

OCENA WPLYWU MIESZANINY WYBRANYCH DODATKÓW DO ŻYWNOŚCI NA WSKAŹNIKI METABOLIZMU BIAŁKOWEGO – BADANIA MODELOWE

ASSESSMENT OF THE EFFECT OF SELECTED MIXTURE OF FOOD ADDITIVES ON THE PROTEIN METABOLISM – MODEL STUDIES

Mariola Friedrich, Magdalena Kuchlewska

Zakład Fizjologii Żywienia Człowieka, Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

Słowa kluczowe: dodatki do żywności, metabolizm białkowy, szczury

Key words: food additives, protein metabolism, rats

STRESZCZENIE

Wprowadzenie. Współcześnie, żywność bardzo rzadko produkowana jest bez udziału substancji dodatkowych. Coraz częściej jednak opracowania naukowe donoszą o niekorzystnym wpływie na organizm określonych dodatków do żywności. Brakuje natomiast danych o synergistycznym wpływie mieszanin różnych substancji dodatkowych do żywności na funkcje organizmu i jego podstawowe torę metaboliczne.

Cel. Celem badań było określenie, na modelu zwierzęcym, czy i w jaki sposób mieszanina wybranych, najczęściej stosowanych do żywności substancji dodatkowych, wraz ze zmianą składu diety na przetworzoną, oczyszczoną, wpływają na wybrane wskaźniki metabolizmu białkowego organizmu.

Materiał i metody. Szczury w wieku 5-7 miesięcy, podzielone na 4 grupy żywieniowe, żywiono *ad libitum* granulowanymi mieszankami: grupy I i II - paszą podstawową, natomiast grupy III i IV - paszą zmodyfikowaną, w której część pełnych ziaren zbóż zastąpiono izokalorycznie mąką pszenną typ 500 i sacharozą. Do picia zwierzęta grup I i III otrzymywały odstaną wodę wodociągową. Zwierzęta grup II i IV otrzymywały 5 ml roztworu wybranych substancji dodatkowych do żywności, a następnie dopajano je wodą. Ilość podawanych substancji dodatkowych do żywności wyliczono biorąc pod uwagę średnie spożycie wśród ludzi, w przeliczeniu na jednostkę masy ciała zwierząt. Doświadczenie trwało 7 tygodni.

Wyniki. Stwierdzono, że zastosowana mieszanina substancji dodatkowych do żywności powodowała istotne zmiany stężenia białka całkowitego i jego frakcji: albumin, α_1 -globulin, α_2 -globulin, β -globulin i γ -globulin w surowicy krwi badanych zwierząt, które mogą wskazywać na, ale też przyczyniać się do ujawniania lub powstawania niepożądanych reakcji pokarmowych, szczególnie przy przekraczaniu dopuszczalnych poziomów spożycia tych dodatków. Odpowiedź organizmu na zastosowane dodatki i towarzyszącą im zmianę składu diety była istotnie związana z płcią badanych zwierząt. Niekorzystny charakter zachodzących zmian, obserwowano zarówno u zwierząt karmionych paszą podstawową jak i zmodyfikowaną, z różnym jednak natężeniem, w zależności od badanego parametru, a nie grupy żywieniowej.

Wnioski. Analiza uzyskanych wyników pozwoliła na stwierdzenie, że zastosowana mieszanina dodatków do żywności powodowała istotne zmiany stężenia białka całkowitego i jego frakcji: albumin, *alfa1*-, *alfa2*-, *beta*- i *gamma*- globulin w surowicy krwi badanych zwierząt, zmian które mogą wskazywać ale też mogą przyczyniać się do powstawania lub ujawniania niepożądanych reakcji pokarmowych, szczególnie przy przekraczaniu zalecanych poziomów spożycia. Odpowiedź organizmu na zastosowane dodatki i towarzyszącą im zmianę składu diety była istotnie związana z płcią badanych zwierząt. Niekorzystny charakter zmian zachodzących pod wpływem zastosowanych dodatków, obserwowano zarówno u zwierząt karmionych paszą podstawową jak i zmodyfikowaną, z różnym jednak natężeniem, w zależności od badanego parametru, a nie grupy żywieniowej.

ABSTRACT

Background. Contemporarily, food production without food additives is very rare. Increasingly often, however, scientific works report on adverse effects of specified, single food additives on the body. Data is, in turn, lacking on the synergistic effect of a mixture of different food additives on body functions and its main metabolic pathways.

Adres do korespondencji: Mariola Friedrich, Zakład Fizjologii Żywienia Człowieka, Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, 71-459 Szczecin, ul. Papieża Pawła VI 3, tel. +48 91 449 65 70, e-mail: Mariola.Friedrich@zut.edu.pl

Objective. The objective of this study, an animal model, was to evaluate if and in what way the compound of chosen and most frequently used and consumed food additives, along with the change of diet composition to processed, purified, influence the selected markers of protein metabolism.

Material and methods. The animals were divided into four groups, which were fed with compound of feed pellets: group I and II with basic compound, group III and IV with modified compound in which part of the full grain was replaced by isocalorie wheat flour type 500 and saccharose. Animals from groups I and III received tap water, which was standing for some time, to drink. Animals from groups II and IV received solution of chosen additives to food and next they were given water to drink. The amount of given food additives was evaluated by taking into consideration their consumption by people recalculated to 1 kg of their body mass. The experiment spanned for 7 weeks.

Results. It was ascertained that the applied additives caused significant changes in total protein concentration and its fractions: albumin, α_1 -globulin, α_2 -globulin, β -globulin and γ -globulin in the blood serum of the animals under research, which can indicate and contribute to disclosure of creation of undesirable food reaction, especially when recommended levels of consumption of those additives are being exceeded. The organism response to the applied additives and accompanying it change of diet was essentially connected to sex of the animals. Undesirable character of changes taking place under the influence of applied additives, was observed both in animals fed with basic feed and modified feed with various intensity according to the parameter under research.

Conclusions. The analysis of the results achieved enabled concluding that the applied mixture of food additives caused significant changes in the concentration of total protein and its fractions: albumins, *alpha1-*, *alpha2-*, *beta-* and *gamma-* globulins in blood serum of the investigated animals. These changes may indicate but also may contribute to the development or manifestation of undesirable nutritional responses, especially when recommended dietary allowances are exceeded. The body's response to the applied additives and concomitant modification of diet composition was significantly correlated with sex of the animals. The unfavorable character of changes following the administration of additives was observed in both the animals on the basal diet and these fed the modified feed mixture, yet with a different intensity that was found to depend not on the feeding group but on the parameter examined.

