

ADAM JURGOŃSKI¹, JERZY JUŚKIEWICZ¹, MICHAŁ SÓJKA², BOGUSŁAW KRÓL³, EDWARD RÓJ³, ZENON ZDUŃCZYK¹

NASIONA PORZECZKI CZARNEJ PO EKSTRAKCJI NADKRYTYCZNEJ DITLENKIEM WĘGLA JAKO POTENCJALNY SUPLEMENT DIETY

BLACK CURRANT SEEDS AFTER SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE EXTRACTION AS A POTENTIAL DIETARY SUPPLEMENT

¹Zakład Biologicznej Analizy Żywności
Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN
10-747 Olsztyn, ul. J. Tuwima 10
e-mail: adam@pan.olsztyn.pl
Kierownik: prof. dr hab. Z. Zduńczyk

²Instytut Chemicznej Technologii Żywności
Politechnika Łódzka
90-924 Łódź, ul. B. Stefanowskiego 4/10
Kierownik: prof. dr hab. B.W. Król

³Zakład Ekstrakcji Nadkrytycznej
Instytut Nawozów Sztucznych
24-110 Puławy, Aleja Tysiąclecia Państwa Polskiego 13a
Kierownik: dr inż. E. Rój

Nasiona porzeczki czarnej (NPC) poddawano ekstrakcji i oceniono ich fizjologiczne oddziaływania u szczurów żywionych dietą fruktozową indukującą procesy oksydacyjne, hipertriglicydemię i hiperinsulinemię. Preparat obniżył aktywność enzymów glikolitycznych w śluzówce jelita cienkiego, natomiast zwiększył aktywność glikolityczną mikroflory jelita. Stwierdzono także wyraźne właściwości hipoglikemizujące nasion.

Słowa kluczowe: porzeczka czarna, ekstrakcja nadkrytyczna, fruktoza, glikemia, dieta
Key words: black currant, supercritical fluid extraction, fructose, glicaeamia, diet

WSTĘP

Porzeczka czarna (*Ribes nigrum* L.) jest rośliną należącą do rodziny agrestowatych o owocach bogatych w witaminę C. Średnia zawartość tej witaminy wynosi 183 mg/100 g surowca i spośród roślin dostępnych w naszym kraju ustępuje tylko najbogatszym pod tym względem owocom dzikiej róży [6]. Owoce porzeczki czarnej są również bogatym źródłem związków fenolowych (ponad 600 mg/100 g surowca), w których ok. 33% stanowią antocyjany o sil-

nych właściwościach przeciwutleniających i prozdrowotnych [2, 8]. Z żywieniowego punktu widzenia interesujące są również nasiona porzeczki czarnej (NPC), ze względu na wysoką zawartość wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, takich jak kwas α -linolenowy (18:3, n-3), linolowy (18:2, n-6) i γ -linolenowy (18:3, n-6) o korzystnej proporcji (4 do 1) kwasów n-6 do n-3 [12]. Olej uzyskiwany z NPC m.in. za pomocą ekstrakcji nadkrytycznej, z uwagi na obecny również w mleku matek karmiących kwas γ -linolenowy i inne kwasy tłuszczowe, jest stosowany jako źródło niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych w mieszankach dla niemowląt o niskiej urodzeniowej masie ciała [11].

W ostatnich latach w NPC zidentyfikowano także szereg substancji fenolowych o potencjalnej aktywności biologicznej. Była to piranocyjanina C i D oraz piranodelfinidyna C i D [9], dwa związki posiadające grupy nitrylowe (nigrumin-5-p-coumarate i nigrumin-5-ferulate), pochodne kwercetyny, mirycetyny i kemferolu [10], jak również różne antocyjany; glikozydy delfinidyny i cyjanidyny, aureozydyna oraz glikozydy kwasu fenolowego, cynamonowego i kumarynowego [8]. Z NPC wyizolowano ponadto polisacharydy o wysokiej masie cząsteczkowej, które w badaniach *in situ* hamowały adhezję *Helicobacter pylori* do błony śluzowej żołądka [7].

Przytoczone informacje wskazują, że produkty uboczne w procesie pozyskiwania oleju z NPC mogą być również cennym suplementem diety. Mając to na uwadze podjęto kompleksową ocenę oddziaływania NPC otrzymanych po ekstrakcji nadkrytycznej ditlenkiem węgla na przewod pokarmowy i metabolizm u szczurów laboratoryjnych żywionych modelową dietą wysokofruktozową, określoną w piśmiennictwie jako prooksydacyjna, indukująca hipertriglicerydemię i hiperinsulinemię [3].

