

AKADEMIA MEDYCZNA W GDAŃSKU

Anna Lebedzińska

**OCENA ŻYWNOŚCI JAKO ELEMENTU ŚRODOWISKA
CZŁOWIEKA W OPARCIU O BADANIA ZAWARTOŚCI
WITAMIN GRUPY B – IMPLIKACJE ANALITYCZNE**

Rozprawa habilitacyjna

Katedra i Zakład Bromatologii Akademii Medycznej w Gdańsku

Kierownik Katedry: prof. dr hab. Piotr Szefer

GDAŃSK 2006

Wydano za zgodą
Senackiej Komisji Wydawnictw Akademii Medycznej w Gdańsku

© Copyright by Medical University of Gdańsk

Wydawca: *Akademia Medyczna w Gdańsku*
Druk: *Dział Wydawnictw AMG*
ul. Marii Skłodowskiej-Curie 3a,
Zlecenie KW/426/06

*Panu prof. dr hab. Piotrowi Szeferowi
składam serdeczne podziękowania
za wsparcie, twórczą dyskusję oraz
życzliwą atmosferę w czasie realizacji tej pracy*

SPIS TREŚCI

| | |
|---|-----------|
| WYKAZ PUBLIKACJI BĘDĄCYCH PRZEDMIOTEM ROZPRAWY HABILITACYJNEJ..... | 7 |
| I. WSTĘP..... | 9 |
| ŻYWNOŚĆ NOWEJ GENERACJI | 11 |
| REKOMENDACJE ŻYWIENIOWE | 12 |
| OCENA WARTOŚCI ODŻYWCZEJ ŻYWNOŚCI..... | 13 |
| II. CEL PRACY..... | 16 |
| III. OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ OPUBLIKOWANYCH W POSZCZEGÓLNYCH PRACACH..... | 17 |
| NOWE METODY ANALITYCZNE WYKORZYSTUJĄCE TECHNIKĘ HPLC DO OZNACZANIA WITAMIN GRUPY B W ŻYWNOŚCI I SUPLEMENTACH DIETY (1, 2)..... | 17 |
| BROMATOLOGICZNA OCENA ŻYWNOŚCI JAKO ELEMENTU ŚRODOWISKA CZŁOWIEKA W OPARCIU O ZAWARTOŚĆ WITAMIN GRUPY B W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH I DIETACH SPORTOWCÓW W ŚWIETLE REKOMENDACJI ŻYWIENIOWYCH (3, 4, 5, 6, 7) | 20 |
| OCENA SPOSOBU ŻYWIENIA MŁODZIEŻY AKADEMICKIEJ, CHEMOMETRYCZNA METODYKA INTERPRETACJI WYNIKÓW BADAŃ (8)..... | 26 |
| IV. PODSUMOWANIE | 28 |
| V. WNIOSKI | 29 |
| VI. PIŚMIENNICTWO..... | 30 |
| VII. ODBITKI PUBLIKACJI STANOWIĄCYCH PRZEDMIOT ROZPRAWY HABILITACYJNEJ..... | 33 |

WYKAZ PUBLIKACJI BĘDĄCYCH PRZEDMIOTEM ROZPRAWY HABILITACYJNEJ

1. Lebiedzińska A., Marszałł M.: Fruit juices and fruit drinks the source of vitamins B - HPLC determination of water soluble vitamins in a wide range of fortified juices and drinks, *Polish Journal of Environmental Studies* 15, 1318-1321 (2006).
2. Marszałł L.M., Lebiedzińska A., Czarnowski W., Szefer P.: High-performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of thiamine hydrochloride, pyridoxine hydrochloride and cyanocobalamin in pharmaceutical formulations using coulometric electrochemical and ultraviolet detection, *Journal of Chromatography A* 1094, 91-98 (2005).
3. Lebiedzińska A., Szefer P.: Vitamins B in grain and cereal-grain food, soy-products and seeds, *Food Chemistry* 95, 116-122 (2006).
4. Lebiedzińska A.: Fish and shellfish as a source of vitamins B - own results in a view of literature data, *Polish Journal of Environmental Studies* 15, 1322-1327 (2006).
5. Lebiedzińska A., Żbikowski R., Czaja J., Szefer P.: Assessment of energy, carbohydrates, vitamin B₁ and chromium in daily food rations of the Polish National Team of Athletes, *Polish Journal of Environmental Studies* 15, 403-406 (2006).
6. Lebiedzińska A., Żbikowski R., Czaja J., Szefer P.: Content of vitamins B₁₂, C, folate and the essentials trace elements in daily food rations of the Polish National Team of Athletes, *Polish Journal of Environmental Studies* 15, 124-126 (2006).
7. Lebiedzińska A., Żbikowski R., Czaja J., Marszałł M., Szefer P.: Ocena sposobu żywienia Kadry Narodowej Polskich Lekkoatletów. Porównanie wyników badań analitycznych z oceną teoretyczną. Część I – wybrane podstawowe składniki odżywcze i witaminy grupy B. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* 39, 327-330 (2006).
8. Lebiedzińska A., Kostrzewa A., Ryśkiewicz J., Żbikowski R., Szefer P.: Preferences, consumption and choice factors of fish and seafood among university students, *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 15/56, 1, 91-96 (2006).