WSTĘP

Współcześnie, żywność bardzo rzadko produkowana jest bez udziału substancji dodatkowych [9]. Ich stosowanie podyktowane jest wieloma względami i ma na celu podniesienie jakości produktu, jego atrakcyjności sensorycznej bądź zapewnienie prawidłowości procesów technologicznych i przechowalniczych. Jednak coraz częściej, badania naukowe donoszą o niekorzystnym wpływie na organizm dodatków do żywności [36]. Natomiast nieliczne są dane na temat synergistycznego wpływu mieszaniny różnych substancji dodatkowych do żywności na funkcje organizmu i podstawowe torę metaboliczne, których zmieniony przebieg może sprzyjać pojawianiu się nieprawidłowej odpowiedzi organizmu, niezwiązanej ze swoistą reakcją układu odpornościowego, na spożyty pokarm lub dodaną substancję. Jako podłoże do wystąpienia tego typu reakcji wymienia się między innymi zaburzenia biochemiczne i enzymatyczne.

Celem podjętych badań modelowych na zwierzętach było określenie czy i w jaki sposób mieszanina wybranych, najczęściej stosowanych i spożywanych substancji dodatkowych, wraz ze zmianą składu diety, wpływają na wybrane wskaźniki metabolizmu białkowego organizmu.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie, po uzyskaniu zgody Lokalnej Komisji Etycznej (nr zgody 31/2006), przeprowadzono

w wiwarium Zakładu Fizjologii Żywienia Człowieka Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, na 48 samcach i 48 samicach (osobno dla każdej płci) szczurów laboratoryjnych szczepu Wistar, w wieku 5-7 miesięcy, które umieszczono w indywidualnych klatkach, w klimatyzowanym wiwarium, w temperaturze 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 Wytwórnię Pasz i Koncentratów w Kcyni. Grupy I i II otrzymywały paszę podstawową zawierającą między innymi pełne ziarna pszenicy i kukurydzy, grupy III i IV – paszę zmodyfikowaną, w której, w stosunku do paszy podstawowej, część pełnych ziaren pszenicy zastąpiono mąką pszenną typ 500, a 50% kukurydzy – sacharozą. W celu ustalenia składu chemicznego zastosowanych w doświadczeniu pasz przeprowadzono podstawowe analizy chemiczne. Z przygotowanych prób, zgodnie z normami [30], pobrano naważki (po 4 z każdej), w których oznaczono zawartość białka ogólnego, tłuszczu surowego, suchej masy i ilość popiołu ogólnego. Względna zawartość węglowodanów obliczono z różnicy pomiędzy suchą masą a sumą białka, tłuszczu i popiołu. Pełny skład zastosowanych w doświadczeniu pasz przedstawia tabela 1, a ich skład chemiczny tabela 2. Pasze były izokaloryczne i izobiałkowe.

Tabela 1. Skład surowcowy pasz zastosowanych w doświadczeniu

Ingredients contained in feedstuffs applied in the experiment

Skład recepturalny	Pasza podstawowa [%]	Pasza zmodyfikowana [%]
Pszenica	36,4	6,0
Kukurydza	20,0	10,0
Otręby pszenne	20,0	20,0
Śruta sojowa	17,0	17,0
Serwatka suszona	3,0	3,0
Fosforan 2-CA	0,8	0,8
Kreda pastewna	1,5	1,5
Sól pastewna	0,3	0,3
Premix LRM	1,0	1,0
Mąka pszenna typ 500	—	30,4
Cukier biały	—	10,0

Tabela 2. Skład chemiczny pasz zastosowanych w doświadczeniu

Chemical composition of feedstuffs applied in the experiment

Składnik	Pasza podstawowa	Pasza zmodyfikowana
Białko ogólne [%]	19,2	18,5
Tłuszcz surowy [%]	2,81	2,33
Węglowodany [%]	63,8	65,5
Sucha masa [%]	91,9	92,3
Popiół ogólny [%]	6,09	6,00
Energia brutto		
[kcal/g]	3,99	3,98
[kJ/g]	16,7	16,7
Energia metaboliczna		
[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, w porze wzmożonej aktywności, podawano 5 ml wodnego roztworu następujących dodatków do żywności: azotynu sodu (E 250) w ilości 0,07 mg/kg masy ciała, azotanu 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. Odpowiadało to ich średniemu spożyciu przez ludzi i wynosiło: dla azotynu sodu 11,7% ADI, dla azotanu potasu 137,0% ADI, dla kwasu benzoowego 27,8% ADI i dla kwasu sorbowego 2,0% ADI. Ponieważ ilość podawanych zwierzętom dodatków przeliczano na jednostkę masy ciała, dlatego co tydzień, po zważeniu zwierząt, ilość dodatków była aktualizowana. Po wypiciu przez zwierzęta roztworu dodatków do żywności dopajano je czystą, odstanną wodą wodociągową.

Po jednodobnym okresie kondycjonowania, doświadczenie trwało jeszcze 7 tygodni, w trakcie któ-

rych, 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. Po zakończeniu doświadczenia zwierzęta uśpiono anestetykiem *Ketanest* podanym domięśniowo i pobrano krew z serca, w której po odwirowaniu skrzepu oznaczano:

- 1) stężenie białka całkowitego - metodą biuretową, przy użyciu spektrofotometru Metertech SP-8001 [27] i zawartość jego frakcji (albumin, α_1 -, α_2 -, β - i γ -globulin) – metodą rozdziału elektroforetycznego, na żelu agarozowym Gel Protein 100, przy użyciu odczynników i komory firmy Cormay oraz densytometru DT 93 Emco;
- 2) aktywność aminotransferazy asparaginianowej (AspAT) i aminotransferazy alaninowej (AlAT) - metodą enzymatyczną kinetyczną, przy użyciu biotestów firmy BioMaxima, na spektrofotometrze Metertech SP-8001 [15].

Od zwierząt pobrano również wątrobę oraz mięśnie łopatkowe i udowe (*m. quadriceps femoris*, *m. biceps femoris*, *m. semimembranosus*, *m. adductor femoris*), w których oznaczano zawartość białka ogólnego – metodą Kjeldahla, w aparacie Kjeltec 2100 Foss Tecator [24].

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

WYNIKI I DYSKUSJA

Analizując wpływ zastosowanej w doświadczeniu mieszaniny dodatków do żywności na spożycie paszy stwierdzono, że tak u samców jak i samic, modyfikowały one 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 zastosowanej mieszaniny dodatków do żywności zaznaczył się wzrostem ogólnego spożycia paszy przez samice otrzymujące paszę podstawową oraz spadkiem ogólnego spożycia paszy przez samice otrzymujące paszę zmodyfikowaną. Biorąc jednak pod uwagę ilość spożytej paszy, w przeliczeniu na 100 g masy ciała, stwierdzono, podobnie jak u samców, wzrost spożycia pod wpływem zastosowanej mieszaniny dodatków, niezależnie od rodzaju paszy.

