

WPLYW ZIEMNIACZANEJ SKROBI OPORNEJ TYPU RS 4 NA SKŁAD KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W SUROWICY KRWI I W WĄTROBIE SZCZURÓW RASY WISTAR

*Danuta Figurska-Ciura, Marzena Styczyńska, Dagmara Orzeł, Artur Gryszkin,
Wacław Leszczyński, Alicja Żechałko-Czajkowska*

Katedra Technologii Rolnej i Przechowalnictwa,
Akademia Rolnicza we Wrocławiu

Wstęp

Modyfikacje skrobi w celu otrzymania preparatów o pożądanym cechach technologicznych, prowadzą często do uzyskania skrobi odpornej (RS) o właściwościach prozdrowotnych. Różne rodzaje RS wykazują przeważnie korzystne działanie fizjologiczne, m.in. poprzez obniżanie wartości energetycznej produktów [HEIJNEN, DEURENBERG 1995; LESZCZYŃSKI 2004, NUGENT 2005], a także wpływają na funkcje jelita grubego zwiększając objętość mas kałowych i zapobiegając zaparciom, polipom i owrzodzeniu [CIERPIKOWSKA, DRYWIEŃ 1999; HARALAMPU 2000].

Skrobia oporna wykazuje ponadto działanie prebiotyczne, polegające na zapewnieniu odpowiednich warunków dla rozwoju korzystnej mikroflory w jelicie grubym, co w rezultacie skutkuje ochronnym działaniem w rozwoju nowotworów jelita grubego [BURN i in. 1995; GIBSON, ROBERFROID 1995; HEIJNEN i in. 1998; HYLLE 1998; DE SCHRIJVER i in. 1999; LE LEU i in. 2003].

Wykazano również, że niektóre rodzaje skrobi odpornej obniżają stężenie glukozy, triglicerydów i cholesterolu we krwi [CHEZEM i in. 1997; LOPEZ i in. 2001; ROBERTSON i in. 2003]. Choć wpływ skrobi odpornej na poziom cholesterolu i lipidów we krwi zwierząt doświadczalnych oraz u ludzi nie jest jednoznaczny, według większości badań biologicznych wskaźniki te ulegają obniżeniu wskutek działania różnych typów RS [MARCHINI i in. 1998].

Mechanizmy działania hipocholesterolemicznego i hipolipidemicznego skrobi odpornej nie są do końca poznane. Formułowane są na ten temat różne hipotezy [VANHOOF, DE SCHRIJVER 2001; MARTINEZ-FLORES i in. 2004]. Przypuszcza się, że powstające w wyniku fermentacji RS w jelicie grubym krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (SCFA) obniżają aktywność enzymów regulujących syntezę kwasów tłuszczowych [FERNANDEZ 2000]. Zależnie od typu skrobi odpornej obserwowano tworzenie się różnych SCFA. RS 2 zwiększała stężenie kwasu octowego, zaś RS 3 kwasu propionowego w jelicie grubym [CUMMINGS 1996]. Uważa się, iż hipocholesterolemiczne działanie kwasu propionowego może wynikać z hamowania syntezy cholesterolu w wątrobie [KIM i in. 2003; SORAL-ŚMIETANA, WRONKOWSKA 2004;

ZIARNO 2004]. Obniżanie stężenia cholesterolu w surowicy krwi może być również wynikiem zwiększonego wydalania steroli z kałem [LOPEZ 1998; BROUNS i in. 2002].

Nieliczne badania wskazują, że niekompletnie trawiona skrobia może wywoływać dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego o słabym lub średnim nasileniu w postaci bólów brzucha, skurczów, wzdęć, a nawet biegunek, będące skutkiem nadmiernego gromadzenia cukrów przez mikroorganizmy [ENGLYST i in. 1996; ESCARPA i in. 1997; MARCHINI 1998; MARTINEZ-FLORES i in. 2004].

Materiał i metody

Celem pracy było zbadanie wpływu trzech preparatów skrobi ziemniaczanej typu RS 4 na skład kwasów tłuszczowych w surowicy krwi oraz w wątrobie szczurów rasy Wistar.

Preparaty skrobi odpornej typu RS 4 otrzymano w Katedrze Technologii Rolnej i Przechowalnictwa Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Badaniom poddano monofosforan skrobi ziemniaczanej (S1), monofosforan rozpuszczalnej skrobi ziemniaczanej (S2) oraz monofosforan skrobi ziemniaczanej ogrzewany z dodatkiem glicyny, poddany działaniu mikrofal (S3).

Uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach przy AR we Wrocławiu. Do badań użyto łącznie 72 szczury obu płci. 32 samce o średniej masie początkowej 225 g podzielono na 4 grupy ($n = 8$). 40 samic o średniej masie początkowej 160 g podzielono również na 4 grupy ($n = 10$). Doświadczenie prowadzono przez 4 tygodnie zgodnie ze schematem przedstawionym w tab. 1.

Tabela 1; Table 1

Schemat eksperymentu
Experimental schedule

Płeć Sex	Symbol grupy Group symbol	Zawartości skrobi odpornej w dietach (%) Resistant starch in diets (%)	Zawartości preparatów skrobi modyfikowanych ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ paszy); Amount of modified starch preparations ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ feed)		
			S1	S2	S3
Samce Males	K ♂	–	–	–	–
	S1 ♂	5	120	–	–
	S2 ♂	5	–	116	–
	S3 ♂	5	–	–	109
Samice Females	K ♀	–	–	–	–
	S1 ♀	5	120	–	–
	S2 ♀	5	–	116	–
	S3 ♀	5	–	–	109

K kontrola; control

S1 monofosforan skrobi ziemniaczanej; monophosphate of potato starch

S2 monofosforan rozpuszczalnej skrobi ziemniaczanej; monophosphate of potato starch soluble

S3 monofosforan skrobi ziemniaczanej ogrzewany z dodatkiem glicyny, poddany działaniu mikrofal; monophosphate of potato starch heated with glycine and microwaved were examined

Zwierzętom w grupach kontrolnych (K♂ i K♀) podawano zmodyfikowaną półsyntetyczną dietę dla gryzoni laboratoryjnych AIN – 93M [REEVES i in. 1993].

Modyfikacja polegała na zastosowaniu w diecie jako źródła węglowodanów skrobi pszennej zamiast kukurydzianej. Skład paszy w grupach kontrolnych podano w tab. 2.