I. WSTĘP

We współczesnym świecie czynniki środowiskowe, warunki bytowe i rozwój samego człowieka, jako pochodna jego biologicznych dążeń do zachowania długiego życia w dobrym zdrowiu, ma istotne znaczenie cywilizacyjne. Obecnie rozwój cywilizacji przybiera formy, które z racji zjawisk ubocznych mogą stanowić zagrożenie zdrowia i życia człowieka. Średnia długość życia uległa znacznemu wydłużeniu, natomiast tryb życia coraz bardziej odbiega od modelu, wypracowanego przez pokolenia. Przewlekłe napięcie emocjonalne sprzyja powstawaniu zaburzeń psychosomatycznych objawiających się rosnącą liczbą zachorowań na chorobę wrzodową żołądka i dwunastnicy, obniżeniem odporności, co może prowadzić do częstych infekcji wirusowych i bakteryjnych, w tym do rozwoju chorób nowotworowych, a także wpływem na ujawnianie się takich chorób jak nadciśnienie, zawał mięśnia sercowego czy udar mózgu [1].

Osiadły tryb życia, a zwłaszcza proces domestykacji, doprowadził do powstania nowych zespołów czynników łączących żywienie oraz otoczenie biotyczne i abiotyczne warunków bytowania człowieka. Elementami tymi, w ujęciu holistycznym, są czynniki środowiskowe (sposób żywienia, higiena komunalna), jak i jego stan psychiczny. Na zdrowie człowieka wpływają bodźce fizykochemiczne, sfera emocjonalna, uwarunkowania społeczne, a także wiedza kształtująca potrzeby żywieniowe (dobór składników odżywczych, przygotowanie pokarmów i styl życia). Dzięki regulacjom fizjologicznym organizm może adaptować się do zmiennych warunków otaczającego środowiska. Bardzo ważna jest integrująca rola procesów endogennych organizmu, którego homeostaza i homeoreza (zgranie czynników rozwojowych) są określane na drodze determinacji genetycznej i uwarunkowań środowiskowych. Genotyp danej osoby ma wpływ na aktywność neurohormonalną, jednak do wydzielenia hormonów konieczne są składniki żywności. Elementy środowiska, w tym żywność, stymulują więc gospodarkę hormonalną. Hormony stymulują geny do kodowania białek z pozyskanego pokarmu, wpływają również na biosyntezę i czynności enzymów, które z kolei są zależne od spożytych składników pokarmowych (białek, związków mineralnych i witamin). Te wzajemne zależności dotyczą wszystkich procesów fizjologicznych, przy czym podstawowym mechanizmem utrzymywania równowagi jest gospodarka wodno-mineralna [2].