Wpływ zastosowanej w doświadczeniu mieszaniny dodatków do żywności na spożycie paszy ogółem, przez wszystkie badane zwierzęta, nie był istotny, ale biorąc pod uwagę jej spożycie w przeliczeniu na 100 g masy ciała, stwierdzono istotną tendencję wzrostową w tym zakresie.

Tabela 3. Wpływ mieszaniny wybranych dodatków do żywności i składu diety na spożycie paszy i przyrosty masy ciała szczurów ($\bar{X} \pm SD$, n = 96)

The effect of a mixture of selected food additives and diet composition on feedstuff intake and body gain in rats ($\bar{X} \pm SD$, n = 96)

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

*,** - różnica statystycznie istotna $p \leq 0,05$; 0,01

*,** - statistically significant difference $p \leq 0.05$; 0.01

Zastosowana w doświadczeniu mieszanina dodatków do żywności tylko u zwierząt żywionych paszą podstawową powodowała większy przyrost masy ciała. U zwierząt żywionych paszą zmodyfikowaną, powodowała zarówno obniżenie bezwzględnych przyrostów masy ciała jak i w przeliczeniu na 100 g spożytej paszy.

Obserwowany efekt jest trudny do wyjaśnienia, ale pozwala domniemywać, że albo składniki paszy zmodyfikowanej, na skutek wpływu mieszaniny 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 i azotynu [5].

neralnych, obecnych w okrywie owocowo-nasiennej ziarniaków. Obserwowane zależności mogły być też efektem wpływu hormonów płciowych na metabolizm ustroju [12], których odmienne działanie wyraźnie zaznaczyło się przy analizowaniu badanych parametrów gospodarki białkowej ustroju.

Białka ustrojowe nieustannie ulegają proteolizie ale równocześnie są odnawiane ze swoich prekursorów. Te dwa przeciwstawne, a jednocześnie powiązane ze sobą procesy, oddziela szereg reakcji związanych z przemianami powstających przy proteolizie aminokwasów. Są to: deaminacja, transaminacja, aminacja, synteza nowych cząsteczek białka, synteza związków niebiałkowych, powstawanie końcowych produktów przemian.

Tabela 4. Analiza statystyczna wpływu mieszaniny wybranych dodatków do żywności i składu diety na spożycie paszy i przyrosty masy ciała szczurów (n = 96)

Statistical analysis of the impact of a mixture of selected food additives and diet composition on feedstuff intake and body gain in rats (n=96)

Badany parametr	Istotność różnic i interakcje						
	Dodatki (A)	Dieta (D)	Płeć (P)	AxD	AxP	DxP	AxDxP
Spożycie paszy [g]	-	**	**	-	-	**	-
Spożycie paszy [g/100 g masy ciała]	*	-	**	-	-	*	-
Przyrost masy ciała [g]	*	**	**	**	-	-	-
Przyrosty masy ciała [g/100 g paszy]	*	**	**	**	**	**	*

*,** - różnica statystycznie istotna $p \leq 0,05$; 0,01

*,** - statistically significant difference $p \leq 0.05$; 0.01

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 mi-

Analizując wpływ zastosowanej w doświadczeniu mieszaniny dodatków i składu diety na metabolizm białkowy stwierdzono, że już poprzez sam wpływ na wielkość spożycia paszy i tym samym na wielkość spożycia białka, mogły one wpływać na jego metabolizm w ustroju.

U samców zastosowana w doświadczeniu mieszanina dodatków do żywności nieznacznie tylko zwiększała spożycie białka, tak ogółem jak i w przeliczeniu

Tabela 5. Wpływ mieszanki dodatków do żywności i składu diety na wybrane parametry gospodarki białkowej u samców szczura ($\bar{x} \pm SD$, n = 48)The effect of a mixture of selected food additives and diet composition on selected indicators of protein metabolism in male rats ($\bar{x} \pm SD$, n = 48)

Badany parametr	Pasza podstawowa (a)	Pasza podstawowa + dodatki (b)	Pasza zmodyfikowana (c)	Pasza zmodyfikowana + dodatki (d)	Istotność różnic
Spożycie białka [g]	252 ± 19,1	259 ± 9,3	226 ± 9,3	230 ± 13,5	a - c, d**; b - c, d**
Spożycie białka [g/100 g masy ciała]	53,0 ± 2,80	53,4 ± 3,06	47,0 ± 2,94	48,9 ± 3,79	a - c, d**; b - c, d**
Stężenie białka w surowicy krwi [g/l]	46,1 ± 5,49	51,7 ± 5,45	51,0 ± 4,82	48,3 ± 4,58	a - b, c*
Albuminy [g/l]	22,0 ± 2,63	23,9 ± 2,32	24,7 ± 1,99	23,2 ± 2,38	a - c*
α_1 -globuliny [g/l]	10,7 ± 1,63	12,8 ± 1,63	12,5 ± 1,57	12,4 ± 1,50	a - b**, c, d*
α_2 -globuliny [g/l]	3,21 ± 0,42	4,29 ± 2,45	2,89 ± 0,77	2,67 ± 0,45	b - c*, d**
β -globuliny [g/l]	7,91 ± 1,10	8,05 ± 1,06	8,49 ± 1,33	7,70 ± 0,71	-
γ -globuliny [g/l]	2,26 ± 0,39	2,62 ± 0,34	2,47 ± 0,37	2,41 ± 0,36	a - b*
AspAT [U/l]	35,8 ± 5,51	39,3 ± 7,39	42,8 ± 5,45	65,2 ± 13,98	d - a, b, c**
AlAT [U/l]	29,5 ± 4,33	30,2 ± 5,93	25,3 ± 3,95	31,8 ± 6,92	c - b, d*
Zawartość białka w tkance mięśniowej [%]	23,6 ± 0,37	23,5 ± 0,52	23,7 ± 0,18	23,4 ± 0,26	-
Zawartość białka w tkance wątrobowej [%]	18,9 ± 0,12	19,0 ± 0,15	20,3 ± 0,59	20,7 ± 0,38	a - c, d** b - c, d**; c - d**