Tabela 2; Table 2

Skład diety kontrolnej (K)
Composition of the control diet (K)

Składnik; Component	g·kg ⁻¹ diety; g·kg ⁻¹ diet
Skrobia pszenna; Wheat starch	620
Kazeina; Kasein	146
Sacharoza; Saccharose	100
Celuloza; Cellulose	50
Olej sojowy; Soya bean oil	40
Mieszanka mineralna AIN-93M-XK; Mineral mixture AIN-93M-XK	35
Mieszanka witaminowa płynna; Vitamin mixture liquid	5
Mieszanka witaminowa stała; Vitamin mixture solid	5
Cholina; Choline	2,5
Cysteina; Cysteine	1,8

W pozostałych grupach doświadczalnych półsyntetyczną dietę zmodyfikowano dodatkowo poprzez zastąpienie części skrobi pszennej jednym z badanych preparatów skrobi odpornej S1, S2 lub S3. Uwzględniając stopień oporności preparatów, ich dodatek do pasz obliczono w taki sposób, aby zawartość skrobi odpornej wynosiła 50 g·kg⁻¹ diety (5%) i aby diety doświadczalne były izokaloryczne. Oporność preparatów określono wg metody Englyst'a [ENGLYST, HUDSON 1996] na podstawie stopnia scukrzenia pod wpływem glukoamylazy w 60°C w czasie 120 min. Wynosiła ona odpowiednio: S1 – 42%, S2 – 43%, S3 – 46%.

W czasie doświadczenia co dwa dni kontrolowano spożycie paszy i pobranie wody, a raz w tygodniu przyrost masy ciała zwierząt.

Po zakończeniu eksperymentu zwierzęta usypiano, pobierano krew z serca oraz wypreparowywano wątrobę.

Oznaczenia zawartości kwasów tłuszczowych w surowicy krwi oraz w wątrobie wykonano metodą chromatografii gazowej.

Z surowicy krwi oraz ze zhomogenizowanych tkanek wątroby wyodrębniono lipidy wg metody Folcha [FOLCH i in. 1957]. W ekstraktach lipidowych przeprowadzono hydrolizę glicerydów i estryfikację uwolnionych kwasów tłuszczowych. W przypadku lipidów z surowicy krwi dokonano estryfikacji jednostopniowej zmodyfikowaną metodą SZYMCAKA [1979]. Lipidy uzyskane z wątroby poddano estryfikacji dwustopniowej.

Rozdział estrów metylowych kwasów tłuszczowych przeprowadzano na chromatografie gazowym 6890N firmy Agilent Technology z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym, wyposażonym w dozownik typu split i autosampler typ 7683.

Zastosowano następujące warunki rozdziału chromatograficznego:

- kolumna kapilarna o dł. 100 m, średnicy 0,25 mm, o grubości filmu fazy ciekłej 0,2 μm,
- gaz nośny – hel, przepływ 2 cm³ na min, ciśnienie 422 kPa,

- temperatura dozownika i detektora: 240°C,
- temperatura początkowa rozdziału: 165°C,
- czas trwania temperatury początkowej: 10 min,
- temp. końcowa rozdziału: 200°C z przyrostem temp. od 165°C do 200°C w tempie 2°C na min,
- czas trwania analizy: 60 min.

Identyfikację kwasów tłuszczowych przeprowadzano na podstawie porównania czasów retencji poszczególnych estrów metylowych kwasów tłuszczowych badanych próbek z czasami retencji estrów wzorcowych. Udziały procentowe poszczególnych kwasów tłuszczowych w ogólnej ilości kwasów tłuszczowych obliczano za pomocą programu komputerowego ChemStation v 4.0. firmy Agilent Technology.

Wpływ preparatów skrobi odpornej na skład kwasów tłuszczowych w surowicy krwi oraz w wątrobie u szczurów doświadczalnych oceniono metodą jednokierunkowej analizy wariancji ANOVA. Do testowania różnic między wartościami średnimi przy poziomie istotności $p < 0,05$ wykorzystano test Duncana. Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono wykorzystując program statystyczny Statistica 6.0 PL.

W tabelach wyników oraz na wykresach literami a, b, c oznaczono grupy jednorodne statystycznie.

Wyniki i dyskusja

W warunkach doświadczenia nie zaobserwowano żadnych niekorzystnych zmian w wyglądzie i zachowaniu zwierząt otrzymujących paszę z dodatkiem preparatów skrobi odpornej.

W tab. 3 przedstawiono średnie spożycie pasz i przyrosty masy ciała badanych zwierząt. Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w spożyciu pasz z preparatami skrobi odpornej w porównaniu do pasz kontrolnych. U samców średnie spożycie paszy wynosiło 18,6 g na dobę, u samic 12,2 g dobę.

Tabela 3; Table 3

Średnie spożycie paszy oraz średnie przyrosty masy ciała zwierząt w badanych grupach
Average feed intake and animal body weight gain in experimental groups

Płeć badanych zwierząt Sex	Grupa zwierząt Animal group	Spożycie paszy (g na dzień) Feed intake (g per day) $\bar{x} \pm SD$	Przyrost masy (g na 4 tygodnie); Body weight gain (g per 4 weeks) $\bar{x} \pm SD$
Samce Males (n = 32)	K♂ (n = 8)	20,88 ± 0,40 ^{a*}	50,75 ± 6,78 ^c
	S1♂ (n = 8)	18,58 ± 0,30 ^a	36,50 ± 7,23 ^b
	S2♂ (n = 8)	16,98 ± 0,24 ^a	25,12 ± 6,60 ^a
	S3♂ (n = 8)	18,18 ± 0,41 ^a	37,37 ± 16,89 ^b
Samice Females (n = 40)	K♀ (n = 10)	13,19 ± 0,21 ^a	22,22 ± 9,72 ^{ab}
	S1♀ (n = 10)	12,94 ± 0,32 ^a	24,00 ± 10,74
	S2♀ (n = 10)	11,00 ± 0,48 ^a	14,00 ± 6,99 ^a
	S3♀ (n = 10)	11,79 ± 0,25 ^a	17,00 ± 9,48 ^a

* a, b, c – grupy jednorodne statystycznie; statistically homogenous groups

W grupach samców karmionych dietą z dodatkiem RS stwierdzono mniejsze przyrosty masy ciała niż w grupie kontrolnej K♂. Najniższe przyrosty masy ciała o ok. 50% mniejsze niż w grupach kontrolnych K♂ i K♀, zaobserwowano w grupie samców i samic otrzymujących paszę z dodatkiem monofosforanu skrobi rozpuszczalnej (S2).

W badaniach innych autorów spożycie paszy z 5–20% dodatkiem skrobi odpornej przez szczury rasy Wistar wynosiło 21–22 g na dobę i było zbliżone do wyników uzyskanych w niniejszej pracy [LOPEZ i in. 2001; YOUNES i in. 2001].