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono za zgodą lokalnej komisji ds. doświadczeń na zwierzętach w Olsztynie. Materiałem badawczym były nasiona porzeczki czarnej (NPC) otrzymane po nadkrytycznej ekstrakcji ditlenkiem węgla w temperaturze 40-50°C i ciśnieniu 280 bar. Preparat NPC zawierał 25% białka ogółem i 57,9% błonnika pokarmowego oraz 4% tłuszczu. Doświadczenie przeprowadzono na 20 szczurach szczepu Wistar w wieku 7 tygodni i o początkowej masie ciała 189,1 g \pm 0.51. Zwierzęta, zestawione w dwie grupy (DF i DFN) po 10 sztuk, żywiono przez 2 tygodnie półsyntetycznymi dietami kazeinowymi. W grupie DF podawana dieta zawierała kazeinę (11,35%) uzupełnioną o DL-metioninę (0,15%), standardowe mieszanki witaminową (1%, AIN-93VX) i mineralną (3,5%, AIN-93MX), smalec wieprzowy (7%), cholesterol (1%), celulozę (5,79%), skrobię kukurydzianą (1,71%) oraz fruktozę (69%). Dietę podawaną w grupie DFN zmodyfikowano preparatem NPC (10%) dodanym zamiast celulozy, skrobi kukurydzianej i 2,5% kazeiny. Obie diety były wyrównane pod względem zawartości białka i błonnika pokarmowego.

Po 2 tygodniach doświadczalnego żywienia szczury usypiano 20% roztworem uretanu w soli fizjologicznej, ważono i dokonano laparotomii. Próbkę krwi pobrano z żyły ogonowej, następnie wypreparowano i zważono narządy wewnętrzne, jelito cienkie i ślepe. Śluzówkę jelita czczego, treść jelit cienkiego i ślepego oraz narządy wewnętrzne poddano analizie po uprzednim przechowywaniu w temperaturze -40°C. Aktywność śluzówkową disacharydaz (laktaza, maltaza i sacharaza) oznaczono w drugiej ćwiartce jelita cienkiego od strony żołąd-

Tabela I. Wskaźniki funkcjonowania przewodu pokarmowego
Indicators of gastrointestinal tract functioning

	DF	DFN
Jelito cienkie:		
Względna masa z treścią (g/100 g m.c.)	3,31 ± 0,36	3,41 ± 0,42
pH treści	7,20 ± 0,43	6,99 ± 0,31
Sucha masa treści (%)	22,1 ± 2,3**	19,2 ± 1,8
Aktywność disacharydaz (μmol/min/g):		
Sacharaza	40,1 ± 28,8**	33,8 ± 82,3
Maltaza	50,5 ± 2,6**	43,6 ± 22,5
Laktaza	17,7 ± 51,0***	11,9 ± 24,8
Jelito ślepe:		
Względna masa tkanki (g/100 g m.c.)	0,321 ± 0,36	0,301 ± 0,42
Względna masa treści (g/100 g m.c.)	1,206 ± 0,43	1,195 ± 0,31
pH treści	7,05 ± 0,31	7,00 ± 0,31
Sucha masa treści (%)	21,9 ± 2,3	22,1 ± 1,8
Amoniak (mg/g treści)	0,42 ± 0,31**	0,36 ± 0,31
Aktywność glikolityczna (μmol/h/g)		
α-glukozydaza	6,71 ± 1,61	10,03 ± 5,85
β-glukozydaza	2,05 ± 1,42	1,96 ± 1,07
α-galaktozydaza	2,97 ± 1,61	11,42 ± 4,83***
β-galaktozydaza	37,88 ± 8,13	47,66 ± 7,42**
β-glukuronidaza	5,48 ± 1,53	5,20 ± 1,17
Stężenie SCFA (μmol/g treści)		
Octowy	45,6 ± 10,37	54,8 ± 6,44*
Propionowy	10,0 ± 2,19	14,1 ± 2,30**
Izomasłowy	0,64 ± 0,26	0,56 ± 0,25
Masłowy	5,34 ± 1,48	7,68 ± 1,29**
Izowalerianowy	0,69 ± 0,21	1,00 ± 0,26**
Walerianowy	0,58 ± 0,23	0,95 ± 0,29**
Suma	62,8 ± 12,82	79,1 ± 8,61**