*, ** - różnica statystycznie istotna $p \leq 0,05$; 0,01*, ** - statistically significant difference $p \leq 0.05$; 0.01

na jednostkę masy ciała, niezależnie od rodzaju paszy (Tab. 5). Natomiast u samic zastosowana mieszanka dodatków istotnie zwiększała spożycie białka przez grupę żywioną paszą podstawową, nieznacznie obniżając jego spożycie przez grupę żywioną paszą zmodyfikowaną (Tab. 6). Biorąc jednak pod uwagę spożycie białka w przeliczeniu na jednostkę masy ciała stwierdzono, że podobnie jak u samców, zwiększała ona spożycie białka, niezależnie od rodzaju paszy, ale tylko w przypadku paszy podstawowej był to wpływ statystycznie istotny. Sama zmiana składu paszy nie wpłynęła na wielkość spożycia białka przez badane samice. Wielkość spożycia białka przez zwierzęta nie zawsze przekładała się na jego zawartość w badanych tkankach. Zawartość białka w tkance mięśniowej samców (Tab. 5) pod wpływem mieszanki dodatków i zmiany składu paszy nie uległa zmianie. Brak zmian nie potwierdza więc sugestii *Wilczka* [34] o hamującym wpływie zastosowanych w doświadczeniu azotanów i azotynów na biosyntezę testosteronu, odgrywającego istotną rolę w metabolizmie białkowym u samców. Zastosowana mieszanka dodatków sprzyjała natomiast wzrostowi zawartości białka w wątrobie badanych samców – nieistotnemu w grupie na paszy podstawowej i istotnemu na paszy zmodyfikowanej.

Biorąc pod uwagę obserwowany wzrost stężenia syntetyzowanych w wątrobie, wybranych frakcji białkowych, obecnych w surowicy krwi, można przypuszczać, że zastosowana w doświadczeniu mieszanka dodatków „wymuszając” w wątrobie biosyntezę białek *de novo*,

mogła wpływać na wzrost ich zawartości w tym narządzie (Tab. 5 i Tab. 6).

Na taki mechanizm wpływu wskazywałyby także zmiany aktywności badanych w przeprowadzonym doświadczeniu enzymów (aminotransferazy asparaginanowej i alaninowej) przenoszących grupy aminowe z aminokwasów na α -ketokwasy, przy czym AlAT dodatkowo jest enzymem odpowiedzialnym za kierowanie aminokwasów na szlaki kataboliczne. Aktywność tych enzymów jest pośrednim wskaźnikiem natężenia przemian białkowych.

Obserwowany w surowicy krwi samców (Tab. 5), wzrost stężenia AspAT i AlAT pod wpływem zastosowanych dodatków, tłumaczy, do pewnego stopnia, nie tylko zmianę stężenia białka całkowitego w surowicy krwi, ale też brak zmian jego zawartości w mięśniach.

Analizując wpływ spożycia białka na jego zawartość w badanych tkankach samic stwierdzono, że przy braku zmian zawartości białka w tkance wątrobowej, jego zawartość w mięśniach pod wpływem zastosowanych dodatków zmniejszała się u zwierząt będących na paszy podstawowej i istotnie zwiększała na paszy zmodyfikowanej (Tab. 6).

Obserwowany wzrost zawartości białka w tkance mięśniowej mógł być związany ze składem zastosowanej w doświadczeniu paszy zmodyfikowanej, zawierającej łatwo trawione i szybko przyswajane węglowodany, czemu towarzyszył stwierdzony w badaniach własnych [17] znaczny, statystycznie istotny, wzrost stężenia glukozy we krwi badanych samic, na-

Tabela 6. Wpływ zastosowanych dodatków do żywności i składu diety na wybrane parametry gospodarki białkowej u samic szczura, ($\bar{X} \pm SD$, n = 48)

The effect of a mixture of selected food additives and diet composition on selected indicators of protein metabolism in female rats ($\bar{X} \pm SD$, n = 48)

Badany parametr	Pasza podstawowa (a)	Pasza podstawowa + dodatki (b)	Pasza zmodyfikowana (c)	Pasza zmodyfikowana + dodatki (d)	Istotność różnic
Spożycie białka [g]	159 ± 9,13	170 ± 9,80	158 ± 7,95	157 ± 7,60	a - b**, b - c, d**
Spożycie białka [g/ 100 g masy ciała]	60,4 ± 3,14	63,7 ± 4,64	60,6 ± 4,65	62,3 ± 4,14	a - b, d**
Stężenie białka w surowicy krwi [g/l]	36,8 ± 2,14	46,8 ± 6,94	42,3 ± 2,69	41,8 ± 1,58	a - b, c, d**, b - c, d*
Albuminy [g/l]	21,3 ± 0,86	26,7 ± 4,36	23,9 ± 2,21	22,8 ± 1,70	a - b**, c*, b - c, d**
α ₁ -globuliny [g/l]	6,22 ± 0,54	7,60 ± 1,21	7,46 ± 0,35	7,48 ± 0,55	a - b, c, d**
α ₂ -globuliny [g/l]	1,92 ± 0,25	2,49 ± 0,47	2,11 ± 0,16	2,32 ± 0,43	a - b, d**, b - c**
β-globuliny [g/l]	5,15 ± 0,40	6,68 ± 0,92	6,29 ± 0,47	6,42 ± 0,36	a - b, c, d**
γ-globuliny [g/l]	2,25 ± 0,46	3,28 ± 0,75	2,51 ± 0,39	2,86 ± 0,39	a - b, d**, b - c**, d*
AspAT [U/l]	83,4 ± 15,3	108 ± 11,3	117 ± 16,3	119 ± 16,6	a - b, c, d**
AlAT [U/l]	26,9 ± 9,59	22,3 ± 3,90	29,9 ± 4,10	24,9 ± 5,48	b - c**
Zawartość białka w tkance mięśniowej [%]	21,2 ± 0,36	20,7 ± 0,92	19,5 ± 0,53	21,5 ± 0,23	a - c**, b - c, d** c - d**
Zawartość białka w tkance wątrobowej [%]	23,7 ± 1,12	22,6 ± 2,19	23,1 ± 0,68	23,4 ± 0,39	-

*, ** - różnica statystycznie istotna p ≤ 0,05; 0,01

*, ** - statistically significant difference p ≤ 0.05; 0.01

silany dodatkowo przez zastosowaną w doświadczeniu mieszaninę dodatków do żywności. Wzrostowi stężenia glukozy we krwi zawsze towarzyszy wyrzut insuliny, która m. in. zwiększa transport aminokwasów do komórek, a obecność estrogenów dodatkowo uwrażliwia tkanki na jej działanie. Efektu tego nie obserwowano jednak u samców, u których stężenie glukozy we krwi również wzrastało. Wydaje się, że związane to było, co stwierdzono we wcześniejszych badaniach własnych [17], istotnym wzrostem, stężenia triacylogliceroli we krwi, które poprzez zmianę wrażliwości receptorów insulinowych mogą sprzyjać insulinooporności [20, 33].