Również w badaniach DE DECKERE i in. [1993], FERNANDEZ i in. [2000] i MARTINEZ i in. [2004] nie zaobserwowano zmian w wielkości spożycia pasz z dodatkiem RS w porównaniu ze spożyciem pasz kontrolnych przez samce szczurów rasy Wistar, a także inne zwierzęta doświadczalne – świnki morskie, chomiki. Nie stwierdzono także różnic w wielkości przyrostów masy ciała.

U samców szczurów rasy Sprague-Dawley karmionych dietą z dodatkiem ziemniaczanej i kukurydzianej skrobi odpornej spożycie paszy wahało się w zakresie 23–26 g na dobę i było o ok. 35% wyższe w porównaniu do spożycia paszy kontrolnej [ZHOU, KAPLAN 1997].

W badaniach YOUNES i in. [1995] podawano szczurom rasy Wistar pasze z 25% dodatkiem surowej skrobi ziemniaczanej. Stwierdzono istotny statystycznie wzrost spożycia paszy o 13% w porównaniu z grupami kontrolnymi. Nie wpłynęło to jednak na przyrosty masy ciała we wszystkich grupach zwierząt.

W tab. 4 przedstawiono wykaz oznaczanych kwasów tłuszczowych (KT) w surowicy krwi i w wątrobie badanych zwierząt doświadczalnych.

Tabela 4; Table 4

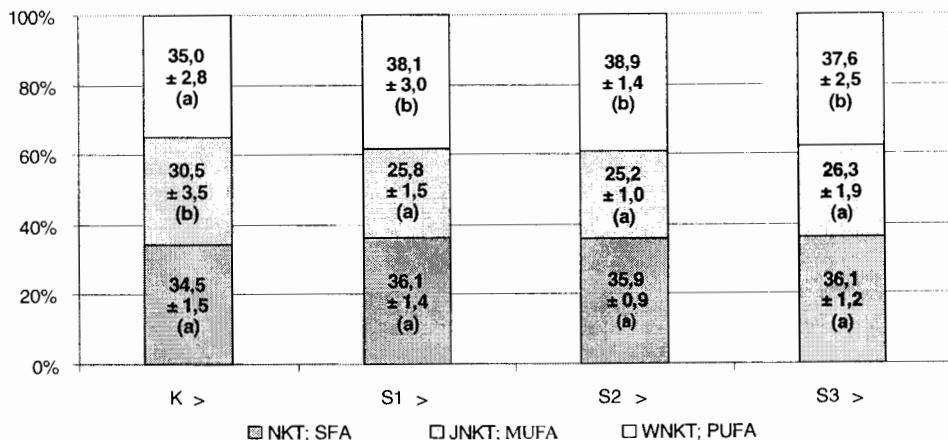
Kwasy tłuszczowe oznaczane w surowicy krwi i wątrobie zwierząt
Fatty acids determined in blood serum and liver of animals

Kwas tłuszczowy Fatty acid	Surowica krwi Blood serum	Wątroba Liver
Kapronowy C6; Caproic	–	+
Oktanowy C8; Caprylic	–	+
Nonanowy C9; Pelargonic	–	+
Kaprynowy C10; Capric	+	+
Laurynowy C12; Lauric	+	+
Mirystynowy C14; Myristic	+	+
Palmitynowy C16; Palmitic	+	+
Stearynowy C18; Stearic	+	+
Tetradecenowy C14 : 1; Myristoleic	–	+
Palmitolecinowy C16 : 1 n-7; Palmitoleic	+	+
Oleinowy C18:1 n-9; Oleic	+	+
Linolowy C18:2 n-6; Linolic	+	+
γ-linolenowy (GLA) C18 : 3 n-6; γ-linolenic	+	+
α-linolenowy C18 : 3 n-3; α-linolenic	+	+
Arachidonowy C20 : 4 n-6; Arachidonic	+	+
Eikozapentaenowy (EPA) C20 : 5 n-3; Eicosapentaenoic	+	+
Dokosaheksaenowy (DHA) C22 : 6 n-3; Docosahexaenoic	+	+

W surowicy krwi badanych zwierząt oznaczano 13 kwasów tłuszczowych, w tym pięć nasyconych kwasów tłuszczowych NKT (C10 : 0 – C18 : 0), dwa jednonienasycone kwasy tłuszczowe JNKT (C16 : 1 i C18 : 1) i sześć wielonienasyconych kwasów tłuszczowych WNKT (C18 : 2 – C22 : 6). Z wątroby wyizolowano 17 kwasów tłuszczowych, w tym osiem NKT (C6 : 0 – C18 : 0), trzy JNKT (C14 : 1 – C18 : 1) i sześć WNKT (C18 : 2 – C22 : 6).

W tab. 5 i 6 przedstawiono udziały procentowe poszczególnych kwasów tłuszczowych w surowicy badanych samców i samic. Wykazano zróżnicowany wpływ badanych preparatów na zawartość poszczególnych kwasów w surowicy. U zwierząt obu płci otrzymujących badane preparaty zaobserwowano wzrost udziału kwasu arachidonowego w surowicy. W grupach samców S1♂, S2♂ i S3♂ ilość tego kwasu wzrosła odpowiednio o 19, 31 i 17% w porównaniu z grupą kontrolną. W grupach samic istotne zmiany zawartości kwasu arachidonowego wystąpiły w grupach S1♀ i S2♀ (wzrost zawartości odpowiednio o 12 i 14%). W surowicy samców z grup S1♂, S2♂ i S3♂ i samic z grup S1♀ i S2♀, u których stwierdzono zwiększenie procentowego udziału kwasu arachidonowego, jednocześnie nastąpiło obniżenie udziału kwasu oleinowego średnio o 12–15% w porównaniu do udziału tego kwasu w surowicy grup kontrolnych.

Rozpatrując zawartość kwasów ogółem stwierdzono statystycznie istotny wzrost udziału WNKT w surowicy badanych samców otrzymujących w paszy preparaty skrobi odpornej w porównaniu do grupy kontrolnej i jednocześnie obniżenie udziału JNKT (rys. 1).



Rys. 1. Kwasy tłuszczowe nasycone (NKT) ogółem, jednonienasycone (JNKT) ogółem oraz wielonienasycone (WNKT) ogółem w surowicy samców (% kwasów tłuszczowych)

Fig. 1. Total content of saturated (SFA), monounsaturated (MUFA) and polyunsaturated (PUFA) fatty acids in serum of males (% fatty acids)

W grupach samic (rys. 2) odnotowano natomiast istotne obniżenie ilości JNKT u zwierząt otrzymujących preparaty S1 i S2 przy jednoczesnym nieznacznym wzroście ilości WNKT. Nie stwierdzono takiego wpływu w przypadku preparatu S3. Udział kwasów nasyconych ogółem w surowicy nie zmienił się pod wpływem diet zawierających skrobię oporną, pomimo iż występowały istotne zmiany udziału niektórych nasyconych kwasów tłuszczowych.

