choliny. Przez dalsze rozcieńczenie acetonem roztworu podstawowego otrzymałam serię roztworów wzorcowych, zawierających 1—50 mg% choliny. Do pomiarów przepuszczalności światła użyłam wizualnego kolorymetru Pulfricha model I b/15 z filtrem S-53 oraz fotoelektrycznego kolorymetru Schiltknechta z filtrem zielonym. W pierwszym przypadku używałam naczynek o czynnych grubościach warstw  $l = 0,5-5$  cm i przeliczałam ekstynkcję (gęstość optyczną) na grubość warstwy  $l = 1$  cm. W drugim przypadku używałam zawsze naczynka o grubości warstwy  $l = 2$  cm. Mierzyłam ekstynkcję (na kolorymetrze Pulfricha) lub procent przepuszczalności, który przeliczałam na ekstynkcję (na kolorymetrze Schiltknechta) jako funkcję stężeń reineckanu choliny w roztworach wzorcowych (tabele 1 i 2).

Na podstawie danych z pomiarów wykreśliłam krzywe wzorcowe dla obydwu kolorymetrów (rys. 1 i 2). Barwa acetonowych roztworów reineckanu choliny jest trwała. Procent przepuszczalności wzorcowych roztworów nie ulega zmianie w ciągu miesiąca.



Tabela 1

## Kolorymetryczne oznaczanie choliny

Nr	C	E	Nr	C	E
1	50	0,56	6	8	0,095
2	40	0,425	7	6	0,064
3	30	0,33	8	4	0,045
4	20	0,22	9	2	0,026
5	10	0,115	10	1	0,018

Kolorymetr Pulfricha typ I b/15. Filtr zielony S-53

Nr — numer próby

C — stężenie: mg% choliny

E — ekstynkcja (średnia z 5—6 pomiarów)

Tabela 2

## Kolorymetryczne oznaczenie choliny

Nr	C	T %	E	Nr	C	T %	E
1	50	35	0,456	6	8	84	0,075
2	40	42	0,377	7	6	89	0,051
3	30	52,5	0,280	8	4	92	0,030
4	20	65	0,187	9	2	98	0,009
5	10	80	0,097				

Kolorymetr Schiltknechta. Filtr zielony

Nr — numer próby

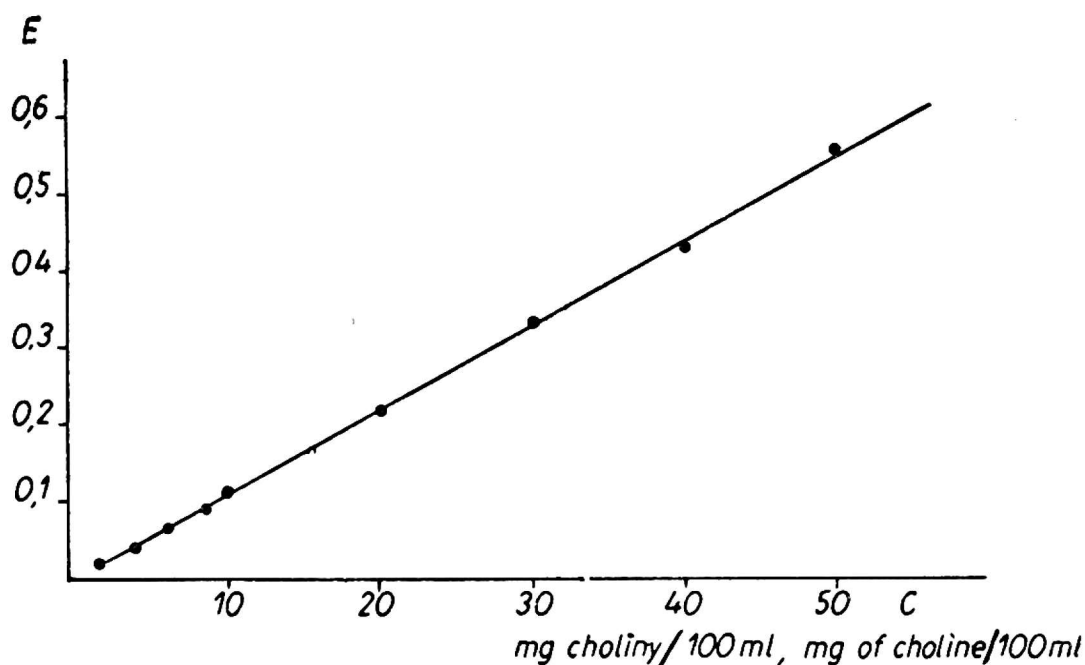
C — stężenie

T% — procent przepuszczalności (średnia z 5—6 pomiarów)

E — ekstynkcja

Oznaczenie choliny w nasionach buka. Oznaczenie choliny wolnej oraz pochodzenia fosfatydowego w nasionach buka przeprowadziłam w następujący sposób:

Nasiona w ilości 10 g roztarłam dokładnie z 8 g bezwodnego  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , zmieszałam z 10 g sproszkowanego pumeksu i ekstrahowałam bezwodnym alkoholem metylowym w aparacie Soxhleta w ciągu 24 godz. Metanol oddestylowałam w łaźni wodnej, a pozostałość, zawierającą cholinę i fosfaty cholinowe zmydlałam w ciągu 1 godziny we wrzącej łaźni wodnej nasyconym na zimno roztworem  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  w ilości 30 ml. Całość, po zakwaszeniu kwasem octowym wobec fenolotaleiny do pH 5—6, sączyłam, przemywałam wodą i w przesączu strącałam reineckan choliny przez dodanie 5 ml 2% roztworu reineckanu amonu w alkoholu metylowym. Reineckan choliny odsączyłam, przemyłam alkoholem izobutylovym, rozpuściłam w 25 ml acetonu i mierzyłam ekstynkcję na kolorymetrze Pulfricha model I b/15 przy filtrze S-53 oraz procent przepuszczalności światła na kolorymetrze Schiltknechta przy filtrze zielonym. Procent prze-



Rysunek 1. Krzywa wzorcowa reineckanu choliny

Figure 1. Standard curve of choline reineckate

Kolorymetr Pulfricha typ Ib/15

Pulfrich Colorimeter type Ib/15

Filtr zielony S-53

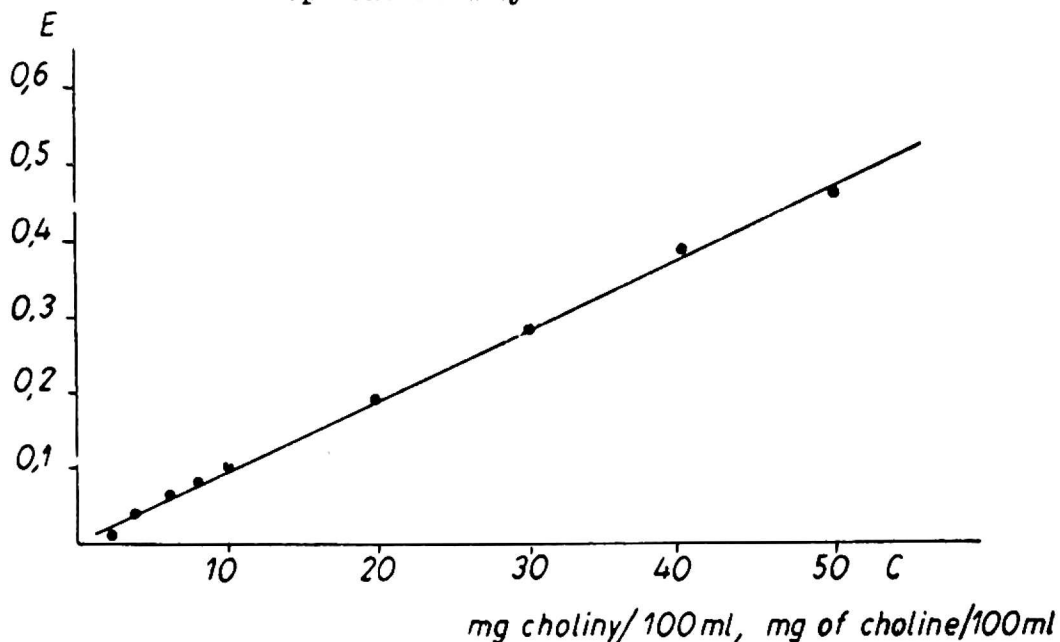
Green filter S-53

c — stężenie: 0—50 mg choliny/100 ml

concentration: mg of choline/100 ml

E — ekstynkcja

optical density



Rysunek 2. Krzywa wzorcowa reineckanu choliny

Figure 2. Standard curve of choline reinectate

Kolorymetr Schilknechta

Schilknecht Colorimeter

Filtr zielony

Green filter

c — stężenie: 0—50 mg choliny/100 ml

concentration: 0—50 mg of choline/100 ml

E — ekstynkcja

optical density

puszczalności przeliczałam na ekstynkcję. Na podstawie ekstynkcji rozwiązań badanych z krzywej wzorcowej (rys. 1 i 2) wyznaczałam stężenie choliny w próbkach, które przeliczałam na procentową zawartość choliny w nasionach buka. Otrzymałam wyniki zgodne przy użyciu obydwu kolorymetrów.