Badania epidemiologów i żywieniowców prowadzone w ostatnich latach wskazują, że pomiędzy sposobem żywienia, stanem odżywienia, a zdrowiem i samopoczuciem człowieka występują istotne zależności. Choroby cywilizacyjne są konsekwencją niewłaściwego stylu życia, na który składają się stres emocjonalny, nieprawidłowa dieta i niska aktywność fizyczna. Wadliwie skomponowane posiłki są szczególnie ważnymi czynnikami środowiskowymi determinującymi występowanie wielu żywieniowo-zależnych chorób metabolicznych. Wysokoenergetyczne, tłuste i bogate w cukry pokarmy są głównym sprawcą powstawania otyłości i miażdżycy oraz chorób z nimi związanych tj. cukrzycy, zawału, zatoru i choroby niedokrwiennej serca [3, 4, 5, 6]. Profilaktyka żywieniowa to jeden z istotnych elementów prewencji chorób cywilizacyjnych, mogących przyczynić się do poprawy stanu zdrowia ludzi; wymaga ona pełniejszego poznania, w jaki sposób czynniki genetyczne i środowiskowe działają, powodując zaburzenia prawidłowego przebiegu procesów biochemicznych organizmu człowieka. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) w 2004 roku ogłosiła Globalną Strategię WHO dotyczącą diety, aktywności fizycznej i zdrowia [5]. Zaleca się, między innymi, by dieta współczesnego człowieka oparta była na produktach bogato-węglowodanowych z dużą zawartością błonnika i niskim indeksem glikemicznym (GI). Preferuje się zwiększenie spożycia

nisko przetworzonej żywności złożonej z produktów zbożowych, jarzyn i owoców bogatych w witaminy, bioflawonoidy i błonnik pokarmowy, a także bogatej w jedno- i wielonienasycone kwasy tłuszczowe. Żywieniowcy zwracają uwagę na zbyt niskie spożycie ryb. Ryby są naturalnym źródłem pełnowartościowego białka, obfitują w polienowe nienasycone kwasy tłuszczowe z rodziny *omega-3*, ponadto zawierają cenne mikroelementy takie jak: jod, cynk, miedź, żelazo i witaminy A, D, B₁₂, B₆, B₂ i PP. Dieta powinna być zróżnicowana, a podaż energii odpowiednia do utrzymania pożądanej wagi ciała [7, 8].

Racjonalne, pozwalające zachować zdrowie odżywianie, to również uwzględnianie indywidualnych upodobań. W ostatnich latach zwrócono uwagę na problemy żywieniowe występujące zwłaszcza u młodych kobiet, najczęściej aktywnych fizycznie, które starają się ograniczyć swoją masę ciała do minimum. Taka postawa może prowadzić do zaburzeń hormonalnych, zmniejszenia gęstości kości i wtórnie do zaburzeń przyjmowania pokarmu; może wywołać bulimie i jadłowstręt psychiczny (*anorexia nervosa*) [2]. Złe nawyki żywieniowe, polegające m.in. na spożywaniu zbyt dużej ilości tłustych pokarmów, należy zmieniać zgodnie z zasadami prawidłowej diety, zachowując indywidualne upodobania. Badanie preferencji żywieniowych przyczynia się do rozwoju rynku żywnościowego, z drugiej strony wskazuje na konieczność i kierunki prowadzenia edukacji żywieniowej [9]. Współczesny konsument oczekuje od żywności połączenia wysokiej jej jakości i bezpieczeństwa zdrowotnego, a także informacji żywieniowych na opakowaniu. Bardzo ważnym czynnikiem decydującym o wyborze produktu jest jego funkcjonalność, wygoda oraz skrócenie i uproszczenie procesu przygotowywania posiłków.

Pokarm człowieka to substancje chemiczne w postaci produktów pochodzenia roślinnego, zwierzęcego, jak również grzyby, pierwotniaki i bakterie, które oprócz wartości odżywczej odgrywają pewną rolę w procesach trawienia, przyswajania i przygotowywania pokarmu. W różnych kulturach od wieków zadawano sobie sprawę, że oprócz podstawowych składników odżywczych istnieją specyficzne produkty mogące uzupełniać brakujące organizmowi substancje. W 1912 roku Kazimierz Funk wyizolował z otrąb ryżowych związek chemiczny o charakterze aminy, który nazwał witaminą, czyli aminą życia (*vita* - życie), substancję skutecznie zwalczającą chorobę beri-beri dotykającą populację żywiącą się ryżem [10]. W miarę upływu lat poznawano kolejne, występujące w przyrodzie związki chemiczne, które mają właściwości witamin i wykazują zdolność zapobiegania charakterystycznym objawom niedoboru. Witaminy są grupą związków organicznych o różnorodnej budowie chemicznej, przy czym właściwości określonej witaminy może wykazywać więcej niż jeden związek chemiczny. Witaminy stanowią najmniejszy odsetek masy ciała, regulują wiele procesów metabolicznych, spełniają funkcje katalityczne, są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Cechuje je wysoka aktywność biologiczna, co powoduje, że działają w bardzo małych stężeniach (kilka - kilkanaście mikrogramów lub miligramów, zależnie od witaminy). Witaminy, podobnie jak składniki mineralne pełnią funkcje regulacyjne, obie te grupy należą do składników egzogennych i dlatego dostarczenie ich z pokarmem w odpowiedniej ilości i w odpowiednich proporcjach jest jednym z podstawowych warunków zachowania zdrowia. Witaminy grupy B występujące w pożywieniu często w ilościach śladowych (0,1 µg B₁₂ w 100 g produktu) są koenzymami i kofaktorami najważniejszych przemian rozpadu i syntezy składników pośredniej przemiany materii i energii w organizmie. Nastęstwem ich braku lub niedoboru są zakłócenia procesów metabolicznych [2, 3, 10]. Długotrwały niedobór substancji odżywczych, związany z wyczerpaniem zasobów witaminowo-mineralnych organizmu, prowadzi do osłabienia procesów metabolicznych zależnych od brakującej substancji, a w konsekwencji do utraty zdrowia. Niedobór witamin wynika z ich niedostatecznej podaży, zaburzonego wchłaniania lub też zwiększonego zapotrzebowania [2, 3]. Obserwowane obecnie