Analizując wpływ zastosowanych w doświadczeniu czynników, tj. mieszaniny wybranych dodatków do żywności i zmiany składu diety, na stężenie białka i jego frakcji w surowicy krwi badanych zwierząt należy powiedzieć, że generalnie stężenie białka całkowitego we krwi zależy od równowagi pomiędzy syntezą, a degradacją dwóch głównych frakcji białkowych, tj. albumin i immunoglobulin. Inne frakcje białkowe nie wpływają znacząco na jego stężenie.

Obniżenie stężenia białek w osoczu krwi może być wynikiem zahamowania ich syntezy lub szybkiego wzrostu objętości krwi. Najczęściej jednak wynika ze zmniejszenia stężenia albumin w łożysku naczyńowym, rzadziej z niedoboru immunoglobulin. Natomiast stężenia poszczególnych białek zawartych we frakcjach białkowych mogą ulegać zmianom, lecz procentowy udział niektórych białek we frakcji, pomimo roli jaką spełniają, jest tak niewielki, że nie odbija się to ani na

stężeniu białka całkowitego, ani na zmianie udziału odsetka danej frakcji.

W przeprowadzonym doświadczeniu stężenie białka całkowitego we krwi samców żywionych paszą podstawową istotnie wzrosło pod wpływem zastosowanych dodatków do żywności i związane było to ze wzrostem stężenia wszystkich jego frakcji, chociaż tylko w przypadku stężenia α₁-globulin i γ-globulin był to wzrost statystycznie istotny (Tab. 5).

U samic żywionych paszą podstawową obserwowano takie same zależności, ale wpływ dodatków do żywności okazał się mieć istotne znaczenie dla wzrostu stężenia wszystkich frakcji białkowych zawartych we krwi (Tab. 6).

Analizując wzrost stężenia albumin we krwi, pod wpływem zastosowanej mieszaniny dodatków, obserwowany tak u samców jak i u samic otrzymujących paszę podstawową, można przypuszczać, że mógł on być związany ze stwierdzonym, we wcześniejszych badaniach własnych, istotnym wzrostem pod wpływem zastosowanej mieszaniny dodatków, m. in. stężenia bilirubiny we krwi badanych zwierząt [26]. Taki efekt może wynikać z roli jaką pełni frakcja albumin, czyli nieswoistego transportera, m. in. hormonów, witamin, wielu składników mineralnych, bilirubiny, kwasów tłuszczowych, substancji wchłoniętych w jelitach i transportowanych do wątroby. Inni badacze analizując stężenie albumin, pełniących rolę niespecyficznego systemu transportowego, wiążą wzrost ich stężenia m. in. ze wzrostem stężenia wolnych kwasów tłuszczowych w osoczu krwi [10, 23, 25]. W badaniach własnych nie obserwowano jednak istotnych zmian,

Tabela 7. Wpływ wybranych dodatków do żywności i składu diety na procentowy udział frakcji białkowych w surowicy krwi u samców szczura, ($\bar{x} \pm SD$, n = 48)

The effect of a mixture of selected food additives and diet composition on content of protein fractions in blood serum of male rats ($\bar{x} \pm SD$, n = 48)

Badany parametr	Pasza podstawowa (a)	Pasza podstawowa + dodatki (b)	Pasza zmodyfikowana (c)	Pasza zmodyfikowana + dodatki (d)	Istotność różnic
Albuminy [%]	47,8 ± 1,03	46,9 ± 1,37	48,4 ± 1,01	47,9 ± 1,68	b – c*
α_1 -globuliny [%]	23,2 ± 1,57	25,2 ± 1,59	24,5 ± 1,80	25,5 ± 1,20	a – b, d**
α_2 -globuliny [%]	6,97 ± 0,47	6,93 ± 0,98	5,67 ± 1,40	5,51 ± 0,67	– c, d** b – c, d**
β -globuliny [%]	17,1 ± 0,87	15,8 ± 0,76	16,6 ± 1,24	15,9 ± 0,72	a – b, d**
γ -globuliny [%]	4,97 ± 1,11	5,17 ± 0,66	4,85 ± 0,66	5,02 ± 0,82	-
A/G	0,914 ± 0,037	0,888 ± 0,049	0,945 ± 0,039	0,925 ± 0,060	b – c*

*, ** - różnica statystycznie istotna $p \leq 0,05$; 0,01

*, ** - statistically significant difference $p \leq 0,05$; 0,01

pod wpływem zastosowanej mieszanki dodatków do żywności, gromadzenia wisceralnej tkanki tłuszczowej u badanych zwierząt, żywionych paszą podstawową [17]. Efekt wzrostu stężenia wolnych kwasów tłuszczowych w surowicy krwi, pod wpływem azotynu sodu, obserwowała jednak Bilczuk [4, 5] w swoich badaniach na samcach szczura. Trudno także określić przyczynę istotnego wzrostu stężenia, tak u samców jak i u samic żywionych paszą podstawową, frakcji α_1 -globulin w surowicy krwi (Tab. 5, Tab. 6).

Wzrostem stężenia frakcji α_1 - oraz frakcji α_2 -globulin, który dodatkowo obserwowano u samic, zaznacza się wzrost stężenia białek ostrej fazy. Są one syntetyzowane głównie w wątrobie w przebiegu martwicy, ostrych i przewlekłych stanów zapalnych, chorób zakaźnych i nowotworów. Odgrywają one rolę w nieswoistym mechanizmie obronnym, jakim jest reakcja ostrej fazy, czyli zespół miejscowych i uogólnionych zmian, powstałych w odpowiedzi organizmu na zaburzenie jego homeostazy w wyniku działania różnych czynników uszkodzających. Rola białek ostrej fazy nie jest dostatecznie poznana [1, 2, 22, 32], jednak większość z nich ma właściwości inhibitorów proteaz, chroniąc ustrój przed uwalnianymi enzymami lizosomalnymi, lub pełni funkcje transportowe. Trudno wyjaśnić zaobserwowane zjawisko, ponieważ tak samce jak i samice charakteryzowały się w przebiegu doświadczenia dobrą kondycją i nie wykazywały żadnych objawów chorobowych. Z wcześniejszych badań własnych [26] wynika jednak, że zastosowana w doświadczeniu mieszanka dodatków do żywności sprzyjała natężeniu procesów wolnorodnikowych w ustroju, szczególnie u samców, przy czym wpływ ten zaznaczył się wyraźniej przy stosowaniu diety pełnowartościowej. Bez dodatkowych badań, trudno także jednoznacznie stwierdzić dlaczego pod wpływem zastosowanych dodatków u samców i u samic żywionych paszą podstawową, nastąpił istotny wzrost stężenia frakcji γ -globulin w surowicy

krwi (Tab. 5, Tab. 6). W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono wzmianki na ten temat, natomiast dostępne opracowania omawiające wpływ dodatków do żywności na stężenie γ -globulin, dotyczą najczęściej klasycznych reakcji alergicznych, z udziałem przeciwciał klasy IgE w odpowiedzi np. na aspartam [29], karmin koszenili [8, 16, 19, 35], a także na stosowane w przemyśle spożywczym enzymy – pektynazę, lizozym, papainę czy α -amylazę [3, 21, 28, 31]. Jednak obserwowany w przeprowadzonym doświadczeniu istotny wzrost stężenia tej frakcji białkowej sugeruje możliwość wpływu zastosowanych w doświadczeniu dodatków na układ immunologiczny, ale ocena jego charakteru i mechanizmu wymaga dalszych i specjalistycznych badań.