W nasionach buka znalazłam 0,10% choliny wolnej oraz pochodzenia fosfatydowego.

W celu identyfikacji wyekstrahowanej z nasion choliny poddałam próbom jakościowym przesącz, który po zmydleniu fosfatydów zawierał cholinę wolną. Z kwasami: fosforowolframowym, fosforomolibdenowym, chloroplatynowym oraz  $\text{HgCl}_2$  i J w KJ otrzymałam osady podawane w piśmiennictwie jako charakterystyczne dla choliny<sup>1</sup>. Po ekstrakcji badanego przesączu benzenem i dodaniu do ekstraktu kwasu chloroplatynowego w mieszaninie równych objętości alkoholu i eteru, otrzymałam osad kryształiczny. Osad ten był widoczny pod mikroskopem jako rombowa płytki. Jest to reakcja na wykrywanie wolnej choliny<sup>1</sup>.

W pozostałym przesączu strąciłam reineckan choliny, który przekryształizowałam pięciokrotnie i wysuszyłam nad  $\text{H}_2\text{SO}_4$  do stałej wagi. W produkcie tym oznaczyłam węgiel i wodór na drodze analizy elementarnej.

	znaleziono	teoretycznie
procent wodoru	4,79	4,77
procent węgla	25,80	25,58

Znalezione procentowe zawartości węgla i wodoru w wytrąconym reineckanie choliny odpowiadają w granicach błędu doświadczalnego wartościom teoretycznym.

Wnioski w sprawie choliny. Niesłuszny jest pogląd Gadamera<sup>29</sup>, że nasiona buka nie zawierają choliny, jak również poglądy Boehma<sup>25</sup>, Budagyana i Arnitinnowa<sup>28</sup>, Pritzker'a i Jungkunza<sup>24</sup>, Kobera<sup>26</sup> i Potta<sup>27</sup>, którzy sądzą, że cholina jest trucizną nasion buka.

W nadmiernych dawkach cholina może wywoływać pewne działanie toksyczne, objawiające się u kurcząt spadkiem wzrostu. U ludzi można oczekiwać objawów zatrucia przy podawaniu około 15 g choliny dziennie. Zawartość choliny w nasionach buka wynosząca 0,10% nie może działać toksycznie na ustrój, tym bardziej, że cholina nie jest uważana za silną truciznę<sup>1</sup>. Cholina występuje w ustroju i odgrywa dużą rolę w procesach enzymatycznych. Zachwianie równowagi enzymatycznej w ustroju przez tak małe ilości choliny nie jest możliwe.

Według badań Bednarczyka<sup>48</sup> cholina znajduje się w większości artykułów spożywczych, np. ziemniaki zawierają 20 mg% choliny, mięso w zależności od gatunku 33–540 mg%, mąka w zależności od gatunku 28–56 mg%. Przeciętą ilość choliny podawana dziennie w pokarmach

wynosi 700 mg. Natomiast według Szczygła<sup>50</sup> zapotrzebowanie dzienne na cholinę wynosi u ludzi 1,5—3,0 g.

Wobec powyższego cholina, której zawartość w nasionach buka wynosi tylko 0,10%, nie może być przyczyną toksyczności tych nasion. Pogląd ten jest zgodny z opinią Eekelena i Laana<sup>9</sup> oraz Sabalitschki<sup>22, 23</sup>.

## 5. Kwas szczawiowy i jego sole

Największym rozdziałem pracy są badania nad zawartością kwasu szczawiowego i szczawianów w nasionach buka. Kwas szczawiowy był uznany przez Sabalitschkę<sup>7, 22, 23</sup> za przyczynę toksyczności, ale tylko spleśniałych nasion buka. Według tego autora nasiona niespleśniałe są nietoksyczne. Wielu innych autorów<sup>8, 9, 24, 28</sup> nie podzielało jednak poglądu, że kwas szczawiowy może być przyczyną toksyczności tych nasion.

Oznaczenie kwasu szczawiowego i szczawianów sodu, potasu i wapnia w nasionach buka przeprowadziłam, biorąc pod uwagę te wszystkie czynniki, które mogłyby wpłynąć na wynik oznaczeń. Czynniki te są:

- a) wybór właściwego rozpuszczalnika do ekstrakcji,
- b) wybór odpowiedniej metodyki ekstrakcji,
- c) odbiałczenie wyciągów i oczyszczenie ich z substancji przeszkadzających w oznaczaniu kwasu szczawiowego,
- d) wreszcie wybór właściwej metody oznaczania oczyszczonego kwasu szczawiowego.

Z bardzo licznych metod wykrywania i oznaczania kwasu szczawiowego i jego soli próbowałam zastosować metody wagowe, metody miareczkowe i metody kolorymetryczne.

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń, wyprowadziłam następujące wnioski:

1. Jako rozpuszczalników do ekstrakcji kwasu szczawiowego i szczawianów z nasion buka należy używać wodę i wodny roztwór HCl<sup>51, 52</sup>, najlepiej w stężeniu 1 n<sup>51</sup>. Natomiast nie można używać proponowanych przez niektórych autorów 90° alkoholu etylowego i 1% alkoholowego HCl<sup>1, 54</sup>. Chociaż te ostatnie rozpuszczalniki nie ekstrahują białek, co skraca czas i koszt analizy, lecz otrzymane wyniki są zawsze o wiele niższe od faktycznej zawartości kwasu szczawiowego i jego soli w materiale badanym. Prawdopodobnie kwas szczawiowy w tych rozpuszczalnikach częściowo rozkłada się lub zostaje związany w czasie ogrzewania.

2. Nie można również stosować ekstraktora Bessona w procesie ekstrakcji kwasu szczawiowego, ponieważ otrzymuje się wyniki niepowtarzalne i zbyt rozbieżne.

3. Wyciągi kwasu szczawiowego z nasion należy oczyszczać przez ich odbiałczenie, a następnie strącenie szczawianu wapnia, co przewiduje metoda Bakera<sup>51</sup>.

Stwierdziłam, że samo strącenie szczawianu wapnia bez odbiałczenia, jak proponuje Pritzker i Jungkunz w zastosowaniu do liści herbaty <sup>52</sup>, albo tylko odbiałczenie bez następnego strącenia szczawianu wapnia z badanych wyciągów nasion buka nie jest dostatecznym oczyszczeniem wyekstrahowanego kwasu szczawowego. Dlatego lepsza jest w zastosowaniu do nasion buka metoda Bakera <sup>51</sup> od metody Pritzkera i Jungkunza <sup>52</sup>.

4. Osad szczawianu wapnia jest osadem lekkim, bardzo łatwo zlewającym się razem ze znajdującym się nad nim płynem. Dlatego tylko sączenie przez bardzo gęste sączki, a nie polecane przez Bakera wirowanie <sup>51</sup>, daje gwarancję ilościowego oddzielenia osadu od płynu.

5. Do oznaczeń kwasu szczawowego i szczawianów w nasionach buka nie można zastosować metody wagowej <sup>52</sup>, ponieważ otrzymywane wyniki zależą od temperatury prażenia osadu i nie są powtarzalne.

6. Powtarzalne wyniki oznaczeń kwasu szczawowego i szczawianów w nasionach buka uzyskałam, stosując metody: manganometryczną <sup>51</sup> i kolorymetryczną <sup>53</sup>. Metoda manganometryczna, jak wiadomo, polega na rozpuszczeniu szczawianu wapnia w  $H_2SO_4$  i miareczkowaniu mianowanym roztworem  $KMnO_4$ . Metoda kolorymetryczna polega na częściowym odbarwieniu przez kwas szczawowy czerwonego kompleksu, zawierającego siarczan żelazowo-amonowy z salicylanem sodu w środowisku amoniaku.