niewielkie niedobory substancji odżywczych, w tym witamin, dotyczą w szczególności kobiet w ciąży, dzieci oraz ludzi w podeszłym wieku [3]. Występowanie w określonej populacji klinicznych lub subklinicznych objawów niedoboru, wskazuje na konieczność wzbogacania żywności w brakujący składnik odżywczy. Według szacunków WHO w ostatniej dekadzie XX wieku ogóln światowy problem zdrowotny stanowią niedobory żelaza, jodu i witaminy A. Notuje się także niedobory wapnia, witamin grupy B i witaminy D występujące w określonych grupach ludności. Niedobory jednej lub kilku witamin z grupy B (folianów, B₁₂ i B₆) sprzyjają rozwojowi miażdżycy, w konsekwencji prowadząc do niedokrwiennej choroby serca, rozwoju chorób nowotworowych, wad rozwojowych i dysfunkcji umysłowych [3]. Produkty spożywcze wzbogaca się witaminami i związkami mineralnymi w celu skorygowania lub zapobiegania niedoborom określonych składników odżywczych w całej populacji, również w celu zbilansowania profilu odżywczego produktu lub wyrównania strat spowodowanych jego przetwarzaniem.

Nigdy w historii *Homo sapiens* jego sposób odżywiania się, zwłaszcza w krajach rozwiniętych, nie był tak ściśle związany z rosnącym popytem i podażą żywności. Obserwuje się wzrost potrzeb żywnościowych w wyniku zmian demograficznych (przyrost populacji i zwiększanie się udziału w niej ludzi starszych) oraz wpływu czynników ekonomicznych, które zwiększają zapotrzebowanie na droższe produkty, wysoko przetworzone i wygodne w użyciu.

Żywność nowej generacji

W ostatnich latach w obszarze nauki o żywności pojawia się konieczność prowadzenia badań zawartości składników odżywczych, biologicznie aktywnych - stanowiących kryterium uznania specyficznych produktów spożywczych, jako żywności funkcjonalnej. Produkty spożywcze zawierające w swym składzie substancje czynne zaczęto odrębnie klasyfikować, nazywając je nutraceutykami (z ang. *nutriceuticals*). Żywność funkcjonalna (z ang. *functional food*), lub też bardziej poprawnie fizjologiczna żywność funkcjonalna, posiadająca właściwości fizjologiczne i biochemiczne jest ważną częścią koncepcji zdrowego odżywiania (z ang. *Healthy Eating Concept*), będąc częścią zróżnicowanej diety i spożywana w odpowiednich ilościach, ma korzystny wpływ na zdrowie człowieka [11, 12, 13]. Z punktu widzenia analizy żywności, szczególnie istotna wydaje się być lista bioaktywnych składników żywności, których korzystne właściwości zdrowotne zostały rozpoznane. Są to: błonnik pokarmowy, oligosacharydy (prebiotyki), bakterie fermentacji mlekowej (probiotyki), alkohole wielowodorotlenowe, substancje fitochemiczne, aminokwasy, składniki mineralne i witaminy. Żywność funkcjonalna stwarza dużo możliwości, często nawet konieczność, współpracy przemysłu farmaceutycznego z przemysłem spożywczym. Wynikiem tej współpracy jest produkcja artykułów spożywczych stanowiących kombinację środka spożywczego i leku, powszechnie nazywanymi suplementami diety, czy też nutraceutykami. Takie możliwości oferują np. witaminy, czy też niektóre produkty obniżające poziom cholesterolu. Ten obszar współpracy zintensyfikował badania nad interakcją pomiędzy żywnością a lekiem. Rynek żywności funkcjonalnej rozwija się bardzo szybko, zdecydowana większość (95%) produktów funkcjonalnych, w krajach, gdzie jest on rozwinięty badane jest klinicznie. Świadomość potencjalnego konsumenta dotycząca utrzymania przez długi okres czasu dobrego stanu zdrowia i wysokiej aktywności psychofizycznej, przyczynia się do wzrostu popytu i rozwoju rynku żywności funkcjonalnej, o czym decyduje jej prozdrowotne oddziaływanie pomocne w zapobieganiu chorobom i w leczeniu [14].