Ponieważ białka surowicy krwi to grupa niejednorodna, o odmiennych właściwościach fizycznych, pełniących różne funkcje biochemiczne, dlatego też oprócz oznaczenia stężenia białka całkowitego i jego frakcji w surowicy krwi, ważne znaczenie diagnostyczne ma ocena procentowego udziału poszczególnych frakcji białkowych przy ich elektroforetycznym rozdziale oraz stosunek stężenia albumin do globulin (A/G)[13].

U samców żywionych paszą podstawową zastosowana w doświadczeniu mieszanka dodatków do żywności nie wpłynęła na zmianę procentowego udziału albumin w surowicy krwi (Tab. 7). Odnotowano u nich natomiast statystycznie istotny wzrost udziału frakcji α_1 -globulin, w skład której wchodzi takie białka, jak α_1 -kwaśna glikoproteina (orozomukoid), α_1 -inhibitor proteaz (α_1 -antytrypsyna), będące dodatkami białkami ostrej fazy [6, 13]. Głównym celem ich wytwarzania jest udział w hamowaniu procesów proteolitycznych i ograniczaniu zakresu uszkodzenia tkanek poza ogniskiem zapalnym. Istotny wzrost udziału tej frakcji wraz z istotnym wzrostem ich stężenia we krwi, zwraca uwagę na możliwość zachodzenia w organizmie pod wpływem zastosowanych dodatków, zmian, wymuszających jednak wzrost syntezy białek tej frakcji.

Tabela 8. Wpływ wybranych dodatków do żywności i składu diety na procentowy udział frakcji białkowych w surowicy krwi u samic szczura, ($\bar{x} \pm SD$, n = 48)

The effect of a mixture of selected food additives and diet composition on content of protein fractions in blood serum of female rats ($\bar{x} \pm SD$, n = 48)

Badany parametr	Pasza podstawowa (a)	Pasza podstawowa + dodatki (b)	Pasza zmodyfikowana (c)	Pasza zmodyfikowana + dodatki (d)	Istotność różnic
Albuminy [%]	57,1 ± 1,18	57,4 ± 1,49	56,2 ± 2,17	54,4 ± 2,04	d – a, b**, c*
α ₁ -globuliny [%]	17,2 ± 0,89	16,9 ± 0,83	17,7 ± 1,39	18,1 ± 1,14	a – d*, b – c*, d**
α ₂ -globuliny [%]	5,30 ± 0,64	5,26 ± 0,39	5,05 ± 0,48	5,36 ± 0,41	-
β-globuliny [%]	14,2 ± 0,72	13,9 ± 0,84	14,9 ± 0,82	15,7 ± 0,61	a – c*, d** b – c, d**, c – d**
γ-globuliny [%]	5,76 ± 1,17	6,62 ± 1,26	5,97 ± 1,16	6,67 ± 0,84	-
A/G	1,37 ± 0,131	1,40 ± 0,206	1,30 ± 0,148	1,19 ± 0,101	d – a, b**

*,** - różnica statystycznie istotna p ≤ 0,05; 0,01

*,** - statistically significant difference p ≤ 0.05; 0.01

W grupie tej stwierdzono również istotne obniżenie odsetka zawartej w surowicy krwi frakcji β-globulin (Tab. 7). Frakcja ta zawiera w swoim składzie m. in.: transferynę, β-lipoproteinę (LDL-choł.), β₂-mikroglobulinę i składową C3 dopełniacza [7, 13]. Spośród białek frakcji β-globulin w najwyższym stężeniu w surowicy krwi występuje jednak składowa C3 układu dopełniacza. Białka układu dopełniacza wiążą się z błonami komórkowymi bakterii, wirusami, antygenami i sobą nawzajem oraz z komponentami immunologicznymi na powierzchni komórek różnych tkanek, co prowadzi do chemotaksji leukocytów i niszczenia przez nie uszkodzonych tkanek. Stężenie składowej C3 układu

dopełniacza w wyniku zwiększonego zużycia obniża się więc w wielu chorobach [11, 13]. Jak podaje *Gasque* [11] znaczne obniżenie stężenia C3 obserwowane jest w chorobach autoimmunizacyjnych, a niewielki spadek w schorzeniach wątroby. *Gupta* i wsp. [14] wykazali, w badaniach z udziałem dzieci autystycznych, że obserwowane u nich zaburzenia odporności spowodowane były m. in. niedoborem składników C3 dopełniacza. Biorąc powyższe pod uwagę, stwierdzone obniżenie procentowego udziału tej frakcji białkowej, przy braku zmian jej stężenia, może sprzyjać obniżeniu możliwości obronnych ustroju w tym zakresie.

Tabela 9. Analiza statystyczna wpływu zastosowanych dodatków do żywności i składu diety na wybrane parametry gospodarki białkowej badanych zwierząt, (n=96)

Statistical analysis of the impact of a mixture of selected food additives and diet composition on selected indicators of protein metabolism in rats (n=96)

Badany parametr	Istotność różnic i interakcje						
	Dodatki (A)	Dieta (D)	Płeć (P)	AxD	AxP	DxP	AxDxP
Spożycie białka [g]	*	**	**	-	-	**	-
Spożycie białka [g/100 g masy ciała]	*	**	**	-	-	**	-
Stężenie białka w surowicy krwi [g/l]	**	-	**	**	-	-	-
Albuminy [g/l]	*	-	-	**	-	-	-
α ₁ -globuliny [g/l]	**	*	**	**	-	-	-
α ₂ -globuliny [g/l]	*	*	**	*	-	*	-
β-globuliny [g/l]	-	-	**	**	**	-	-
γ-globuliny [g/l]	**	-	**	**	**	-	-
Albuminy [%]	-	-	**	-	-	**	-
α ₁ -globuliny [%]	*	*	**	-	*	-	-
α ₂ -globuliny [%]	-	**	**	-	-	**	-
β-globuliny [%]	-	**	**	*	**	**	-
γ-globuliny [%]	*	-	**	-	-	-	-
A/G	-	*	**	-	-	**	-
AspAT [U/l]	**	**	**	-	-	-	**
AlAT [U/l]	-	-	**	-	-	**	-
Zawartość białka w tkance mięśniowej [%]	-	**	**	-	-	*	-
Zawartość białka w tkance wątrobowej [%]	*	*	**	**	**	-	**

*,** - różnica statystycznie istotna p ≤ 0,05; 0,01

*,** - statistically significant difference p ≤ 0.05; 0.01

U samic żywionych paszą podstawową nie obserwowano istotnego wpływu mieszaniny dodatków do żywności na zmianę procentowego udziału poszczególnych frakcji białkowych (Tab. 8). Jedynie, podobnie jak u samców, stwierdzono niewielki wzrost udziału γ -globulin w surowicy krwi.