Objaśnienia:

DF – szczury na diecie fruktozowej,

DFN – szczury na diecie fruktozowej z dodatkiem nasion porzeczki czarnej po ekstrakcji, SCFA - krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe

Średnia ± SD, *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001

kowej zgodnie z metodą opisaną wcześniej [4] i wyrażono jako ilość μmoli zhydrolizowanego disacharydu na minutę na gram białka, oznaczonego standardową metodą wg *Lowry'ego*. Aktywność glikolityczną mikroorganizmów w jelicie ślepych wyrażono w przeliczeniu na ilość μmoli uwolnionego p-nitrofenolu z odpowiednich substratów na godzinę na gram treści. Pozostałe informacje dotyczące zastosowanych metod oznaczania poszczególnych parametrów opisano szczegółowo we wcześniejszych publikacjach autorów [5, 13].

Do statystycznej analizy danych zastosowano analizę wariancji w klasyfikacji prostej. Wyniki przedstawiono jako średnią \pm odchylenie standardowe (SD).

Tabela II. Parametry biochemiczne krwi i status przeciwutleniający
Biochemical parameters of blood and antioxidant status

	DF	DFN
Glukoza (mg/dl surowicy)	236,4 \pm 30,9*	206,2 \pm 30,7
Triglicerydy (mg/dl surowicy)	136,5 \pm 17,2	122,8 \pm 31,9
Cholesterol całkowity (mg/dl surowicy)	120,6 \pm 26,1	130,8 \pm 33,9
Cholesterol HDL (mg/dl surowicy)	49,6 \pm 4,9	47,5 \pm 7,2
Dysmutaza ponadtlekowa (U/ml krwi)	300,4 \pm 48,1	326,6 \pm 49,9
ACW (nmol/ml osocza)	51,7 \pm 1,8	57,3 \pm 1,6
ACL (nmol/ml osocza)	53,3 \pm 6,1	54,6 \pm 12,7
TBARS (nmol/g tkanki):		
Wątroba	76,1 \pm 7,2	77,6 \pm 4,2
Serce	80,7 \pm 13,6	78,3 \pm 12,2
Nerki	127,3 \pm 23,7*	107,3 \pm 11,5
Płuca	108,0 \pm 18,5	107,2 \pm 12,8

Objaśnienia:

DF – szczury na diecie fruktozowej,

DFN – szczury na diecie fruktozowej z dodatkiem nasion porzeczki czarnej po ekstrakcji,

ACW – pojemność przeciwutleniająca pochodząca od hydrofilnych przeciwutleniaczy,

ACL – pojemność przeciwutleniająca pochodząca od lipofilnych przeciwutleniaczy,

TBARS – substancje reagujące z kwasem tiobarbiturowym

Średnia \pm SD, * $p \leq 0,05$.

WYNIKI

Po czterech tygodniach podawania modelowych diet nie odnotowano różnic w wielkości spożycia diety (185-187 g/14 dni), przyrostach masy ciała zwierząt (36-38 g) oraz względnej masie narządów wewnętrznych (wątroby, serca, nerek i płuc) pomiędzy grupami DF i DFN. Nie stwierdzono również różnic w masie jelita cienkiego i ślepego szczurów (Tab. I). W grupie DFN odnotowano istotnie niższą zawartość suchej masy treści jelita cienkiego oraz niższą aktywność śluzówkowej sacharazy, maltazy i laktazy. W grupie DFN stwierdzono również obniżenie stężenia amoniaku w treści jelita ślepego oraz podwyższenie aktywności niektórych enzymów mikrobiologicznych, α - i β -galaktozydazy. Zastosowanie preparatu NPC w diecie spowodowało wzrost stężenia krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA), poza izo-

maślanem. W treści jelita ślepego pH było zbliżone, natomiast w treści okrężnicy istotnie zróżnicowane; 6,97 w grupie DF i 6,55 w grupie DFN ($p \leq 0,001$).

W porównaniu do grupy kontrolnej żywienie szczurów dietą z dodatkiem badanych nasion spowodowało istotne obniżenie zawartości glukozy we krwi i substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) w tkance nerek, nie wpłynęło natomiast na zawartość triglicerydów, cholesterolu całkowitego i frakcji HDL, aktywność dysmutazy ponadtlenkowej, potencjał przeciwutleniający krwi oraz zawartość TBARS w tkance wątroby, serca i płuc (Tab. II).