Rekomendacje żywieniowe

Zmienność spożycia z dnia na dzień, wprowadzanie nowych produktów, coraz powszechniejsza obecność żywności funkcjonalnej, spowodowały potrzebę nowego podejścia do norm żywienia. Coraz częściej mówi się o zbyt wysokiej koncentracji danego składnika odżywczego w diecie człowieka. Witaminy i składniki mineralne, które spożywa się jako suplementy diety w postaci preparatów farmaceutycznych wymagają specyficznego rozważenia, ponieważ są inaczej przyswajane, a tym samym mogą stanowić większe ryzyko wystąpienia objawów niepożądanych. W takim przypadku najczęściej niewłaściwie stosowana suplementacja w połączeniu ze spożywaniem produktów fortyfikowanych może powodować wystąpienie objawów przedawkowania danego składnika. Spożywanie jednego składnika w ilości znacznie przekraczającej fizjologiczne zapotrzebowanie organizmu może obniżać wchłanianie oraz wpływać na metabolizm innych składników odżywczych [15, 16].

Zalecane dzienne spożycie dla witamin grupy B rosło i malało na przestrzeni czasu. Spowodowane to było pojawieniem się coraz większej liczby danych dotyczących składników pokarmowych oraz koniecznością częściowej zmiany kryteriów w ich opracowywaniu. Tradycyjny sposób wyrażania zapotrzebowania na składniki odżywcze sprowadza się do podania jednej wartości RDA dla prawie wszystkich osobników w omawianej grupie, natomiast aktualnie uważa się, iż indywidualne zapotrzebowanie zależne jest od puli w organizmie, mechanizmów homeostatycznych, interakcji między składnikami i synergistycznych wpływów jednego lub kilku składników na ten sam organ. Nowe podejście do norm odnoszone jest głównie do kryterium obniżenia ryzyka chorób chronicznych, a nie tylko zapobiegania chorobom na tle niedoboru. Podstawą opracowania nowych norm stanowiło uwzględnienie nowych czynników tj. biodostępność składników z pożywienia, która jest zróżnicowana w zależności od zwyczajowo spożywanej racji pokarmowej, nowy sposób oceny adekwatności spożycia, adjustacja spożycia w kontekście zmienności oraz ocena nadmiernego spożycia [16]. Według najnowszych zaleceń opracowanych przez amerykańskich i kanadyjskich naukowców, powstały referencyjne normy spożycia DRI (*Dietary Reference Intake*), które obejmują cztery pojęcia: RDA (*Recommended Dietary Allowance*), AI (*Adequate Intake*) - wystarczające spożycie, EAR (*Estimated Average Requirement*) - średnie ustalone zapotrzebowanie i UL (*Tolerable Upper Intake Level*) - górny tolerowany poziom spożycia (najwyższy przeciętny dzienny poziom spożycia składnika, który nie powoduje niekorzystnych efektów zdrowotnych u nikogo z danej grupy, swoisty dla poszczególnych składników odżywczych). Dodatkowo, w zależności od częstości obserwowanych skutków ubocznych stosuje się tzw. współczynnik niepewności (*uncertainty factor – UF*) w celu zredukowania poziomu spożycia określanego przez NOAEL (*no observed adverse effects level – wystarczająca liczba osób, u których nie stwierdzono niepożądanych skutków spożycia*). Ma to na celu upewnienie się, że nawet mała liczba osób, których wrażliwości nie opisano w literaturze nie byłaby narażona na powstanie objawów związanych z przekroczeniem UL [16]. Nowe normy odnoszą się do obniżenia ryzyka chorób chronicznych, a nie tylko zapobiegania zachorowaniom na tle niedoborów pokarmowych; są ukierunkowane bardziej na osobnika indywidualnego niż na grupy populacyjne [16, 17]. Ze względu na brak odpowiednich danych, nie można jeszcze oznaczyć UL dla wielu elementów odżywczych żywności, co jest istotne w przypadku ograniczenia niepożądanych efektów przedawkowania składników ponad zalecane ilości w świetle rosnącego udziału żywności wzbogacanej i suplementacji diety człowieka [17].