Nie stwierdzono istotnego wpływu zastosowanej mieszaniny dodatków na zmianę stosunku A/G tak u samców jak i u samic będących na paszy podstawowej (Tab. 7, Tab. 8).

Analizując wpływ zastosowanej mieszaniny dodatków na procentowy udział frakcji białkowych w surowicy krwi zwierząt żywionych paszą zmodyfikowaną stwierdzono, że u samców nie wywołały one żadnych istotnych zmian (Tab. 7).

Natomiast u samic spowodowały istotny spadek procentowego udziału albumin (Tab. 8), które są uważane za ujemne białko ostrej fazy [13]. Spadek stężenia tej frakcji białkowej w surowicy krwi, obserwowany u samic tej grupy, stwierdza się np. w stanach zapalnych [18]. W grupie tej obserwowano również istotny wzrost procentowego udziału we krwi frakcji β -globulin.

Obecność mocno wysyconego prążka β -globulin jest cechą charakterystyczną dla hipercholesterolemii. Wynika to z faktu, że cholesterol transportowany jest w surowicy krwi głównie przez lipoproteiny LDL, które w elektroforezie wykazują ruchliwość β -globulin.

Biorąc pod uwagę analizę statystyczną obserwowanych zmian można stwierdzić, że nie tylko płeć istotnie modyfikowała procentowy udział frakcji β -globulin w surowicy krwi. Obserwowano również istotną interakcję pomiędzy zastosowaną w doświadczeniu mieszaniną dodatków do żywności, a dietą (AxD), mieszaniną dodatków, a płcią (AxP) oraz między dietą, a płcią (DxP) dla tego parametru (Tab. 9). Wskazuje to na dominujący wpływ hormonów płciowych na badany parametr.

Pomimo istotnych zmian zawartości wybranych frakcji białkowych w surowicy krwi, nie stwierdzono wpływu zastosowanej mieszaniny dodatków do żywności na zmianę stosunku A/G w surowicy krwi zarówno u samców jak i u samic żywionych paszą zmodyfikowaną. (Tab. 7, Tab. 8), co może wskazywać na homeostatyczny przebieg zmian we frakcji albumin i globulin, pomimo zastosowanych czynników. Na zachowanie homeostazy wskazuje również kondycja i dobry stan zdrowia badanych zwierząt.

Podsumowując można stwierdzić, że rodzaj i ilości dodatków do żywności zastosowane w doświadczeniu, odpowiadające, w przeliczeniu na jednostkę masy ciała, średniemu spożyciu przez ludzi, wpływały na zmianę wybranych parametrów gospodarki białkowej, a analiza tych zmian potwierdza opinię innych autorów o bardzo indywidualnej reakcji organizmu na obecność w diecie dodatków do żywności. Jednak pomimo tego, przepro-

wadzona analiza statystyczna uzyskanych wyników, pozwoliła na zdefiniowanie określonych związków przyczynowo-skutkowych, pomiędzy zastosowanymi dodatkami a badanymi parametrami, mogących mieć istotny wpływ na funkcjonowanie organizmu.

W zakresie przemian białkowych były to istotne zmiany stężenia białka całkowitego i jego frakcji – albumin, α_1 - , α_2 - i β -globulin oraz frakcji γ -globulin we krwi badanych zwierząt, zmian które nie tylko mogą stanowić sprzyjające podłoże do pojawiania się niekorzystnych reakcji żywieniowych, lub też wskazywać na istniejące już zmiany, na co wskazuje obserwowany wzrost stężenia γ -globulin. Sugeruje to nie tylko rozważne stosowanie dodatków przy produkcji żywności ale też rozsądne korzystanie przez konsumentów z żywności zawierającej większe ich ilości.

WNIOSKI

Analiza uzyskanych wyników pozwoliła na stwierdzenie, że:

1. Zastosowana mieszanina dodatków do żywności powodowała istotne zmiany stężenia białka całkowitego i jego frakcji: albumin, α_1 -globulin, α_2 -globulin, β -globulin i γ -globulin w surowicy krwi badanych zwierząt, zmian które mogą wskazywać na, ale też przyczyniać się do ujawniania lub powstawania niepożądanych reakcji pokarmowych, szczególnie przy przekraczaniu zalecanych poziomów spożycia dla tych dodatków.
2. Odpowiedź organizmu na zastosowane dodatki i towarzyszącą im zmianę składu diety była istotnie związana z płcią badanych zwierząt.
3. Niekorzystny charakter zmian zachodzących pod wpływem zastosowanych dodatków, obserwowano zarówno u zwierząt karmionych paszą podstawową jak i zmodyfikowaną, z różnym jednak natężeniem, w zależności od badanego parametru, a nie grupy żywieniowej.

PIŚMIENNICTWO

1. Agrawal A., Suresh M.V., Singh S.K., Ferguson D.A.Jr.: The protective function of human C-reactive protein in mouse models of *Streptococcus pneumoniae* infection. *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets* 2008, 8, 231-237.
2. Anyszka J., Jackowska T.: Wartość diagnostyczna oznaczeń CRP w pediatrii. *Przegl. Med. Lab.* 2008, 1, 8, 12-16.
3. Augeni M., Galluzzo V., Nava C.: Allergic pathology due to enzymes: a case report of asthma due to pectinase (polygalacturonase). *Med. Lab.* 1997, 88, 489-494.
4. Bilczuk L.: Próba oceny ochronnego wpływu witaminy A na organizm szczurów narażonych na przedłużone