Metoda kolorymetryczna przeznaczona jest przez jej autorów do oznaczeń czystych roztworów kwasu szczawowego. Stwierdziłam natomiast, że nie można jej w tej postaci zastosować do oznaczeń kwasu szczawowego w wyciągach z nasion buka. Dlatego dostosowałam tę metodę do badanych wyciągów z nasion. Oparłam się przy tym na właściwościach kompleksów żelazowo-szczawianowych i przesuwaniu się równowagi między nimi w zależności od pH środowiska <sup>55-58</sup>.

Obydwoma tymi metodami, tj. metodą manganometryczną <sup>51</sup> i zmodyfikowaną metodą kolorymetryczną <sup>53</sup>, uzyskałam wyniki powtarzalne i zgodne między sobą w granicach błędów doświadczalnych.

M a n g a n o m e t r y c z n a   m e t o d a   o z n a c z e n i a   k w a s u   s z c z a w i o w e g o   i   j e g o   s o l i. 60 g materiału badanego rozciera się w moździerzu z około 100 ml wody, przenosi ilościowo do zlewki i na każde 10 objętości roztworu dodaje się 2 objętości rozcieńczonego HCl (1 + 1) tak, aby otrzymać w przybliżeniu normalne stężenie HCl. Po dodaniu 1—2 kropli alkoholu kaprylowego (aby zapobiec pienieniu się roztworu), całość ogrzewa się w temperaturze wrzenia w ciągu 15 min. Po ochłodzeniu zawartość zlewki przenosi się ilościowo do kolby miarowej na 500 ml, rozcieńcza do kreski i od czasu do czasu wstrząsając zostawia na kilkanaście godzin (najlepiej na noc). Po tym okresie próbę sączy się przez suchy sączek i w 25 ml przesączu oznacza się całkowity

kwasy szczawiowy, pochodzący zarówno z kwasu szczawiowego wolnego, jak również z szczawianu sodu, potasu i wapnia.

Wolny kwas szczawiowy oraz szczawiany sodu i potasu ekstrahuje się z materiału badanego identycznie jak poprzednio, używając jako rozpuszczalnika wodę destylowaną.

Odbiałczenie 25 ml roztworu po ekstrakcji kwasem solnym następuje przez dodanie 5 ml odczynnika fosforo-wolframowego. Odczynnik ten przygotowuje się przez rozpuszczenie 25 g wolframianu sodu w wodzie, dodanie 40 ml kwasu fosforowego o gęstości 1,75 i rozcieńczenie wodą do litra.

Po wymieszaniu wyciągu z odczynnikami białka strącają się w ciągu 5 godz. Osad białek odwirowuje się i z 20 ml odbiałzonego roztworu pobranych pipetą strąca się szczawian wapnia po uprzednim zalkalizowaniu roztworu amoniakiem o gęstości 0,88, aż do momentu pojawienia się delikatnego osadu wolframianu. Po dodaniu 5 ml odczynnika wapniowego strąca się szczawian wapnia w ciągu kilkunastu godzin w temperaturze 5—7°.

Odczynnik wapniowy przygotowuje się przez rozpuszczenie 25 g bezwodnego  $\text{CaCl}_2$  w 500 ml 50% kwasu octowego i dodanie tego roztworu do roztworu 330 g octanu sodu w 500 ml wody.

Szczawian wapnia sączy się przez gęsty ilościowy sączek i przemywa 20 ml 5% kwasu octowego przechowywanego nad szczawianem wapnia i następnie rozpuszcza się w 5 ml 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Całość miareczkuje się 0,02 n  $\text{KMnO}_4$ . 1 ml 0,02 n  $\text{KMnO}_4 = 1,26 \text{ mg } (\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

Odbiałczenie ekstraktów wodnych następuje przez dodanie do 25 ml ekstraktu 2,5 ml rozcieńczonego  $\text{HCl}$  (1 + 1) i 2,5 ml odczynnika fosforo-wolframowego. Postępowanie dalsze jest identyczne z opisanym wyżej.

Znalezioną w próbce zawartość kwasu szczawiowego i jego soli przeleża się na ich procentową zawartość w nasionach.

**K o l o r y m e t r y c z n a m e t o d a o z n a c z a n i a k w a s u s z c z a w i o w e g o i j e g o s o l i.** Kwas szczawiowy w granicach stężeń  $0,25 \cdot 10^{-5}$  —  $2,5 \cdot 10^{-5}$  mola/ml (czyli 0,315—3,15 mg/ml) zmniejsza natężenie barwy odczynnika w przybliżeniu zgodnie z prawem Lamberta-Beera.

Przyrządziłam wzorcowy odczynnik barwny i wzorcowy roztwór kwasu szczawiowego, zawierający  $10^{-5}$  mola  $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}/1 \text{ ml}$  (czyli  $126 \cdot 10^{-5}$  g/ml).

Odczynnik barwny przyrządziłam w następujący sposób:

a) Roztwór A: wodny roztwór siarczanu żelazowo-amonowego, zawierający 0,1 mg tlenku żelazowego w 1 ml (0,491 g siarczanu żelazowo-amonowego w 1 litrze).

b) Odczynnik barwny: 500 ml roztworu A zmieszałam z 250 ml 1% roztworu salicylanu sodu i dodawałam kroplami rozcieńczony amoniak (1 + 1) aż do wystąpienia barwy żółtej, a następnie jeszcze 10 kropli amoniaku (1 + 1) w nadmiarze. Całość uzupełniłam do 1000 ml rozcieńczonym kwasem octowym (1 + 1). 20 ml odczynnika barwnego zawiera 1 mg tlenku żelazowego.

Do zawsze jednakowej objętości odczynnika (20 ml) dodawałam 0,1—3,0 ml wzorcowego roztworu kwasu szczawiowego i uzupełniałam wodą do objętości 50 ml. Procent przepuszczalności roztworów ( $T\%$ ) mierzyłam na fotoelektrycznym kolorymetrze Schiltknechta w naczynku o czynnej grubości warstwy  $l = 2$  cm. Procent przepuszczalności przeli-

Tabela 3

Kolorymetryczne oznaczenie kwasu szczawiowego

ml	T %	E	ml	T %	E
0,1	99	0,004	1,6	49	0,310
0,2	92	0,036	1,7	48,25	0,317
0,3	86	0,066	1,8	48	0,319
0,4	80	0,097	1,9	47	0,328
0,5	74	0,131	2,0	46,5	0,333
0,6	71	0,148	2,1	46	0,337
0,7	66,5	0,184	2,2	45,5	0,342
0,8	63	0,201	2,3	45,5	0,342
0,9	60	0,222	2,4	45,5	0,342
1,0	57	0,244	2,5	45,5	0,342
1,1	55	0,260	2,6	45,5	0,342
1,2	53	0,276	2,7	45,5	0,342
1,3	51,5	0,288	2,8	45,5	0,342
1,4	51	0,292	2,9	45,5	0,342
1,5	50	0,301	3,0	45,5	0,342

Kolorymetr Schiltknechta. Filtr zielony

ml — ml wzorcowego roztworu kwasu szczawiowego

$T\%$  — procent przepuszczalności (średnia z 5—6 pomiarów)

E — ekstynkcja

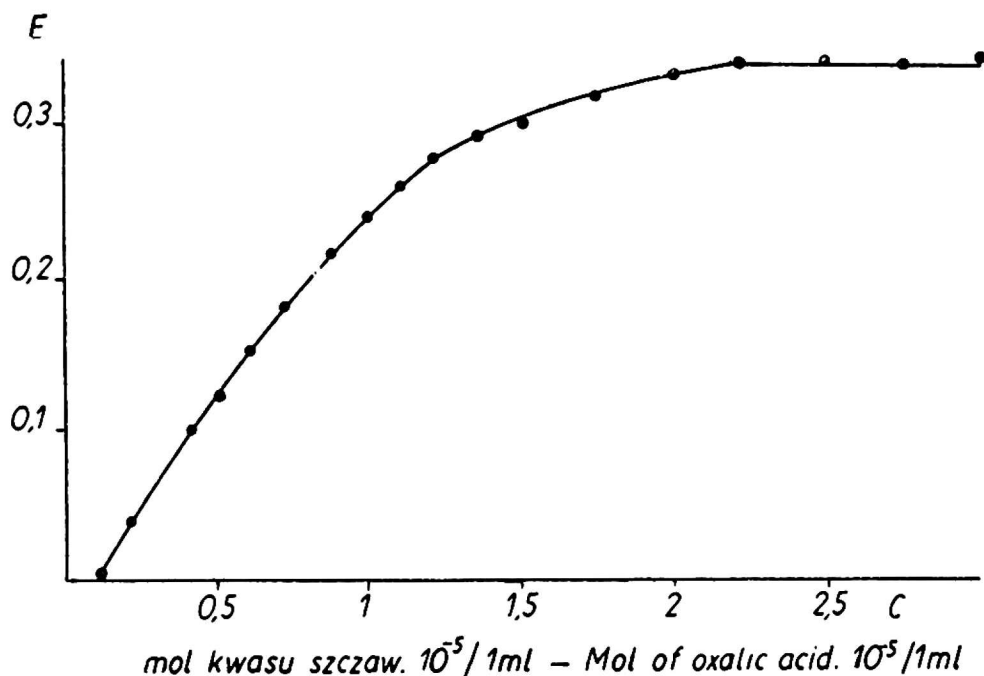
czałam na ekstynkcję (tabela 3), a z tych ostatnich wartości sporządziłam krzywą wzorcową  $E = f(c)$  (rys. 3).