Obecne zalecenia dotyczące poziomu spożycia poszczególnych składników odżywczych formułowane są przede wszystkim na podstawie badań epidemiologicznych. Mechanizm wpływu żywności na przebieg procesów metabolicznych nie w pełni jest wyjaśniony. Stosowanie nowoczesnych technik biologii molekularnej oraz poznanie genomu człowieka pozwalają

przewodzą badania genetyczne będące istotnym elementem wielu nauk, w tym żywieniowych. Postęp w tworzeniu programów komputerowych pozwalających na porządkowanie i opracowanie ogromnej ilości danych spowodował rozwój interdyscyplinarnych nauk łączących genetykę z naukami biologicznymi, medycznymi i żywieniowymi. Powstały dyscypliny naukowe zajmujące się poznaniem funkcji składników żywności na poziomie molekularnym. Z punktu widzenia zachowania zdrowia i prewencji chorób układu krążenia, chorób nowotworowych i procesów starzenia się organizmu, szczególnego znaczenia nabierają badania wyjaśniające relację pomiędzy żywieniem a genami i przebiegiem procesów metabolicznych. Wiadomo, że nieodpowiednio zbilansowana dieta może być przyczyną powstawania mutacji i aberracji chromosomalnych. Określenie relacji między składnikami diety a zmianami w obrębie DNA, to istotny element dla określenia metod przeciwdziałania tym procesom. Kwas foliowy i witamina B₁₂ to czynniki niezbędne do procesu metylacji DNA, białek, neurotransmiterów [18, 19]. Powstawanie wad cewy nerwowej na tle niedoborów kwasu foliowego związane jest z zaburzeniem metylacji i ekspresji genów niezbędnych do jej uformowania [19]. Wzbogacenie diety kobiet kwasem foliowym skutecznie redukuje występowanie tych wad rozwojowych [3, 18]. Ponadto, uważa się, że hipometylacja DNA jest przyczyną mutacji związanych z inicjacją lub rozwojem chorób nowotworowych. Dotychczasowe obserwacje wykazały, że 15-letnia suplementacja witaminami grupy B wiązała się ze znacznym obniżeniem ryzyka rozwoju chorób nowotworowych [18, 19]. Badania eksperymentalne wskazują, że minimalizacja prawdopodobieństwa wystąpienia zmian w obrębie DNA wymaga osiągnięcia odpowiednich stężeń witaminy B₁₂ i kwasu foliowego oraz niskiej zawartości homocysteiny w surowicy krwi. Fakt ten przyczynił się do zmian zaleceń wielkości dziennego spożycia witamin, w praktyce odpowiedniej konstrukcji diety i fortyfikacji produktów spożywczych witaminami. Składniki diety, w tym witaminy grupy B (kwas foliowy, witamina B₁₂, B₆ i niacyna) poprzez wpływ na przemiany metaboliczne, aktywację lub dezaktywację kancerogenów oraz procesy syntezy i naprawy DNA mogą być uważane za kluczowe czynniki środowiskowe decydujące o stabilności genomu człowieka [18-22].