DYSKUSJA

Zastosowanie NPC po ekstrakcji nadkrytycznej ditlenkiem węgla istotnie obniżyło aktywność enzymów glikolitycznych w śluzówce jelita cienkiego oraz zwiększyło aktywność glikolityczną mikroflory jelita ślepego szczurów. Prawie czterokrotny wzrost aktywności α -galaktozydazy oraz istotnie podwyższona aktywność β -galaktozydazy wskazują, że preparat NPC zwiększał ilość łatwo fermentowanych składników docierających do jelita ślepego, głównego miejsca fermentacji bakteryjnej u szczura. Z pracy *Lengsfelda* i wsp. [7] wynika, że w nasionach porzeczki są to polimery galaktozy o wiązaniach 1,3-glikozydowych wraz z bocznymi łańcuchami zawierającymi cząsteczki kwasu galakturonowego, galaktozy i arabinozy. Na zawartość łatwo fermentowanych frakcji błonnika pokarmowego w badanych nasionach wskazuje również zwiększona produkcja SCFA i obniżenie stężenia amoniaku w jelicie ślepym.

W opisywanym doświadczeniu preparat NPC nie wpłynął na profil lipidowy krwi, natomiast obniżył stężenie glukozy w surowicy do poziomu obserwowanego wcześniej u zdrowych szczurów tego samego szczepu, żywionych standardową dietą kazeinowo-skrobiową [5]. Odnotowane właściwości hipoglikemizujące badanych nasion można w części tłumaczyć obniżeniem aktywności disacharydaz w śluzówce jelita cienkiego, co było obserwowane w naszym doświadczeniu. Zwiększoną aktywność disacharydaz wskazuje się jako jedną z przyczyn podwyższonej glikemii poposiłkowej [1].

Analizowane parametry statusu antyoksydacyjnego organizmu, jak aktywność dysmutazy ponadtlenkowej oraz pojemność przeciwutleniająca osocza krwi pochodząca od hydrofilnych (ACW) lub hydrofobowych (ACL) przeciwutleniaczy wskazują, że właściwości przeciwutleniające *in vivo* NPC po ekstrakcji były relatywnie niskie. Jedynie w nerkach stwierdzono obniżenie zawartości wskaźnika peroksydacji lipidów (TBARS), co może wskazywać, że filtrowane produkty metabolizmu badanych nasion wykazywały właściwości przeciwutleniające.

WNIOSKI

Nasiona porzeczki czarnej po ekstrakcji nadkrytycznej ditlenkiem węgla, zawierające 57,9% błonnika pokarmowego, 25% białka ogółem i 4% tłuszczu, korzystnie obniżają aktywność enzymów glikolitycznych śluzówki jelita cienkiego, a zwiększają aktywność glikolityczną mikroflory jelita grubego skutkującą zwiększoną produkcją SCFA. Dieta z zawartością badanych nasion wykazuje działanie hipoglikemizujące oraz relatywnie niskie oddziaływanie przeciwutleniające *in vivo*.

A. Jurgoński, J. Juśkiewicz, M. Sójka, B. Król, E. Rój, Z. Zduńczyk

NASIONA PORZECZKI CZARNEJ PO EKSTRAKCJI NADKRYTYCZNEJ DITLENKIEM
WĘGLA JAKO POTENCJALNY SUPLEMENT DIETY

STRESZCZENIE

Celem pracy była ocena fizjologicznego oddziaływania nasion porzeczki czarnej po ekstrakcji nadkrytycznej ditlenkiem węgla na przewod pokarmowy oraz metabolizm u szczurów użytych jako model doświadczalny. Zastosowany preparat zawierał 25% białka ogółem i 57,9% błonnika pokarmowego oraz 4% tłuszczu. Szczury, zestawione w dwie grupy po 10 sztuk, żywiono przez 4 tygodnie półsyntetycznymi dietami kazeinowymi z wysoką zawartością fruktozy (69%). Obie diety były wyrównane pod względem zawartości białka i błonnika pokarmowego. Włączenie do diety badanych nasion (10% zamiast celulozy, skrobi kukurydzianej i 2,5% kazeiny) obniżyło aktywność enzymów glikolitycznych śluzówki jelita cienkiego, a zwiększyło aktywność glikolityczną mikroflory jelita, skutkującą zwiększoną produkcją krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w jelicie ślepym. Stwierdzono wyraźne właściwości hipoglikemizujące badanego preparatu, natomiast jego właściwości przeciwutleniające były relatywnie niskie i jedynie w nerkach stwierdzono obniżenie zawartości substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym.