Do pomiarów przepuszczalności wybrałam filtr zielony, ponieważ przy jego użyciu dla tej samej różnicy stężeń kwasu szczawiowego otrzymałam największe różnice ekstynkcji.

Autorzy metody nie wypowiadają się na temat trwałości odczynnika barwnego. Sprawdziłam fotometrycznie, że odczynnik barwny po 24 godz. od chwili przyrządzenia osiąga maksimum natężenia zabarwienia, które później jest trwałe w ciągu kilku miesięcy.

Z rysunku 3 widać, że dla kolorymetru Schiltknechta można założyć przybliżoną proporcjonalność ekstynkcji do stężeń w granicach  $0,1 \cdot 10^{-5}$  —  $1,3 \cdot 10^{-5}$  mola  $(\text{COOH})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}/1$  ml (rys. 4), a nie jak podają autorzy  $0,25 \cdot 10^{-5}$  —  $2,5 \cdot 10^{-5}$  mola  $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}/1$  ml (rys. 3).

Ekstrakty z nasion otrzymane metodą Bakera<sup>51</sup> nie nadają się do oznaczeń kolorymetrycznych ani bezpośrednio po ich odbiałczeniu, ani też po rozpuszczeniu osadu szczawianu wapnia, gdyż pH tych roztworów jest zbyt niskie.



Rysunek 3. Krzywa wzorcowa kwasu szczawowego  
Figure 3. Standard curve of oxalic acid

Kolorymetr Schiltknechta

Schiltknecht colorimeter

Filtr zielony

Green filter

c — stężenie:  $0,1 \cdot 10^{-5}$  —  $2,8 \cdot 10^{-5}$  moli kwasu szczawowego/1 ml  
concentration:  $0,1 \cdot 10^{-5}$  —  $2,8 \cdot 10^{-5}$  Mol. of oxalic acid/1 ml

E — ekstynkcja  
optical density

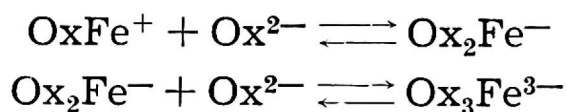
Dodanie wzorcowego roztworu kwasu szczawowego do wzorcowego odczynnika barwnego nie powoduje zmiany pH odczynnika. Natomiast HCl i  $\text{H}_2\text{SO}_4$  w stężeniach używanych do odbiałczania i rozpuszczania szczawianu wapnia już w ilościach 0,01 ml powodowały zmiany przepuszczalności wzorcowego odczynnika barwnego.

W środowisku kwasu octowego jon żelazowy w obecności salicylanu wytwarza trzy kompleksy — fioletowy, czerwony lub żółty<sup>55-57</sup>, których struktura chemiczna zależy od pH środowiska<sup>58</sup>. A więc pH środowiska decyduje o tym, który z tych kompleksów zostanie utworzony. Równowaga między kompleksem salicylowym i octowym zostaje osiągnięta przy



pH bliskim 5. Przy wyższym pH kompleksy te mogą się rozkładać dzięki tworzeniu się koloidalnego wodorotlenku żelazowego.

W środowisku kwasu octowego obecne są jony żelazowy, salicylowy i szczawianowy, a równowaga zależy od ilości szczawianu dodanego do układu. Kiedy zwiększa się ilość jonu szczawianowego, zmniejsza się ilość jonu żelazowego, ponieważ kompleks  $\text{OxFe}^+$  powstaje z kompleksu  $\text{RFe}^+$  (R — rodnik). Kompleks  $\text{OxFe}^+$  może dalej wiązać wolne jony szczawianowe:



$\text{HCl}$  i  $\text{H}_2\text{SO}_4$  zmieniają pH roztworu, przez co wpływają na przesunięcie równowagi między barwnymi kompleksami. Aby tego uniknąć należy doprowadzić wartość pH badanego roztworu do wartości pH wzorcowego roztworu kwasu szczawianowego (pH 2,6). Można to osiągnąć przez potencjometryczne zobojętnienie badanej próby lub też zobojętnienie próby amoniakiem wobec fenoloftaleiny i dodanie kwasu octowego do odbarwienia wskaźnika. Postępowanie drugie wydaje się słuszniejsze dlatego, że w podobny sposób przygotowuje się odczynnik barwny.

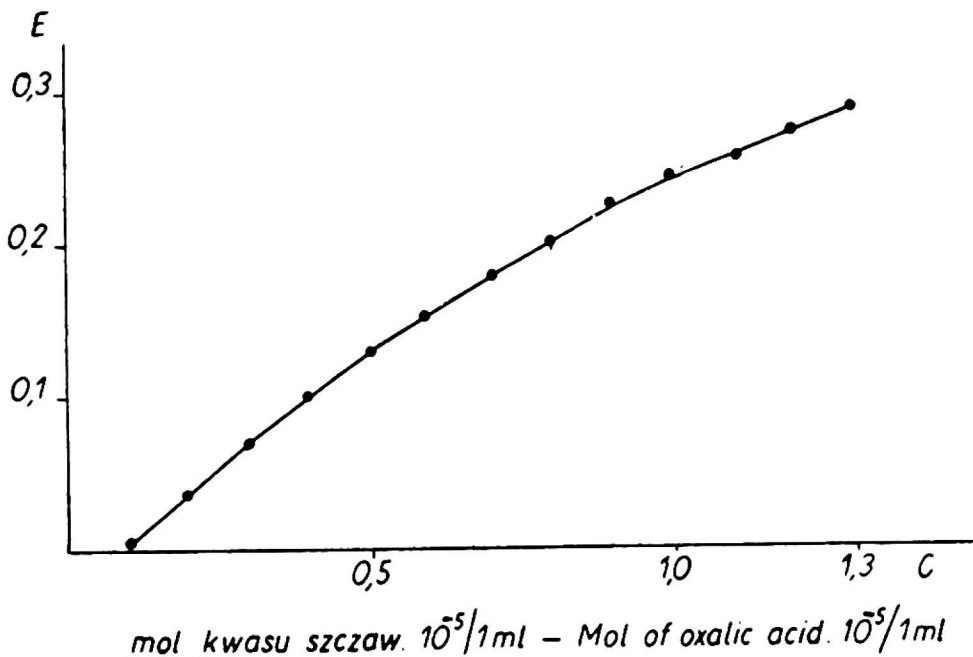
Przeprowadziłam kilkanaście prób z czystymi roztworami  $\text{HCl}$  i  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , które alkalizowałam 25% amoniakiem wobec fenoloftaleiny, zakwaszałam 1% kwasem octowym do odbarwienia wskaźnika, następnie dodawałam 20 ml wzorcowego odczynnika barwnego i uzupełniałam wodą do 50 ml. Stwierdziłam, że kwasy te nie powodują już zmiany pH odczynnika barwnego, ani zmiany jego przepuszczalności. Jest to dostosowanie metody kolorymetrycznej<sup>53</sup>, przeznaczonej do oznaczania kwasu szczawianowego w czystych roztworach, do wyciągów z nasion buka.