Ocena wartości odżywczej żywności

Wartość odżywcza żywności - to przydatność produktów spożywczych i całodziennych racji pokarmowych do pokrycia potrzeb organizmu związanych z jego przemianami metabolicznymi. Spożycie składników pokarmowych może być oceniane różnymi metodami: metodą bilansów żywnościowych, wywiadów żywieniowych lub eksperymentalnie przez analityczne oznaczanie zawartości składników odżywczych w całodziennych racjach pokarmowych i w płynach ustrojowych. Do określenia wartości odżywczej żywności duże znaczenie ma znajomość składu surowców, a także wiedza o zmianach w zawartości składników odżywczych, jakim ulegają one podczas zastosowanych procesów technologicznych. Z danych o wartości odżywczej żywności korzystają żywieniowcy i epidemiolodzy w badaniach sposobu żywienia indywidualnych osób lub grup populacyjnych w celu znalezienia współzależności między przyczynami a skutkami zdrowotnymi niedoborów lub nadmiarów żywieniowych, aby wykorzystać je w działaniach profilaktycznych. Postęp w analizie żywności pozwala na określenie zawartości poszczególnych elementów odżywczych obecnych w produktach spożywczych, a także prowadzenie monitoringu obecności substancji biologicznych i chemicznych stanowiących zanieczyszczenie żywności. Człowiek rokrocznie produkuje i wprowadza do środowiska nowe związki chemiczne, natomiast organizm nie nadąża za adaptacją do większości z tych antropogennych ksenobiotyków. Konsumenty coraz częściej obawiają się negatywnego wpływu żywności na zdrowie, co spowodowane jest zaistniałymi w ostatnich latach takimi zjawiskami jak epidemia pryszczycy, wystąpienie gąbczastej encefalopatii u bydła przeniesionej na ludzi (choroba Creutzfelda-Jacoba), czy też obecność dioksyn w produktach pochodzenia zwierzęcego.

Z żywienia punktu widzenia składniki żywności można podzielić na odżywcze i nieodżywcze, natomiast w aspekcie analitycznym, biorąc pod uwagę ich naturę chemiczną, na labilne i trwałe. Sukces analityczny jest uwarunkowany pozyskaniem badanego analitu z matrycy żywnościowej w możliwie natywnej postaci.

Cechą charakterystyczną analizy żywności jest konieczność analizowania bardzo zróżnicowanego materiału pochodzenia roślinnego i zwierzęcego. Wymaga to stosowania różnorodnych technik ekstrakcji analitu i zastosowania wielu metod instrumentalnych. W analizie żywności stosuje się szeroko zróżnicowane metody fizyczne, chemiczne i biologiczne, włączając techniki kolorymetryczne, fluorometryczne, spektrometryczne i elektrochemiczne.

Lista surowców i produktów spożywczych uwzględnionych w *Official Methods of Analysis of AOAC International* [23] obejmuje różne grupy środków spożywczych, w tym produkty zbożowe, ryby i inne produkty pochodzenia morskiego, owoce i przetwory owocowe, warzywa i ich przetwory, mięso i jego przetwory, produkty mleczarskie, oleje i tłuszcze, orzechy i inne.

Rozwój nowoczesnych metod analitycznych doprowadził do obniżenia poziomu wykrywalności i zwiększenia precyzji pomiaru. Pojawienie się nowych koncepcji bezpiecznej żywności spowodowało wprowadzenie nowych parametrów opisujących żywność (*Hazard Analysis and Critical Control Point, Total Quality Management, ISO 9000 Certifications*). Ich kontrola wymaga specjalnych, często całkowicie nowych metod analizy. Wśród prac nad nowymi metodami analitycznymi szczególne znaczenie dla analizy żywności mają biosensory. Są to sensory chemiczne, których analitycznie aktywną warstwę stanowi materiał biologiczny, którym mogą być enzymy, przeciwciała, receptory, DNA, RNA oraz mikroorganizmy. Biosensory, ze względu na analitycznie aktywną warstwę, można podzielić na: biokataliczne, powinowactwa i na wykorzystujące reakcje hybrydyzacji [24]. Biosensory znajdują zastosowanie podczas monitoringu pozostałości pestycydów, antybiotyków, hormonów, mikroorganizmów i toksyn oraz patogenów powstających w czasie procesu produkcyjnego żywności. Są one stosowane również w kontroli autentyczności genetycznej żywności otrzymywanej z surowców modyfikowanych genetycznie [24, 25].