- działanie azotynu sodowego. *Bromat. Chem. Toksykol.* 1980, 13, 1, 49-54.
5. *Bilczuk L.*: Wpływ przedłużonego podawania azotynu sodowego na niektóre wskaźniki biochemiczne u zwierząt doświadczalnych. *Bromat. Chem. Toksykol.* 1980, 13, 1, 41-47.
 6. *Calkosiński I., Dobrzyński M., Calkosińska M., Seweryn E., Bronowicka-Szydełko A., Dzierżba K., Ceremuga I., Gamian A.*: Charakterystyka odczynu zapalnego. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2009, 63, 395-408.
 7. *Cylwik B., Szmitkowski M.*: Przydatność diagnostyczna β_2 -mikroglobuliny w praktyce klinicznej. *Pol. Merk. Lek.* 1997, 9, 224-227.
 8. *DiCello M.C., Myc A., Baker J.R., Baldwin J.L.*: Anaphylaxis After Ingestion of Carmine Colored Foods: Two Case Reports and a Review of the Literature; *Allergy and Asthma Proceedings* 1999, 20, 6, 377-382.
 9. *Duda Z.*: O substancjach dodawanych do żywności bez nadmiernej naukowości. *Przem. Spoż.* 2003, 57, 30-41.
 10. *Friedrich M., Sadowska J., Goluch-Koniuszy Z.*: Ocena wpływu składu diety i jej uzupełniania witaminami z grupy B na stężenie insuliny i wybranych wskaźników przemian białkowych u samic szczura. *Żyw. Nauka Technol. Jakość* 2009, 65, 361-367.
 11. *Gasque P.*: Complement: a unique innate immune sensor for danger signals. *Mol. Immunol.* 2004, 41, 1089-1098
 12. *Golebiowska-Gągala B., Szewczyk L.*: Regulacja hormonalna przemiany białkowo-aminokwasowej. *Endokrynol. Ped.* 2005, 12, 51-58.
 13. *Grobowska M., Mroczko B., Szmitkowski M.*: Białka surowicy – przydatność kliniczna oznaczania i rozdziału elektroforetycznego w przebiegu różnych chorób. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2003, 6, 641-650.
 14. *Gupta S., Aggarwal S., Heads C.*: Dysregulated immune system in children with autism: beneficial effects of intravenous immune globulin on autistic characteristics. *J. Autism Dev. Disord.* 1996, 26, 439-452.
 15. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2002, 40, 718-733.
 16. *Kägi M.K., Wüthrich B.*: Anaphylaxis following ingestion of carmin. *Ann. Allergy Astma Immunol.* 1996, 76, 269-298.
 17. *Kuchlewska M.*: Ocena, na modelu zwierzęcym, wpływu mieszanki wybranych dodatków do żywności na gospodarkę białkową i węglowodanowo-lipidową. Rozprawa doktorska, ZUT, Szczecin 2010.
 18. *Kulpa J., Duda K., Stasik Z., Mizianty M., Tarapacz J., Kubisz A.*: Dysproteinemia przedoperacyjna a pooperacyjne zmiany składu białek surowicy krwi i diurezy u chorych na raka płuca. *Diagn. Lab.* 1998, 34, 541-548.
 19. *Lucas C.D., Hallagan J.B., Taylor S.L.*: The role of natural colour additives in food allergy. *Adv. Food Nutr. Res.* 2001, 43, 195-216.
 20. *Mazur A., Ostański M., Szymanik I., Kalina-Faska B., Januszek-Trzcińska A.*: Tkanka tłuszczowa nasierdziowa – nowy wskaźnik stanu metabolicznego ustroju? *Endor. Otyłość, Zaburz. Przem. Materii* 2007, 3, 29-32.
 21. *Moneret-Vautrin D.A., Feldmann L., Kanny G., Baumann A.*: Incidente and risk factors for latent sensitization to chymopapain predictive skin-prick tests in 700 candidates for chemonucleolysis. *Clin. Exp. Allergy* 1994, 24, 471-476.
 22. *Morka J., Drożdż J.*: CRP – wskaźnik podwyższonego ryzyka i nowy cel terapii. *Forum Kardiologów* 2006, 11, 27-31.
 23. *Munchow J.*: Wpływ składu diety i rodzaju jej suplementacji składnikami mineralnymi na przemiany węglowodanowo-lipidowe u szczura. Rozprawa doktorska, Akademia Rolnicza, Szczecin 2003.
 24. *Polać I., Pytasz U., Stachowiak T., Pakalski A., Jędrzejczyk S., Pertyński T.*: Skład kwasów tłuszczowych tkanki tłuszczowej podskórnej i trzewnej u kobiet z nadwagą i otyłych w wieku pomenopauzalnym populacji Polski centralnej. Wpływ na profil lipidowy osocza. *Przeegl. Menopauz.* 2005, 6, 38-44
 25. PN-75/A-04018. Produkty rolniczo-żywnościowe. Oznaczanie azotu metodą Kjeldahla i przeliczanie na białko.
 26. *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. Materiały konferencyjne VI Krajowej Konferencji Adeptów Fizjologii, Poznań 8-9.05.2009, 13.
 27. *Rappaport F., Loew M.*: A stable standard for the colorimetric determination of total protein, albumin, globulin and fibrinogen. *Clin. Chim. Acta* 1957, 2, 126-130.
 28. *Remont S., Kanny G., Nicolas P., Moneret-Vautrin D.A.*: Prevalence of lysozyme sensitization in an egg-allergic population. *Allergy* 1997, 52, 224-228.
 29. *Roberts H.J.*: Aspartam as a cause of allergic reactions including anaphylaxis. *Arch. Intern. Med.* 1996, 156, 1027-1028.
 30. 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. z 2006 r. Nr 54, poz. 389.*
 31. *Sandiford C.P., Tee R.D.*: The role of cereal and fungal amylases in cereal flour hypersensitivity. *Clin. Exp. Allergy* 1994, 24, 549-557.
 32. *Sikora P.J., Kwiatkowska R.*: Przydatność kliniczna oznaczania białka C-reaktywnego i prokalcytoniny w diagnostyce i monitorowaniu zespołu uogólnionej odpowiedzi zapalnej. *Alerg. Astma Immun.* 2005, 10, 63-68.
 33. *Szostak-Węgierek D.*: Sacharoza i fruktoza a hipertriglicydemia. *Ped. Współcz. Gastroenterol. Hepatol. i Żyw. Dziecka* 2001, 3, 21-23.
 34. *Wilczek Z.*: Wpływ azotynu sodu na ciężar ciała i poziom methemoglobiny szczura. Praca magisterska. Uniw. Lubelski 1973/74.
 35. *Wüthrich B., Kägi M.K., Stücker W.*: Anaphylactic reactions to ingested carmine (E 120). *Allergy* 2007, 52, 1133-1137.
 36. *Zagórecka E., Piotrowicz J., Kaczmarek M., Piotrowska-Jastrzębska J.*: Nietolerancja substancji dodatkowych do żywności – aspekty pediatryczne. *Przem. Spoż.* 2000, 7, 8-22.

Otrzymano: 03.10.2011

Zaakceptowano do druku: 03.06.2012