Tabela 5; Table 5

Skład kwasów tłuszczowych w surowicy krwi badanych samców (% kwasów ogółem)
Fatty acids' composition in blood serum of males (% total acid contents)

Grupa zwierząt Animals group	NKT* SFA*					JNKT* MUFA*		WNKT* PUFA*					
	C10 : 0	C12 : 0	C14 : 0	C16 : 0	C18 : 0	C16 : 1 n-9	C18 : 1	C18 : 2 n-6	C18 : 3 n-6	C18 : 3 n-3	C20 : 4 n-6	C20 : 5 n-3	C22 : 6 n-3
K ♂ (n = 8)	0,12 (a,b)**	0,11 (a)	0,88 (a)	23,36 (a)	10,05 (a)	4,09 (b)	26,41 (b)	17,58 (a)	0,26 (a)	1,30 (b)	12,89 (a)	0,59 (a)	2,33 (a)
± SD	0,10	0,02	0,11	0,70	1,37	0,52	3,86	2,74	0,05	0,37	2,89	0,35	0,33
S1 ♂ (n = 8)	0,21 (b)	0,23 (a)	0,92 (a)	23,12 (a)	11,60 (b,c)	3,40 (a)	22,40 (a)	18,47 (a)	0,27 (a)	1,06 (a)	15,37 (b)	0,49 (a)	2,47 (a)
± SD	0,22	0,24	0,18	1,95	1,68	0,43	1,38	2,68	0,06	0,32	1,63	0,12	0,31
S2 ♂ (n = 8)	0,06 (a)	0,12 (a)	0,81 (a)	22,82 (a)	12,15 (c)	3,39 (a)	21,78 (a)	17,58 (a)	0,33 (b)	0,99 (a)	16,93 (c)	0,58 (a)	2,47 (a)
± SD	0,04	0,07	0,12	1,00	0,71	0,70	0,48	2,25	0,08	0,26	1,74	0,14	0,35
S3 ♂ (n = 8)	0,16 (a,b)	0,26 (a)	0,88 (a)	23,63 (a)	11,17 (b)	3,35 (a)	22,98 (a)	18,29 (a)	0,26 (a)	1,18 (a,b)	15,09 (b)	0,50 (a)	2,27 (a)
± SD	0,16	0,42	0,16	1,14	1,00	0,45	1,55	2,20	0,04	0,29	2,06	0,10	0,33

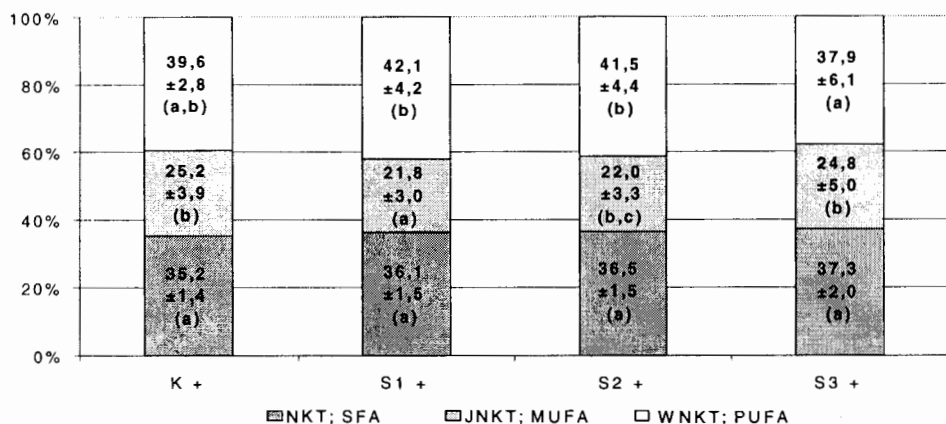
- * NKT; SFA – kwasy tłuszczowe nasycone; saturated fatty acid
JNKT; MUFA – kwasy jednonienasycone; monounsaturated fatty acid
WNKT; PUFA – kwasy wielonienasycone; polyunsaturated fatty acid
** a, b, c – grupy jednorodnie statystycznie; statistically homogenous groups

Tabela 6; Table 6

Skład kwasów tłuszczowych w surowicy krwi badanych samic (% kwasów ogółem)
Fatty acids' composition in blood serum of females (% total acid contents)

Grupa zwierząt Animals group	NKT* SFA*					JNKT* MUFA*		WNKT* PUFA*					
	C10 : 0	C12 : 0	C14 : 0	C16 : 0	C18 : 0	C16 : 1 n-9	C18 : 1 n-9	C18 : 2 n-6	C18 : 3 n-6	C18 : 3 n-3	C20 : 4 n-6	C20 : 5 n-3	C22 : 6 n-3
K ♀ (n = 10)	0,07 (a)**	0,10 (a)	0,74 (a)	20,64 (a,b)	13,67 (a)	3,04 (a)	22,18 (b)	15,80 (a)	0,40 (a)	1,08 (b)	17,49 (a)	0,69 (b)	4,11 (b)
± SD	0,05	0,05	0,13	1,03	1,32	0,62	3,29	1,16	0,06	0,21	3,11	0,08	0,45
S1 ♀ (n = 10)	0,13 (a,b)	0,14 (a,b)	0,74 (a)	19,88 (a)	15,19 (b)	2,39 (a)	19,43 (a)	16,21 (a)	0,36 (a)	1,01 (a,b)	19,55 (b)	0,65 (a,b)	4,32 (b)
± SD	0,09	0,07	0,21	1,78	0,93	0,60	2,55	1,79	0,10	0,50	3,14	0,10	0,98
S2 ♀ (n = 10)	0,16 (b)	0,14 (a,b)	0,75 (a)	20,94 (b)	14,46 (a,b)	2,51 (a)	19,48 (a)	15,81 (a)	0,40 (a)	0,85 (a)	19,87 (b)	0,61 (a)	4,00 (b)
± SD	0,18	0,05	0,16	1,78	1,60	1,18	3,19	2,22	0,10	0,25	2,86	0,13	0,55
S3 ♀ (n = 10)	0,17 (b)	0,15 (b)	0,96 (b)	21,61 (b)	14,39 (a,b)	2,99 (a)	21,79 (b)	15,80 (a)	0,36 (a)	0,95 (a, b)	16,84 (a)	0,59 (a)	3,39 (a)
± SD	0,16	0,08	0,36	1,48	1,11	1,60	3,96	2,54	0,07	0,18	3,54	0,13	0,73