Oznaczenie kwasu szczawianowego i jego soli w nasionach buka metodą kolorymetryczną przeprowadziłam, jak następuje:

Ekstrakcję kwasu szczawianowego i jego soli z nasion, odbiałczenie wyciągów, strącenie szczawianu wapnia i rozpuszczenie osadu w  $\text{H}_2\text{SO}_4$  prowadzi się wyżej opisaną metodą Bakera<sup>51</sup>. 0,3—0,4 ml otrzymanego roztworu odmierzone z mikrobiurety rozcieńcza się wodą, alkalizuje 25% amoniakiem wobec fenoloftaleiny, zakwasza 1% kwasem octowym do odbarwienia wskaźnika, dodaje 20 ml odczynnika barwnego i uzupełnia wodą do 50 ml. Mierzy się procent przepuszczalności tych roztworów na kolorymetrze fotoelektrycznym Schiltknechta przy filtrze zielonym w naczynku o czynnej grubości warstwy 1 = 2 cm. Procent przepuszczalności roztworów przelicza się na ekstynkcję i z krzywej wzorcowej (rysunek 4) odczytuje stężenie kwasu szczawianowego i jego soli w próbce. Wartości te przelicza się na procent zawartości kwasu szczawianowego i jego soli w nasionach buka. Metodą kolorymetryczną i metodą manganome-

tryczną znalazłam w nasionach buka takie same zawartości, mianowicie: 0,54% wolnego kwasu szczawiowego i jego soli rozpuszczalnych w wodzie oraz 2,95% szczawianu ogólnego wraz ze szczawianem wapnia w przeliczeniu na  $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

Wnioski w sprawie kwasu szczawiowego i jego soli. Toksyczność kwasu szczawiowego i szczawianów była przedmiotem licznych badań. Kohmen<sup>59, 60</sup> opisał wysoką procentową śmiertelność szczurów w wieku 21—90 dni, którym do diety dodawano około 8% szczawianu wapnia lub szpinaku o zawartości 0,8% szczawianów. Kości tych szczu-



Rysunek 4. Krzywa wzorcowa kwasu szczawiowego

Figure 4. Standard curve of oxalic acid

Kolorymetr Schiltknechta

Schiltknecht colorimeter

Filtr zielony

Green filter

c — stężenie:  $0,1 \cdot 10^{-5}$  —  $1,3 \cdot 10^{-5}$  moli kwasu szczawiowego/1 ml

concentration:  $0,1 \cdot 10^{-5}$  —  $1,3 \cdot 10^{-5}$  Mol. of oxalic acid/1 ml

E — ekstynkcja

optical density

rów były krańcowo ubogie w wapń, struktura ich zębów trzonowych była zmieniona, grubość dentyny zmniejszona i ubogo zwapniała. W moczu i w kale znajdowano szczawiany w mniejszych ilościach, niż zostały podane. Autor obliczył, że 44% szczawianu wapnia podanego w diecie zostaje przyswojone przez organizm szczura. Waga szczurów w czasie żywienia dietą szczawianową spadała, a ich młode były słabe, często padały i zawsze były mniejsze i lżejsze od dzieci rodziców karmionych normalną dietą.

Dyckerhoff i współpracownicy<sup>61</sup>, a także inni autorzy<sup>39, 62, 63</sup>, zwrócili uwagę na to, że jon szczawianowy skraca czas krzepliwości krwi. Druck-

rey<sup>64</sup> potwierdził to w doświadczeniach na królikach i psach. 10 mg szczawianu sodu podane dożylnie psu skróciło czas krzepliwości jego krwi o 25%.

Hamujący wpływ kwasu szczawowego na procesy enzymatyczne ustroju badał Haarmann<sup>65</sup>. Stwierdził on, że kwas szczawowy ma wpływ na metabolizm węglowodanów. Działa on hamująco na enzymy produkujące w mięśniach kwas mlekowy z glikogenu. Kwas szczawowy hamuje zamianę pierwotnego estru kwasu heksozofosforowego w trudno hydrolizujący ester. Toksyczność jonu  $C_2O_4^{2-}$  jest według Jonesa<sup>66</sup> większa od toksyczności jonu  $CNS^-$ , a niewiele mniejsza od toksyczności jonu  $AsO_4^{3-}$ .

Kwas szczawowy jest trucizną tym niebezpieczniejszą, że różna jest wrażliwość osobnicza przy zatruciach tym kwasem. Dlatego trudna do ustalenia jest jego dawka śmiertelna. Charakterystyczne jest spostrzeżenie Eekelena i Laana<sup>5, 9</sup>, że bardzo rozbieżna była wrażliwość osobnicza przy masowych zatruciach nasionami buka w 1942 r. w Holandii.

Według Neureitera i współautorów<sup>78</sup> śmiertelna dawka kwasu szczawowego wynosi przeciętnie 15—20 g, a zgon następuje szybko. Przy mniejszych dawkach okres zatrucia jest dłuższy, co opóźnia zgon. Ciężkie zatrucia mogą wystąpić po spożyciu kilku gramów kwasu szczawowego lub jego kwaśnych soli. Wg Schillinga-Siengalewicza<sup>63</sup> zatrucie śmiertelne powoduje dawka 5—15 g kwasu szczawowego. Autor opisuje śmierć 51-letniej kobiety, która nastąpiła w ciągu 40 minut po omyłkowym spożyciu kwasu szczawowego. Również wg Krauzego i Szymczyka<sup>33</sup> śmiertelna dawka kwasu szczawowego może wynosić już 5 g.

Objawy zatruc ostrych i przewlekłych kwasem szczawowym opisane są w piśmiennictwie<sup>39, 50, 59—74, 83</sup>.

Jeghers i Murphy<sup>62</sup> podają toksykologiczny przegląd metabolizmu szczawianów w przypadkach zatruc rhabdarem oraz schorzeń, wywołanych obecnością szczawianów w diecie, jak oksalurii, oksalemii i innych. Fizjopatologię przemiany kwasu szczawowego badali Kaliszewicz i współpracownicy<sup>71</sup>.

Ostre zatrucia śmiertelne wśród dzieci notowano po spożyciu pokarmów z dużą zawartością szczawianów<sup>68</sup>. W Anglii w latach 1912—1916 zanotowano 448 przypadków zatrucia śmiertelnego szczawianami pochodzącymi z diety<sup>63, 68</sup>.

Znane są również zatrucia zwierząt szczawianami pochodzącymi z paszy. Opisano zatrucia koni, które karmiono sianem, zawierającym bogate w szczawiany trawy i zioła<sup>72</sup> oraz ostre zatrucia kwasem szczawowym ludzi i królików, połączone z degeneracją żył i odkładaniem się złóż szczawianu wapnia w świetle żył<sup>73</sup>. Opisano także zatrucia bydła na pastwiskach dzikim szczawiem<sup>74</sup>.

W świetle opisanych wyżej licznych przewlekłych i śmiertelnych zatruc ludzi i zwierząt szczawianami, pochodzącymi z pożywienia, a także wobec dużej toksyczności kwasu szczawowego i zmiennej osobniczej wrażliwości na tę truciznę, uznałam kwas szczawowy za przyczynę toksyczności nasion buka. Opierając się na badaniach Kohmena<sup>59, 60</sup> również szczawian wapnia należy uznać za składnik toksyczny tych nasion.

Według Szabuniewicza<sup>69</sup> przeciętna ilość kwasu szczawowego, podana w pokarmach, nie powinna przekroczyć 15—20 mg dziennie. Taka ilość szczawianów znajduje się już w około 0,5 g nasion buka. Należy się spodziewać, że w pokarmach i wyrobach cukierniczych można podać co najmniej kilka do kilkunastu gramów nasion buka jako dawkę jednorazową (np. 15 dkg chałwy o zawartości 50% nasion buka posiadałoby 2,25 g szczawianu ogólnego).

Jeżeli nawet toksyczność szczawianu wapnia uznać za problematyczną, to toksyczność kwasu szczawowego i jego soli rozpuszczalnych w wodzie nie ulega żadnej wątpliwości. Ponieważ nasiona buka zawierają 0,54% rozpuszczalnych w wodzie szczawianów, dawki nasion buka powyżej 3 g dziennie już stanowią niebezpieczeństwo dla zdrowia. Częstsze spożywanie pokarmów, zawierających nasiona buka stwarza poważną obawę wywołania zatruc przewlekłych szczawianami, zwłaszcza przy zwiększonej wrażliwości osobniczej i wśród dzieci.

Do wyprowadzenia takiego wniosku upoważnia mnie dodatkowo fakt stosunkowo dużej zawartości szczawianów w nasionach buka (2,95%) w porównaniu z ich zawartością np. w rabarbarze (0,24—0,5%), szpinaku (0,3—0,8%) i szczawiu (0,3%)<sup>50, 59, 60</sup>. Jeżeli rabarbar, szpinak i szczaw wywołały opisane poważne przypadki ostrych i przewlekłych zatruc, a nawet śmierci, to nasiona buka stanowią o wiele groźniejsze niebezpieczeństwo dla zdrowia.