A. Jurgoński, J. Juśkiewicz, M. Sójka, B. Król, E. Rój, Z. Zduńczyk

BLACK CURRANT SEEDS AFTER SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE EXTRACTION AS A
POTENTIAL DIETARY SUPPLEMENT

SUMMARY

The aim of this study was to estimate the physiological effects of black currant seeds after supercritical carbon dioxide extraction on the gastrointestinal tract and metabolism of rats used as an experimental model. The preparation contained 25% of total protein, 57.9% of dietary fiber and 4% of fat. Young Wistar rats divided into two experimental groups of 10 animals each, were fed for 28 days using semi-purified casein diets with a high fructose content (69%). The diets contained the same amount of protein and fiber. An inclusion of the tested seeds to the diet (10% as expense of cellulose, corn starch and part of casein) lowered the activity of glycolytic enzymes in the mucosa of the small intestine, whereas intestinal microflora elevated its glycolytic activity, and in consequence, increased production of short-chain fatty acids in the caecum. A distinct hypoglycemic actions of the tested preparation were also observed, while its antioxidant properties were found to be rather low and expressed by the decreased content of thiobarbituric acid-reactive substances in the kidney tissue.

PIŚMIENNICTWO

1. *Adachi T., Mori C., Sakurai K., Shihara N., Tsuda K., Yasuda K.*: Morphological changes and increased sucrase and isomaltase activity in small intestines of insulin-deficient and type 2 diabetic rats. *Endocr. J.* 2003, 50, 271-279.
2. *Benvenuti S., Pellati F., Melegari M., Bertelli D.*: Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of rubus, ribes, and aronia. *J. Food Sci.* 2004, 69, 164-169

3. *Busserolles J., Gueux E., Rock E., Demigne C., Mazur A., Rayssiguier Y.*: Oligofructose protects against the hypertriglyceridemic and pro-oxidative effects of a high fructose diet in rats. *J. Nutr.* 2003, 133, 1903-1908.
4. *Dahlqvist A.*: Method for assay of intestinal disaccharidases. *Anal. Biochem.* 1964, 7, 18-25.
5. *Jurgoński A., Juśkiewicz J., Zduńczyk Z.*: Comparison of the effects of chokeberry fruit extract, chicory flour and their dietary combination on blood parameters and antioxidant status of healthy and diabetic rats. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2008, 58, 279-284.
6. *Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K.*: Tabele składu i wartości odżywczej żywności. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2005.
7. *Lengsfeld C., Deters A., Faller G., Hensel A.*: High Molecular Weight Polysaccharides from Black Currant Seeds Inhibit Adhesion of *Helicobacter pylori* to Human Gastric Mucosa. *Planta Med.* 2004, 70, 620-626.
8. *Lu Y., Foo L.Y.*: Polyphenolic constituents of blackcurrant seed residue. *Food Chem.* 2003, 80, 71-76.
9. *Lu Y., Foo L.Y., Sun Y.*: New pyranoanthocyanins from blackcurrant seeds. *Tetrahedron Lett.* 2002a, 43, 7341-7344.
10. *Lu Y., Foo L.Y., Wong H.*: Nigrumin-5-p-coumarate and nigrumin-5-ferulate, two unusual nitrile-containing metabolites from black currant (*Ribes nigrum*) seed. *Phytochemistry* 2002b, 59, 465-468.
11. *Respondek W.*: Zalecenia dotyczące zawartości długołańcuchowych kwasów tłuszczowych w diecie niemowlęcej. *Pediatrics Współczesna. Gastroenterologia, Hepatologia i Żywnienie Dziecka* 2001, 3, 33-35.
12. *Večeřa R., Kottová N., Váňa P., Kazdová L., Chmela Z., Vagera Z., Walterová D., Ulrichová J., Imánek V.*: Antioxidant status, lipoprotein profile and liver lipids in rats fed on high-cholesterol diet containing currant oil rich in n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *Physiol. Res.* 2003, 52, 177-187.
13. *Zduńczyk Z., Król B., Juśkiewicz J., Wróblewska M.*: Biological properties of fructooligosaccharides with different contents of kestose and nystose in rats. *Arch. Anim. Nutr.* 2005, 59, 247-256.

Otrzymano: 11.06.2008 r.

Akceptowano: 05.09.2008 r.