*, ** Objaśnienia jak w tab. 5; Explanations see Tab. 5

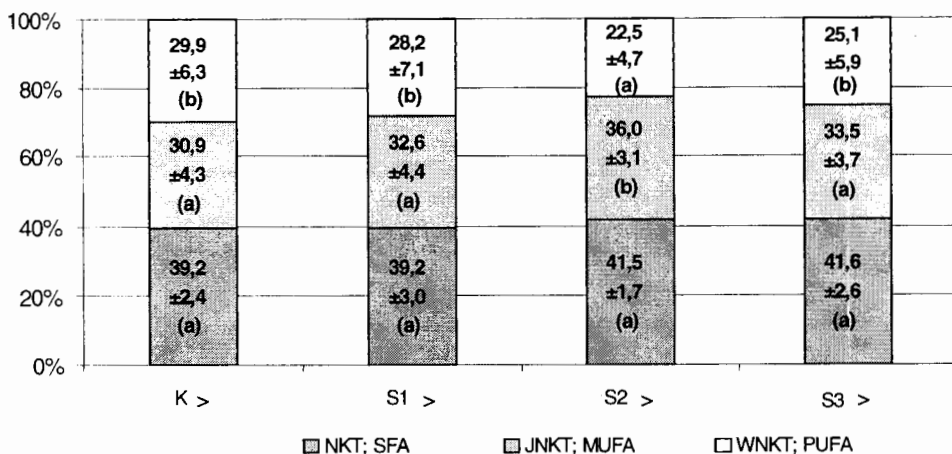


Rys. 2. Kwasy tłuszczowe nasycone (NKT) ogółem, jednonienasycone (JNKT) ogółem oraz wielonienasycone (WNKT) ogółem w surowicy samic (% kwasów tłuszczowych)

Fig. 2. Total content of saturated (SFA), monounsaturated (MUFA) and polyunsaturated (PUFA) fatty acids in serum of females (% fatty acids)

W tab. 7 i 8 podano zawartość poszczególnych kwasów tłuszczowych w wątrobie samców i samic. Stwierdzono statystycznie istotny wzrost zawartości kwasów oleinowego i palmitoleinowego oraz jednocześnie obniżenie zawartości kwasów linolowego i arachidonowego u samców otrzymujących preparat S2.

W wątrobie samic i samców z grup S1, S2 i S3 (rys. 3, 4) nie odnotowano istotnych statystycznie różnic w procentowym udziale NKT, JNKT i WNKT ogółem w porównaniu do grup kontrolnych. Wyjątek stanowiła grupa samców S2♂, w której stwierdzono wzrost zawartości JNKT z jednoczesnym obniżeniem udziału WNKT w wątrobie.



Rys. 3. Kwasy tłuszczowe nasycone (NKT) ogółem, jednonienasycone (JNKT) ogółem oraz wielonienasycone (WNKT) ogółem w wątrobie samców (% kwasów tłuszczowych)

Fig. 3. Total content of saturated (SFA), monounsaturated (MUFA) and polyunsaturated (PUFA) fatty acids in liver of males (% fatty acids)

Tabela 7; Table 7

Skład kwasów tłuszczowych w wątrobie samic (% kwasów ogółem)
Fatty acids' composition in liver of females (% total acid contents)

Grupa zwierząt Animals group	NKT* SFA*								JNKT* MUFA*			WNKT* PUFA*					
	C6	C8	C9	C10	C12	C14	C16	C18	C14 : 1	C16 : 1 n-9	C18 : 1 n-9	C18 : 2	C18 : 3 n-6	C18 : 3 n-3	C20 : 4 n-6	C20 : 5 n-3	C22 : 6 n-3
K ♀ (n = 10)	0,02 (a)**	0,10 (b)	0,07 (a)	0,08 (b)	0,11 (a)	1,07 (b)	24,64 (b)	11,06 (a,b)	0,08 (b)	4,90 (b)	23,68 (a,b)	12,19 (a)	0,42 (a)	0,71 (a)	13,54 (a,b)	0,56 (a)	6,78 (b)
± SD	0,03	0,07	0,02	0,04	0,05	0,28	2,42	1,88	0,04	1,25	2,44	2,14	0,10	0,21	2,28	0,11	1,08
S1 ♀ (n = 10)	0,02 (a)	0,06 (a)	0,06 (a)	0,04 (a)	0,10 (a)	0,84 (a)	22,83 (a)	12,51 (c)	0,05 (a)	3,65 (a)	22,78 (a)	13,37 (a,b)	0,43 (a)	0,75 (a)	14,69 (b)	0,53 (a)	7,30 (b)
± SD	0,02	0,03	0,03	0,01	0,03	0,16	1,67	1,37	0,02	0,74	2,60	1,52	0,05	0,14	1,59	0,06	1,42
S2 ♀ (n = 10)	0,03 (a)	0,07 (a)	0,06 (a)	0,06 (a)	0,10 (a)	0,85 (a)	23,55 (a,b)	11,77 (b,c)	0,06 (a)	3,54 (a)	22,80 (a)	13,83 (b)	0,48 (a)	0,75 (a)	14,54 (b)	0,51 (a)	7,02 (b)
± SD	0,03	0,02	0,01	0,03	0,05	0,22	2,42	1,96	0,02	1,21	2,64	2,16	0,12	0,12	1,83	0,06	1,11
S3 ♀ (n = 10)	0,02 (a)	0,06 (a)	0,07 (a)	0,05 (a)	0,09 (a)	1,06 (b)	25,08 (b)	10,43 (a)	0,08 (b)	4,71 (b)	24,94 (b)	12,97 (a,b)	0,46 (a)	0,71 (a)	12,82 (a)	0,53 (a)	5,92 (a)
± SD	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,38	3,25	2,10	0,04	1,58	2,87	2,87	0,10	0,17	2,44	0,12	1,39

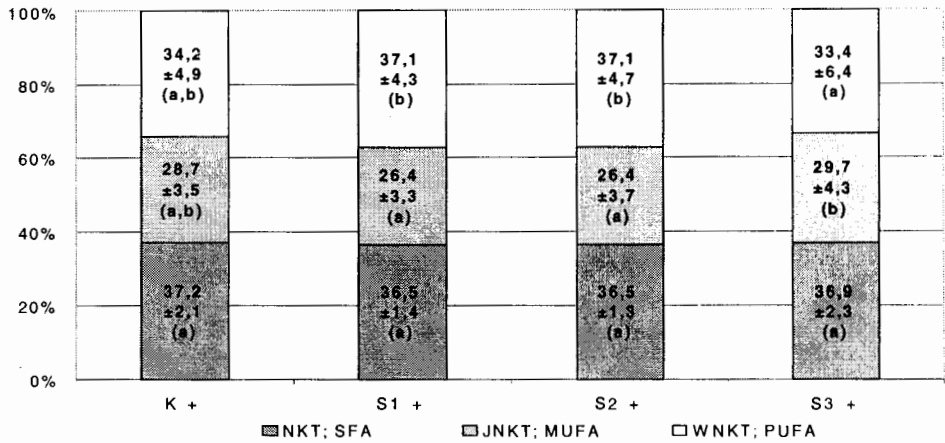
*, ** Objasnienia jak w tab. 5; Explanations see Tab. 5