## 6. Doświadczenia na szczurach

Na poparcie wniosku o toksyczności nasion buka wykonałam doświadczenie na szczurach. Chodziło mi nie o ilościowe ujęcie zagadnienia, tzn. ustalenie minimalnej dawki nasion buka o działaniu toksycznym dla zwierząt, ale o ogólny efekt toksyczności tych nasion przy skarmianiu nimi zwierząt w pewnym okresie czasu. W podobny sposób postępuje się, badając substancje podejrzane o składniki trujące. Nie chodziło mi również o szczegółowe badania toksyczności kwasu szczawowego i szczawianów, bo badania takie były już przeprowadzone<sup>39, 50, 59—74, 83</sup>. W myśl uchwał międzynarodowych doświadczenia w dziedzinie zatruc przewlekłych (chronicznych) powinny być przeprowadzone przez co najmniej dwa pokolenia na kilku gatunkach zwierząt, przy tym jednym z gatunków zwierząt

Tabela 4

## Morfologia krwi szczurów

	Szczury doświadczalne (skarmiane dietą z dodatkiem nasion buka)				Szczury kontrolne			Norma dla szczurów
	80 7 080 000 7 600	83 6 650 000 9 100	74 6 310 000 9 200	75 6 720 000 11 000	98 8 330 000 9 400	106 8 570 000 6 000	110 8 530 000 9 000	
Procent hemoglobiny								
krwinki czerwone								
krwinki białe								
Wzór Schillinga								
pałeczki segmenty	2%	1%	5%	4%	0,5%	1%	7%	(2—14%)
kwasiczłonne	20	23	32	32	27	16	13	(6—25)
zasadochłonne	4	4	3	9	1	3	2	(0—4)
limfocyty	—	—	—	—	—	—	1	(0—0)
monocyty	72	69	57	52	70	78	78	(55—96)
	2	3	3	3	1,5	3	3	(0—3)

doświadczalnych nie powinny być gryzione. Ilość zwierząt doświadczalnych powinna wynosić około 100 z każdego gatunku. Tego rodzaju eksperyment wykracza poza ramy tej pracy i może stanowić oddzielny temat pracy biologicznej w tym zakresie, której wyniki powinny być opracowane statystycznie. Wykonane przeze mnie doświadczenie na 15 szczurach rzuca jednak pewne światło na sprawę toksyczności nasion buka i może być traktowane jako uzupełnienie badań chemicznych w tym zakresie.

10 szczurów (5 samic i 5 samców) skarmiałam w ciągu 6 tygodni normalną dietą, zawierającą 50% dodatek nasion buka. Jednocześnie 5 szczurów kontrolnych (3 samice i 2 samce) skarmiałam również dietą normalną, lecz bez dodatku nasion. Dieta ta wg Dajkowskiej i Szczygła<sup>75</sup> zawierała: 20% żyta, 20% pszenicy, 22% owsa, 1% tranu, 15% mączki mięsno-kostnej, 8% chudego mleka w proszku, 3,5% margaryny, 4% kazeiny, 6% drożdży suszonych, 1% soli kuchennej, 0,5% CaCO<sub>3</sub>. Wszystkie składniki zmielone i zmieszane podawałam w formie suchej, zaś wodę dodatkowo bez ograniczeń w oddzielnych butelkach.

W czasie 6-tygodniowego eksperymentu żywienia padły 2 szczury skarmiane dietą z dodatkiem nasion (obie samice).

Szczurom doświadczalnym i kontrolnym wykonano morfologię krwi (tabela 4), oznaczono krzepliwość krwi i procent Ca w surowicy krwi oraz wykonano ich sekcję. Stwierdzono spadek procentu hemoglobiny i ilości krwinek czerwonych \* (tabela 4), a także niewielkie obniżenie czasu krzepliwości krwi i zawartości wapnia w surowicy krwi u szczurów skarmianych dietą z dodatkiem nasion buka w porównaniu z kontrolnymi. Krzepliwość krwi \*\* oznaczano metodą Howella w modyfikacji Lee White <sup>76</sup>. 3 próbówki o średnicy 8 mm, z których każda zawierała 1 ml krwi pobranej z serca przechylano co 15 sek. aż do chwili krzepnięcia krwi.

Notowano średni czas krzepnięcia.

Zestawienie 1		Zestawienie 2	
Czas krzepliwości krwi szczurów		Zawartość wapnia w surowicy krwi szczurów	
Szczur doświadczalny	55 sek		mg % Ca w surowicy krwi
Szczur doświadczalny	50 sek		
Szczur kontrolny	1 min 15 sek	Szczur doświadczalny	12,5
Szczur kontrolny	1 min 18 sek	Szczur doświadczalny	12,1
		Szczur kontrolny	13,5
		Szczur kontrolny	13,2

Obniżenie czasu krzepliwości krwi jest charakterystyczne dla zatrucia kwasem szczawiovym <sup>39, 61-64</sup>.

Wapń we krwi \*\*\* oznaczano metodą Wałachowski'ego <sup>77</sup>. 1,5 ml krwi pobranej z serca spalano w tyglu platynowym, popiół rozpuszczono w rozc. HCl, dodano 0,5 ml nasyconego szczawianu amonu i po ogrzaniu do temperatury wrzenia alkalizowano stęż.  $\text{NH}_4\text{OH}$ , a następnie zakwaszono lodowatym kwasem octowym. Po półgodzinnym chłodzeniu osad szczawianu wapnia odwirowano, przemyto wodą, rozpuszczono w 3 ml rozc.  $\text{HNO}_3$  (1+1) i po ogrzaniu do  $50^\circ$  miareczkowano 0,01-n  $\text{K MnO}_4$ ; 1 ml 0,01-n  $\text{KMnO}_4$  odpowiada 0,2 mg Ca.

Nie należy się spodziewać dużych spadków zawartości wapnia w surowicy krwi, ponieważ jego poziom jest stale regulowany i wyrównywany przez gruczoły przytarczycowe kosztem dowozu z tkanek kostnych <sup>50, 59, 60, 63</sup>.

Sekcja zwierząt \*\*\*\* karmionych dietą z dodatkiem nasion buka wykazała

\* Morfologie krwi szczurów wykonała mgr E. Sikorska w Zakładzie Badania Żywności i Przedmiotów Użytku w Państwowym Zakładzie Higieny w Warszawie.

\*\* Oznaczenia krzepliwości krwi wykonał doc. B. Więclawek w II Klinice Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej w Warszawie.

\*\*\* Wapń we krwi oznaczała mgr H. Ignatowska w II Klinice Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej w Warszawie.

\*\*\*\* Sekcję szczurów przeprowadził lek. wet. S. Zaleski w Zakładzie Badania Żywności i Przedmiotów Użytku Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie.

ostre stany kataralne jelit cienkich, połączone z silnymi przekrwieniami błony śluzowej. Sekcja szczurów kontrolnych nie wykazała zmian w narządach wewnętrznych. Schorzenia gastryczne są również cechą charakterystyczną dla przewlekłych zatruc kwasem szczawiowym<sup>63, 67, 68, 70</sup>. Wg danych z ankiety holenderskiej<sup>5</sup> zaburzenia gastryczne mogą nastąpić już w kilka godzin po spożyciu nasion buka.

Z powyższych wstępnych doświadczeń biologicznych można wyprowadzić wniosek, że systematyczne spożywanie nasion buka jest toksyczne dla ustroju. Do wyciągnięcia takiego wniosku upoważnia mnie dodatkowo fakt, że normalna dieta szczurów doświadczalnych była bogata w łatwo przyswajalny wapń (8% chudego mleka w proszku, 4% kazeiny i 0,5% CaCO<sub>3</sub>)<sup>75</sup>. Chociaż kwas szczawiowy zmniejsza przyswajalność wapnia z przewodu pokarmowego, ale wapń jest odtrutką kwasu szczawiowego<sup>60, 69, 83</sup>. Mimo to po dłuższym skarmianiu szczurów tą dietą z dodatkiem nasion buka, wystąpiły zatrucia, a nawet śmierć zwierząt doświadczalnych. Jest możliwe, że wskutek stosunkowo małego stężenia substancji toksycznej w pokarmie zatrucia i zmiany w ustroju zachodzą dopiero przy dłuższym stosowaniu diety z dodatkiem nasion buka.

W świetle uzyskanych wyników skarmiania szczurów, popartych wynikami ankiety holenderskiej z 1942 r.<sup>5</sup> nasiona buka nie mogą być systematycznie dodawane do pożywienia.

## WNIOSKI

Za truciznę nasion buka uważam kwas szczawiowy i szczawiany, ponieważ toksyczność tych substancji jest duża dla ludzi i zwierząt<sup>39, 50, 59-74, 83</sup>, a według doniesień Kohmena<sup>59, 60</sup> również szczawian wapnia może być resorbowany z przewodu pokarmowego i wywierać silne działanie toksyczne na ustrój.

W piśmiennictwie spotkałam pogląd, że tylko spleśniałe nasiona zawierają kwas szczawiowy i dzięki temu są toksyczne<sup>7, 22, 23</sup>. Wg przeprowadzonych przeze mnie badań nasiona zdrowe i niespleśniałe również zawierają kwas szczawiowy i szczawiany i wykazują działanie toksyczne na szczury.

Ze względu na toksyczne działanie kwasu szczawiowego i jego soli na ustrój i zmiany w ustroju przy dłuższym podawaniu nasion buka w diecie, nasiona te nie mogą być dopuszczone do artykułów żywności, przeznaczonych dla ludzi jako np. namiastka nasion sezamowych.

Nasiona sezamowe stosowane są przez przemysł cukierniczy. Ponieważ duże jest spożycie produktów tego przemysłu przez dzieci i również duże jest zapotrzebowanie organizmu dziecka na wapń, nie należy w tym okresie podawać mu w żywności jakichkolwiek substancji odwapniają-

cych organizm i wywołujących schorzenia opisane poprzednio. Dlatego użycie nasion buka jako namiastki sezamu nie może być dopuszczone.

U ludzi dorosłych nasiona buka spożywane nawet w niedużych ilościach, lecz systematycznie, mogą również doprowadzić do schorzeń gastrycznych i związanych z metabolizmem wapnia w ustroju, jak oksalurii, oksalemii itd., zwłaszcza przy zwiększonych indywidualnych wrażliwościach organizmu na kwas szczawiowy.

Z punktu widzenia gospodarki państwowej nasiona buka nie przedstawiają surowca bezwartościowego. Mogą one zwiększyć bazę tłuszczową, ponieważ zawierają około 45% tłuszczu, a olej wyciśnięty z nasion buka jest powszechnie uważany za jadalny<sup>9, 13—15, 24, 79—82</sup>. Zawiera on ważne biologicznie tzw. istotne kwasy tłuszczowe (olejowy i linolowy) i wg cytowanych danych z piśmiennictwa nie spotkano dotąd przypadków zatrucia olejem bukowym ani w Polsce, ani za granicą.

O tym, czy makuchy bukowe mogą być stosowane jako pasza dla zwierząt powinni zdecydować hodowcy i lekarze weterynarii na podstawie badań, przeprowadzonych na zwierzętach doświadczalnych i domowych, biorąc jednak pod uwagę obecność składników trujących, jakimi w tych nasionach są kwas szczawiowy i jego sole.

*Wszystkim, którzy pomogli mi w wykonaniu tej pracy, składam serdeczne podziękowanie.*

#### LITERATURA \*

1. A. Bömer, A. Juckenack, J. Tillmens: Handbuch der Lebensmittelchemie t. 3, s. 660; t. 2/2, s. 1379; t. 1, s. 505; t. 2, s. 1336; t. 5, s. 692, s. 1123; t. 9, s. 341; t. 4, s. 720; t. 3, s. 626; t. 4, s. 318; t. 2/2, s. 1165; Verlag — Springer, Berlin 1933.
2. P. Chouard: Paris méd. 1941, t. 31, s. 185; Chemie-Industrie, 1942, t. 47, s. 107; Chem. Abstr. 1946, t. 40, s. 6695.
3. Gottschied: Kortum Beitr. Arzneiw. 1795, s. 145.
4. H. Jasser, E. Thome: Deutsch. Lebensmitt. Rundschau 1943, s. 31—2.
5. M. Eekelen, C. Hortog, P. Laan: Niderl. Tijdschrift voor Geneskunde 1943, t. 27, s. 831.
6. L. Lewin: Gifte u. Vergiftungen, Berlin 1929.
7. T. Sabalitschka: Z. Nahr. Genussmitt. 1920, t. 44, s. 102; Ber. d. Pharm. Ges. 1920, t. 30, s. 25.
8. Peppelman van Kampen: Dissertatie, Delft 1925.
9. M. Eekelen, P. Laan: Voeding 1945, t. 6, s. 83.
10. E. Fröhner: Lehrbuch für Toxicologie für Tierärzte. 1919, Stuttgart, 1890.
11. H. Kummer: Land. Forschung 1949, t. 1, s. 45.
12. O. Engels: Landwirtschaftlichen Forschungsstationen 1913, t. 82, s. 93.
13. L. Rozental, J. Budzyńska: Roczniki P. Z. H. 1954, t. 5, s. 125.
14. K. Berger: Süddeut. Apoth. Ztg. 1947, t. 87, s. 62.

\* Podano tylko wyciąg z piśmiennictwa, które obejmuje ogółem 174 pozycje, całość jest do wglądu u autorki.



15. J. Cornea, A. Rudenco: Bull. études et recherches tech. (Bukarest) 1949, t. 1, s. 169; Chem. Abstr. 1949, t. 43, s. 2449; Chem. Abstr. 1950, t. 44, s. 9166.
16. Illustr. Landw. Ztg. 1917, t. 37, s. 398; Biedermanns Zentr. t. 48, s. 127.
17. G. Ritter: Northeastern Tech. Comm. Beech Utilization, 1952, ser. nr 4, s. 1—17.
18. Herberger: Arch. f. d. Pharmazie 1830, t. 35, s. 149.
19. A. Eichholz: Die toxische Gesamtsituation auf dem Gebiet der menschlichen Ernährung, Berlin-Göttingen-Heidelberg. 1956.
20. Brandl, Rackowiecki: Chem. Zentrbl. 1865, s. 143.
21. R. Hotovy: Klin. Wochschr. 1947, t. 24—25, s. 635.
22. T. Sabalitschka: Mitt. Lebensmitt. Hyg. 1943, t. 34, s. 243.
23. T. Sabalitschka, Deutsch. Lebensmitt. Rdsch. 1943, s. 55.
24. J. Pritzker, R. Jungkunuz, Mitt. Lebensmitt. Hyg. 1943, t. 34, s. 107.
25. Boehm: Arch. Exp. Path. u. Pharm. 1885, t. 19, s. 60.
26. R. Kobert: Lehrbuch d. Intoxikationen 594, 1990, Stuttgart 1906.
27. Pott: Handbuch der Tierischenernährung u. landw. Futtermittel 1924, t. 1, s. 65.
28. F. Budagyan, G. Arnitinnow: Woprosy pitania 1936, t. 5, s. 152.
29. J. Gadamer: Lehrbuch der chemischen Toxikologie, Göttingen 1924.
30. R. Hilpert, W. Krüger: Ber. 1939, t. 72 B, s. 400; Chem. Abstr. 1939, t. 33, s. 3882.
31. W. Diemair, H. Neu: Z. anal. Chem. 1948, t. 128, s. 566.
32. K. Nehring: Fette u. Seifen. 1944, t. 51, s. 358.
33. S. Krauze, F. Szymczyk: Analiza toksykologiczna, Warszawa, 1946.
34. L. Rosenthaler: Pharm. Acta Helv. 1939, t. 14, s. 221.
35. Y. Sumiki: Chem. Zentrbl. 1930, t. 2, s. 573; 1931, t. 1, s. 3355.
36. O. Dafert: Z. Untersuch. Lebensmitt. 1930, t. 60, s. 408.
37. L. Kofler: Wien. Klin. Wochschr. 1931, s. 852; Chem. Ztg. 1913, t. 55, s. 746.
38. L. Rosenthaler, H. Schellhas: Z. Untersuch. Lebensmitt. 1913, t. 25, s. 154.
39. S. Krauze: Artykuły żywności i przedmioty użytku w związku z polskim ustawodawstwem, Warszawa 1946, t. 1.
40. L. Kofler: Z. Untersuch. Lebensmitt. 1932, t. 63, s. 154.
41. R. Fischer, W. Hauser: Praktikum der Pharmakognosie, Wien, 1944.
42. K. Brunner, J. Rühle: Z. Untersuch. Lebensmitt. 1902, t. 5, s. 1197; 1908, t. 16, s. 165; 1912, t. 23, s. 566.
43. E. Müller - Hössly: Mitt. Lebensmitt. Hyg. 1917, t. 8, s. 113; Z. Untersuch. Lebensmitt. 1921, t. 41, s. 37.
44. A. Niethammer: Z. Untersuch. Lebensmitt. 1931, t. 61, s. 220.
45. Poradnik Garbarza, Warszawa, 1953.
46. A. Künzel: Das Leder 1954, t. 5, s. 28.
47. T. Persz: Analiza techniczna w przemyśle garbarskim, P. W. T., Warszawa, 1953.
48. W. Bednarczyk: Roczniki P. Z. H., 1950, t. 1, s. 225.
49. R. Engel: J. Biol. Chem. 1942, t. 144, s. 701.
50. A. Szczygieł: Podstawy fizjologii żywienia, Warszawa, 1956.
51. C. Baker: Analyst. 1952, t. 77, s. 340.
52. J. Pritzker, R. Jungkunuz: Mitt. Lebensmitt. Hyg. 1939, t. 30, s. 264.
53. F. Burriel-Marti, J. Ramirez-Munoz, E. Fernandes-Caldas: Anal. Chem. 1953, t. 25, s. 583.
54. J. Albahary: Ann. Fals. 1912, t. 5, s. 147; Chem. Zentrbl. 1912, t. 1, s. 1502.