Tabela 8; Table 8

Skład kwasów tłuszczowych w wątrobie samców (% kwasów ogółem)
Fatty acids' composition in liver of males (% total acid contents)

Grupa zwierząt Animals group	NKT* SFA*								JNKT* MUFA*			WNKT* PUFA*					
	C6	C8	C9	C10	C12	C14	C16	C18	C14 : 1	C16 : 1 n-9	C18 : 1 n-9	C18 : 2	C18 : 3 n-6	C18 : 3 n-3	C20 : 4 n-6	C20 : 5 n-3	C22 : 6 n-3
K ♂ (n = 16)	0,02 (a)**	0,07 (a)	0,05 (a)	0,06 (b)	0,07 (a,b)	1,16 (a)	27,95 (a)	9,76 (c)	0,08 (a,b)	5,90 (a)	24,98 (a)	12,14 (c)	0,22 (a)	0,62 (c)	12,59 (c)	0,43 (b)	3,88 (c)
± SD	0,04	0,03	0,03	0,03	0,02	0,32	3,16	1,47	0,03	1,57	2,90	2,89	0,03	0,19	2,44	0,09	0,82
S1 ♂ (n = 16)	0,03 (a)	0,05 (a)	0,06 (a)	0,04 (a)	0,06 (a)	1,16 (a)	28,88 (a)	8,90 (b,c)	0,07 (a)	5,97 (a)	26,59 (a,b)	11,49 (b,c)	0,23 (a)	0,54 (b,c)	11,84 (b,c)	0,39 (a,b)	3,69 (b,c)
± SD	0,04	0,03	0,02	0,02	0,02	0,15	3,11	1,22	0,02	1,19	3,33	3,39	0,04	0,25	2,63	0,12	0,84
S2 ♂ (n = 16)	0,04 (a)	0,06 (a)	0,06 (a)	0,06 (b)	0,13 (c)	1,61 (b)	32,04 (b)	7,49 (a)	0,13 (b)	7,57 (b)	28,30 (b)	8,78 (a)	0,24 (a)	0,35 (a)	9,89 (a)	0,35 (a)	2,90 (a)
± SD	0,02	0,02	0,02	0,02	0,08	0,29	2,93	1,64	0,04	1,40	1,96	1,65	0,04	0,08	2,24	0,07	0,74
S3 ♂ (n = 16)	0,03 (a)	0,05 (a)	0,05 (a)	0,05 (b,c)	0,10 (b,c)	1,55 (b)	31,63 (b)	8,05 (a,b)	0,10 (a,b)	6,89 (a,b)	26,49 (a,b)	10,00 (b,c)	0,24 (a)	0,43 (a,b)	10,70 (a,b)	0,37 (a,b)	3,27 (a,b)
± SD	0,02	0,03	0,02	0,02	0,04	0,36	3,24	1,42	0,04	1,45	2,28	2,26	0,05	0,16	2,56	0,09	0,87

*, ** objaśnienia jak w tab. 5; Explanations see Tab. 5



Rys. 4. Kwasy tłuszczowe nasycone (NKT) ogółem, jednonienasycone (JNKT) ogółem oraz wielonienasycone (WNKT) ogółem w wątrobie samic (% kwasów tłuszczowych)

Fig. 4. Total content of saturated (SFA), monounsaturated (MUFA) and polyunsaturated (PUFA) fatty acids in liver of females (% fatty acids)

Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w udziale NKT, JNKT oraz WNKT w wątrobie samic otrzymujących preparaty skrobi opornej S1, S2 i S3 w porównaniu do grupy kontrolnej.

W dostępnym piśmiennictwie brak jest dotychczas badań dotyczących wpływu skrobi opornej na skład kwasów tłuszczowych w organizmach żywych.

Zmiany zawartości kwasów tłuszczowych w surowicy krwi oraz w wątrobie u samców szczurów rasy Wistar pod wpływem badanych preparatów skrobi opornej RS 4 zaobserwowane w doświadczeniu mogą wskazywać kierunek dalszych badań nad ewentualnym wykorzystaniem tego rodzaju substancji w profilaktyce chorób układu krążenia.

Z względu na udział kwasu arachidonowego w czynnościach układu sercowo-naczyniowego wzrost jego ilości w surowicy zwierząt otrzymujących preparaty skrobi opornej wydaje się być szczególnie korzystny. Kwas ten stanowi substrat do syntezy hormonów tkankowych (prostaglandyn i innych eikozanoidów), które regulują ciśnienie krwi i agregację płytek [ZIEMLAŃSKI, BUDZYŃSKA-TOPOŁOWSKA 1991].

Zwiększenie udziału WNKT w organizmie w stosunku do nasyconych kwasów tłuszczowych przeciwdziała także hiperlipidemii. Związane jest to m.in. ze wzrostem pod wpływem WNKT liczby receptorów LDL na hepatocytach, co w konsekwencji prowadzi do zmniejszenia stężenia lipoprotein LDL w osoczu krwi [MICHAJLIK, BARTNIKOWSKA 1999; GRAJETA 2001].

Niniejsze wyniki badań dotyczyły wpływu skrobi opornej dodanej do diety prawidłowo zbilansowanej. Istotna wydaje się być kontynuacja badań nad wpływem skrobi opornej na skład kwasów tłuszczowych w organizmach żywych przy dietach wysokoenergetycznych, szczególnie wysokotłuszczowych.

Wnioski

1. W warunkach doświadczenia przy zastosowaniu 5% dodatku skrobi opornej do paszy nie stwierdzono niekorzystnych zmian w wyglądzie i zachowaniu szczurów rasy Wistar. Nie stwierdzono również statystycznie istotnych różnic w spożyciu paszy z dodatkiem preparatów skrobiowych w porównaniu do grup kontrolnych. U zwierząt otrzymujących monofosforan skrobi rozpuszczalnej (S2) wykazano o 50% mniejszy przyrost masy ciała w porównaniu do grup kontrolnych.
2. W surowicy krwi samców otrzymujących diety z dodatkiem skrobi opornej S1, S2 i S3 w porównaniu do grupy kontrolnej stwierdzono wzrost udziału WNKT ogółem i jednoczesne zmniejszenie udziału JNKKT ogółem. Nie obserwowano zmian udziału NKT ogółem pod wpływem badanych preparatów skrobi.
3. W surowicy krwi samców i samic karmionych dietami z dodatkiem preparatów skrobi opornych S1 i S2 stwierdzono istotny statystycznie wzrost udziału kwasu arachidonowego przy jednoczesnym obniżeniu się udziału kwasu oleinowego w stosunku do grup kontrolnych.
4. W badanych grupach zwierząt nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian zawartości NKT, JNKKT i WNKT ogółem w wątrobie pod wpływem diet z 5% dodatkiem skrobi opornej RS 4. Wyjątek stanowiła grupa samców S2 ♂, w której stwierdzono wzrost udziału JNKKT z jednoczesnym obniżeniem udziału WNKT w wątrobie.

Literatura

- BURN J., CHAPMAN P.D., MATHERS J., BERTARIO L., BISHOP D.T., BELOW S., CUMMINGS J., PHILIPS R., VASEN H. 1995. *The protocol for a European double-blind trial of aspirin and resistant starch in familial adenomatous polyposis the CAPP study*. Eur. J. Cancer 31A(8): 1385–1386.
- BROUNS F., KETTLITZ B., ARRIGONI E. 2002. *Resistant starch and „the butyrate revolution”*. Trends in Food Sci. & Tech. 13: 251–261.
- CHEZEM J.C., FURUMOTO E., STORY J. 1997. *Effects of resistant potato starch on cholesterol and bile acid metabolism in the rat*. Nutr. Res. 14(11/12): 1671–1682.
- CIERPIKOWSKA M., DRYWIEŃ M. 1999. *Skrobia oporna jako składnik żywności; wartość odżywcza i właściwości fizjologiczne*. Żyw. Człow. Metab. 36(2): 147–155.
- CUMMINGS J.H., BEATTY E.R., KINGMAN S.M., BINGHAM S.A., ENGLYST H.N. 1996. *Digestion and physiological properties of resistant starch in the human large bowel*. Br. J. Nutr. 75: 733–747.
- DE DECKERE E.A.M., KLOOTS W.J., VAN AMELVOORT J.M.M. 1993. *Resistant starch decreases serum total cholesterol and triacylglycerol concentrations in rats*. J. Nutr. 123: 2142–2151.

- DE SCHRIJVER R., VANHOOF K., GINSTE V. 1999. *Effect of enzyme resistant starch on large bowel fermentation in rats and pigs*. *Nutrit. Res.* 19(6): 927–936.
- ENGLYST H.N., HUDSON J.G. 1996. *The classification and measurement of dietary carbohydrates*. *Food Chem.* 57(1): 15–21.
- ENGLYST H.N., KINGMAN S.M., HUDSON G.J., CUMMINGS J.H. 1996. *Measurement of resistant starch in vitro and in vivo*. *Br. J. Nutr.* 75: 749–755.
- ESCARPA A., GONZÁLEZ M.C., MORALES M.D., SAURA-CALIXTO F. 1997. *An approach to the influence of nutrients and other food constituents on resistant starch formation*. *Food Chem.* 60(4): 527–532.
- FERNANDEZ M.L., SUHEETA R., VERGARA-JIMENEZ M.L. 2000. *Resistant starch and cholestyramine have distinct effects on hepatic cholesterol metabolism in guinea pigs fed a hypercholesterolemic diet*. *Nutr. Res.* 20(6): 837–849.
- FOLCH J., LEES M., STANLEY L.S. 1957. *A simple method for isolation and purification of total lipides from animal tissues*. *J. Biol. Chem.* 226: 497–509.
- GIBSON G.R., ROBERFROID M.B. 1995. *Dietary modulation of the human colonic microbiota introducing the concept of prebiotics*. *J. Nutr.* 125: 1401–1412.
- GRAJETA H. 2001. *Wpływ wybranych produktów pochodzenia roślinnego na gospodarkę lipidową szczurów w zależności od składu diet doświadczalnych*. AM, Wrocław, Rozprawa habilitacyjna.
- HARALAMPU S.G. 2000. *Resistant starch – a review of the physical properties and biological impact of RS3*. *Carbohydrate Polymers* 41: 285–292.
- HEIJNEN M.L.A., DEURENBERG P. 1995. *Replacement of digestible by resistant starch lowers diet-induced thermogenesis in healthy men*. *Br. J. Nutr.* 73: 423–432.
- HEIJNEN M.L.A., VAN AMELSVOORT J.M.M., DEURENBERG P., BEYNEN A.C. 1998. *Limited effect of consumption of uncooked (RS2) or retrograded (RS3) resistant starch on putative risk factors for colon cancer in healthy men*. *Am. J. Clin. Nutr.* 67: 322–331.
- HYLLA S., GOSTNER A., DUSEL G., ANGER H., BARTRAM H.P., CHRISTL S.U., KASPER H., SCHEPPACH W. 1998. *Effects of resistant starch on the colon in healthy volunteers possible implications for cancer prevention*. *Am. J. Clin. Nutr.* 67: 136–142.
- KIM W.K., CHUNG M.K., NAM E.K., MYUNG H.K., OCK J.P. 2003. *Effect of resistant starch from corn or rice on glucose control, colonic events, and blood lipid concentrations in streptozotocin-induced diabetic rats*. *J. Nutr. Biochem.* 14: 166–172.
- LE LEU R.K., BROWN I.L., HU Y., YOUNG G.P. 2003. *Effect of resistant starch on genotoxin-induced apoptosis, colonic epithelium and luminal contents in rats*. *Carcinogenesis* 24: 1347–1352.
- LESZCZYŃSKI W. 2004. *Resistant starch – classification, structure, production*. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 54, 13 Supl. II: 37–50.
- LOPEZ H.W., COUDRAY C., BELLANGER J., YOUNES H., DEMIGNÉ C., RÉMÉSY C. 1998. *Intestinal fermentation lessens the inhibitory effects of phytic acid on mineral utilization in rats*. *J. Nutr.* 128: 1192–1198.
- LOPEZ H.W., LEVRAT-VERNY M.A., COUDRAY C., BESSON C., KRESPINE V., MESSAGER A., DEMIGNÉ C., RÉMÉSY C. 2001. *Class2 resistant starches lower plasma and liver lipids and improve mineral retention in rats*. *J. Nutr.* 131: 1283–1289.