55. D. Monnier, I. Rusconi, P. Wagner: *Helv. Chim. Acta*, 1946, t. 29, s. 521.
56. A. Babko: *Zur. Obszcej Chimii*, 1945, t. 15, s. 745.
57. C. Bertin: *Tezy doktorskie. Paryż 1950*; *Anal. Chem.* 1953, t. 25, s. 583.
58. J. Mehling: *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.* 1938, t. 10, s. 136.
59. E. Kohmen: *Science* 1945, t. 101, s. 610.
60. E. Kohmen: *J. Nutr.* 1939, t. 18, s. 233.
61. H. Dyckerhoff, E. Frimberger, W. Pretzsch: *J. Ges. exptl. Med.* 1940, t. 107, s. 660.
62. H. Jeghers, R. Murphy: *New Engl. J. Med.* 1945, t. 233, s. 208, s. 238.
63. S. Schilling-Siengalewicz: *Toksykologia*, Poznań, 1947.
64. H. Druckrey, R. Goeldal: *Klin. Wochschr.* 1940, t. 19, s. 480.
65. W. Haarmann: *Biochem. Z.* 1932, t. 256, s. 350.
66. J. Jones: *J. Exp. Biolog.* 1941, t. 18, s. 170.
67. B. Gut, K. Wątorski: *Odczynniki i chemikalia. Własności fizyko-chemiczne i toksyczne*, Warszawa, 1956, t. 2.
68. J. Miklaszewska: *Zatrucia, Vade mecum dla studentów i lekarzy*, Kraków 1949.
69. B. Szabuniewicz: *Zarys fizjologii człowieka*, Kraków, 1947.
70. S. Przyłęcki: *Podręcznik chemii fizjologicznej*, Łódź 1947.
71. S. Kaliszewski, S. Laskowski, O. Szczecińska: *Przegląd Lekarski* 1954, nr 5, s. 151.
72. J. Steward, J. Callum: *Vet. Record* 1944, t. 56, s. 77; *Expt. Sta. Record* 1945, t. 92, s. 116.
73. H. Többen: *Arch. path. Anat. (Virchow's)* 1938, s. 302, s. 246.
74. Z. Olszewski, C. Bańkowska: *Acta Pol. Pharm.*, 1955, t. 12, s. 121.
75. Z. Dajkowska, A. Szczygieł: *Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia* 1950, t. 2, s. 578.
76. R. Gradwohl: *Chemical Laboratory Methods and Diagnosis*, London 1948, s. 638.
77. S. Wałachowski, I. Wałachowski: *Metody chemiczskowo analiza krwi*, Moskwa 1953, s. 211.
78. F. Neureiter, F. Pietrusky, E. Schütt: *Handwörterbuch der gerichtlichen Medizin und naturwissenschaftlichen Kriminalistic*, Berlin, 1940.
79. A. Heiduschka, P. Roser: *J. prakt. Chem.* 1922, t. 104 (2), s. 137.
80. E. Delvaux: *Fettchemische Umschau* 1936, t. 43, s. 183.
81. V. Grafe, K. Ose: *Biochem. Z.* 1927, t. 187, s. 102; *Chem. Abstr.* 1927, t. 21, s. 3384.
82. I. Cuculescu: *Bul. Fac. Stiinte Cernauti.* 1928, t. 2, s. 84; *Chem. Abstr.* 1932, t. 26, s. 4192.
83. A. Hoover, M. Korunairatnam: *Biochem. J.* 1945, t. 39, s. 237.

### Streszczenie

Stwierdzono, że nasiona buka (*Fagus silvatica* L.) nie zawierają alkaloidów, saponin i garbników. Nie istnieje więc w ogóle opisywany w literaturze alkaloid fagina, mylnie podawany także jako saponina. Zawartość choliny wolnej i pochodzenia fosfatydowego wynosi tylko 0,1%. Tak mała zawartość choliny nie może być toksyczna dla organizmu ludzkiego lub zwierzęcego.

Toksyczność nasion buka mogą powodować tylko kwas szczawiowy i jego sole. Zawartość kwasu szczawiowego i szczawianów rozpuszczalnych w wodzie wynosi 0,54%. Ogólna zawartość szczawianów wraz ze szczawianem wapnia wynosi 2,95% w przeliczeniu na  $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

50% dodatek nasion buka do normalnej diety wywołał u szczurów ostre stany kataralne jelit cienkich z silnymi przekrwieniami, anemię (spadek zawartości hemoglobiny i krwinek czerwonych), niewielkie obniżenie krzepliwości krwi i również niewielki spadek zawartości wapnia w krwi. Wstępny eksperyment skarmiania szczurów przeprowadzono w ciągu 6 tygodni.

Nasiona buka nie mogą być dopuszczone do artykułów żywności przeznaczonych dla ludzi.

Otrzymano: 1959, luty.

## ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ТОКСИЧНОСТИ СЕМЯН БУКА (*FAGUS SILVATICA* L.)

Лаборатория для исследования пищевых продуктов фармацевтического факультета  
Медицинской Академии в Варшаве

Констатировано, что семена бука (*Fagus silvatica* L.) не содержат ни алкалоидов, ни сапонинов, ни дубильных веществ. В связи с этим не может существовать алкалоид фагин, который в литературе ошибочно описан тоже как сапонин.

Содержание свободного холина и холина связанного в фосфатидах в семенах бука равно 0,1%. Такое небольшое количество не может быть токсичным ни для людей ни для животных.

Причиной токсичности семян бука является щавелевая кислота и ее соли. Количество щавелевой кислоты и растворимых в воде ее солей равняется 0,54%. Полное содержание щавелевой кислоты и ее солей вместе со щавелевокислым кальцием равно 2,95% в пересчете на  $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

Скармливание крысам нормальной диеты содержащей 50% добавку семян бука в течение шести недель, вызвало катаральное состояние кишек и сильную гиперемию слизистой оболочки, анемию и небольшой убыток содержания кальция в крови.

Семена бука не могут быть допустимы в пищевые продукты предназначенные для людей.

## UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE GIFTIGKEIT DER BUCHENSAMEN (*FAGUS SILVATICA* L.)

Laboratorium für Lebensmitteluntersuchung der Pharmazeutischen Fakultät  
der Akademie der Medizin in Warszawa

Es ist festgestellt worden, dass Buchensamen (*Fagus silvatica* L.) keine Alkaloide, Saponine und Gerbstoffe enthalten. Das so oft in der Literatur beschriebene Alkaloid — Fagin, welches auch irrtümlicherweise als Saponin bezeichnet wird, existiert überhaupt nicht.

Der Gesamtgehalt an Cholin (frei und an Phosphatide gebunden) beträgt nur 0,1%. Diese sehr geringe Menge kann praktisch keinen schädlichen Einfluss auf den menschlichen und tierischen Organismus ausüben.

Die Giftigkeit der Buchensamen ist nur auf die Oxalsäure und ihre Salze zurückzuführen. Der Gehalt an Oxalsäure und löslichen Oxalaten beträgt 0,54% und an der gesamten Oxalsäure, berechnet als  $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Kalziumoxalate inbegriffen) — 2,95%.

Bei einem 50% Zusatz von Buchensamen zur normalen Diät der Ratten, wurden in einem 6-wöchigen Vorversuch akute katarrhale Zustände des Dünndarms mit starken Überblutungen, Anemie (Senkung des Gehalts an Hämoglobin und roten Blutkörperchen), geringe Verminderung der Blutgerinnbarkeit sowie ein Rückgang des Kalziumgehalts, festgestellt. Für den Konsum sind die Buchensamen nicht geeignet.