- MARCHINI J.S., FAISANT N., RANGANATHAN S., AZOULAY C., KERGUERIS M.F., KREMPF M. 1998. *Effect of an acute raw resistant potato starch supplement on postprandial glycaemia, insulinemia, lipemia in healthy adults*. *Nutrit. Res.* 18(7): 1135–1145.
- MARTINEZ-FLORES H.E., CHANG Y.K., MARTINEZ-BUSTOS F., SGARBIERI V. 2004. *Effects of high fiber products on blood lipids and lipoproteins in hamsters*. *Nutr. Res.* 24: 85–93.
- MICHAJLIK A., BARTNIKOWSKA E. 1999. *Lipidy i lipoproteiny osocza*. PZWL, Warszawa: 325 ss.
- NUGENT A.P. 2005. *Health properties of resistant starch. Review*. *Nutr. Bull.* 30: 27–54.
- REEVES G.P., NIELSEN H.F., FAHEY G.C. 1993. *AIN-93 purified diets for laboratory Rodents. Final Report of the American Institute of Nutrition ad hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76 A Rodens Diet*. *J. Nutr.* 123(11): 1939–1951.
- ROBERTSON M.D., CURRIE J.M., MORGAN L.M., JEWELL D.P., FRAYN K.N. 2003. *Prior short-term consumption of resistant starch enhances postprandial insulin sensitivity in healthy subject*. *Diabetologia* 46: 659–665.
- SORAL-ŚMIETANA M., WRONKOWSKA M. 2004. *Resistant starch – nutritional and biological activity*. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 54(13), Supl. I: 51–64.
- SZYMCZAK J. 1979. *Uproszczona metoda przygotowywania estrów metylowych kwasów tłuszczowych z osocza krwi do chromatografii gazowej*. *Diagn. Lab.* 25(5): 221–227.
- VANHOOF K., DE SCHRIJVER R. 2001. *Consumption of enzyme resistant starch and cholesterol metabolism in normo – and hypercholesterolemic rats*. *Eur. J. Nutr.* 40: 23–29.
- YOUNES H., LEVRAT M.A., DEMIGNÉ C., RÉMÉSY C. 1995. *Resistant starch is more effective than cholestyramine as a lipid-lowering agent in the rat*. *Lipids* 30: 847–853.
- YOUNES H., COUDRAY C., BELLANGER J., DEMIGNÉ C., RÉMÉSY C. 2001. *Effect of two fermentable carbohydrates (inulin and resistant starch) and their combination on calcium and magnesium balance in rats*. *Br. J. Nutr.* 86: 479–485.
- ZHOU X., KAPLAN M.L. 1997. *Soluble amylose cornstarch is more digestible than soluble amylopectin potato starch in rats*. *J. Nutr.* 127: 1349–1356.
- ZIARNO M. 2004. *Mechanizmy obniżania poziomu cholesterolu przez bakterie z rodzaju Lactobacillus*. *Zyw. Człow. Metab.* 31(2): 172–181.
- ZIEMLAŃSKI Ś., BUDZYŃSKA-TOPOŁOWSKA J. 1991. *Tłuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe*. PWN, Warszawa: 532 ss.

Słowa kluczowe: zwierzęta doświadczalne, skrobia oporna typu RS 4, kwasy tłuszczowe, chromatografia gazowa

Streszczenie

Zbadano wpływ skrobi opornej RS 4 zawartej w diecie na skład kwasów tłuszczowych w surowicy krwi oraz w wątrobie szczurów doświadczalnych.

4-tygodniowe doświadczenie zostało przeprowadzone na 32 samcach i 40 samicach szczurów rasy Wistar. Wyodrębniono grupy kontrolne, którym podawano *ad libitum* zmodyfikowaną syntetyczną paszę dla gryzoni laboratoryjnych AIN-93, oraz 3 grupy otrzymujące izokaloryczne diety zawierające 5% dodatek ziemniaczanej skrobi odpornej typu RS 4. Badaniom poddano następujące preparaty skrobi odpornej: monofosforan skrobi ziemniaczanej (S1), monofosforan rozpuszczalnej skrobi ziemniaczanej (S2) oraz monofosforan skrobi ziemniaczanej ogrzewany z dodatkiem glicyny, poddany działaniu mikrofal (S3).

W czasie trwania badań kontrolowano spożycie pasz i przyrosty masy ciała. Zawartość kwasów tłuszczowych w surowicy krwi oraz w wątrobie zwierząt oznaczono metodą chromatografii gazowej.

Stwierdzono, że wzbogacenie diety w preparaty skrobi odpornej miało wpływ na zawartość kwasów tłuszczowych w surowicy krwi badanych zwierząt. Zaobserwowano zwiększenie udziału wielonienasyconych kwasów tłuszczowych ogółem (WNKT) oraz jednoczesne obniżenie udziału jednonienasyconych kwasów tłuszczowych (JNKT) ogółem w surowicy samców. W grupach samców i samic karmionych dietami z dodatkiem skrobi odpornej (RS) odnotowano korzystny wzrost udziału kwasu arachidonowego w surowicy.

EFFECT OF POTATO RESISTANCE STARCH RS 4 TYPE ON COMPOSITION OF THE FATTY ACIDS IN BLOOD SERUM AND LIVER OF WISTAR RATS

*Danuta Figurska-Ciura, Marzena Styczyńska, Dagmara Orzeł, Artur Gryszkin,
Wacław Leszczyński, Alicja Zechałko-Czajkowska*
Department of Food Storage and Technology,
Agricultural University, Wrocław

Key words: laboratory animals, resistant starch RS 4, fatty acids, gas chromatography

Summary

The influence of resistant starch RS 4 on fatty acids composition in blood serum and liver of laboratory rats was investigated.

4 week experiment involved 32 males and 40 females of laboratory Wistar rats allotted in 4 groups in each sex. Control rats were fed *ad libitum* with standardized synthetic diet AIN-93. In experimental groups the animals were given modified feed enriched with 5% resistant starch. Monophosphate of potato starch (S1), monophosphate of potato starch soluble (S2) and monophosphate of potato starch heated with glycine and microwaved (S3), were examined. During the experiment period amount of consumed feed was monitored every two days and the rats were weighed once a week. Fatty acids composition in blood serum and liver was determined by gas chromatography method.

Diet enrichment with resistant starch influenced fatty acids composition in blood serum of the animals. Obtained results show that the amount of total poly-

unsaturated fatty acids (PUFA) increased and simultaneously the amount of total monounsaturated fatty acids (MUFA) decreased in blood serum of the males.

In blood serum of males and females fed the diets containing resistant starch (RS) favourable increase of arachidonic acid level was observed.

Dr inż. Danuta **Figurska-Ciura**
Zakład Żywienia Człowieka
Katedra Technologii Rolnej i Przechowywania
Akademia Rolnicza
ul. Norwida 25
50-375 WROCLAW
e-mail: figurska@wnoz.ar.wroc.pl