Szybkość analizy i wysoka rozdzielczość technik elektroforezy kapilarnej (CE) sprawiają, iż są one, obok wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), podstawowymi technikami stosowanymi w analizie żywności. HPLC jest obecnie podstawową techniką analityczną w laboratoriach analizy żywności. Zastosowanie nowej generacji kolumn, nowe typy detektorów, nowych oprogramowań oraz możliwość pracy *on-line* z innymi urządzeniami analitycznymi, sprawiają, że jej znaczenie w analizie żywności ustawicznie wzrasta. Aktualnie do oznaczania analitów w matrycach biologicznych wykorzystuje się techniki łączone. Łączenie HPLC z innymi instrumentami analitycznymi to nowoczesne techniki stosowane w badaniach żywności, przykładowe takie rozwiązania to: HPLC HPLC, HPLC GC, HPLC MS, HPLC AAS. Jedną z najnowszych metod pozwalających na oznaczanie ultraśladowych zawartości związków, jest połączenie wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją masową HPLC/MS. Metoda ta jest techniką analityczną pozwalającą na rozdzielenie wieloskładnikowej mieszaniny związków łącznie z ich oceną jakościową, jak i ilościową [26, 27].

Największy postęp w dziedzinie wysokosprawnej chromatografii cieczowej polegał na skonstruowaniu dostatecznie czułych i pracujących w sposób ciągły układów detekcyjnych. Najczęściej stosowanymi detektorami są detektory UV mierzące absorbancję substancji rozpuszczonej w nadfiolecie. Dużym udogodnieniem analitycznym jest upowszechnienie w metodzie HPLC detektora UV z matrycą fotodiodową (*Diode Array Detector - DAD*), zbieranie danych w całym zakresie widma umożliwia jednoczesną analizę związków o bardzo zróżnicowanym widmie UV. Szerokie zastosowanie w analizie żywności mają selektywne fotometry

fluorescencyjne charakteryzujące się wyższą czułością w porównaniu z detektorem absorpcyjnym. Detekcja elektrochemiczna oferuje wysoką czułość, wysoką selektywność i jest przydatna w analizach ultraśladowych. Spośród detektorów elektrochemicznych dość często stosuje się detektory polarograficzne lub kulometryczne przydatne do oznaczania substancji nieorganicznych i organicznych podlegających reakcjom elektrochemicznego utleniania lub redukcji. Detektory kulometryczne są stosowane w analizie związków biologicznie czynnych, które wykrywamy na poziomie nano- i femtogramowym [28]. Za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej możemy oznaczać zawartość witamin, związków konserwujących, węglowodanów, białek, peptydów i aminokwasów, amin biogennych, mykotoksyn, związków fenolowych oraz związków biologicznie aktywnych, które nie są typowymi składnikami żywności [26-28].

Dzięki analizie chemometrycznej możliwa jest wizualizacja wyników oraz uzyskanie użytecznej informacji z wielowymiarowych układów danych pomiarowych. Modelowanie i symulacja to najważniejsze dziedziny chemometrii, które znajdują zastosowanie w rozwiązywaniu problemów badawczych i naukowych zarówno w naukach środowiskowych jak i medycznych, w tym w analizie próbek żywności jak i w badaniach epidemiologicznych i żywieniowych [29-32]. Najczęściej stosowanymi technikami chemometrycznymi w analizie żywności i badaniach medycznych są takie, jak analiza głównych składowych (ang. *Principal Component Analysis - PCA*), analiza czynnikowa (ang. *Factor Analysis - FA*) i analiza skupień (ang. *Cluster Analysis - CA*), czy też sieci neuronowe (ang. *Artificial Neural Networks - ANN*), itp. [30-32]. Uzyskiwane duże zbiory danych analitycznych, dzięki zastosowaniu chemometrii można łatwiej i celniej interpretować, natomiast duża liczba cech określająca analizowany obiekt pozwala na wydobywanie prawie całego zasobu informacji zawartego w próbkach, co jest niezmiernie istotne w badaniach medycznych [31].

Rozwój nauki o żywności i związane z nim nowe technologie wytwarzania żywności, pojawienie się na rynku zupełnie nowych produktów spożywczych, wzbogacanie żywności w wybrane składniki odżywcze - to główne czynniki generujące rozwój nowoczesnych metod instrumentalnych stosowanych w analizie żywności.

Analiza składników żywności jest zadaniem trudnym, ze względu na różnorodną budowę matryc, w której są one obecne. Nauka o żywieniu człowieka również ma wpływ na rozwój badań analitycznych żywności, poszerza listę składników, które powinny być oznaczane, stawia wymagania dotyczące analizy dostępności składników odżywczych oraz badania wpływu procesów technologicznych na wartość odżywczą pokarmów. Wiedza w tym zakresie staje się coraz bardziej istotna, zwłaszcza w aspekcie zapobiegania chorobom powstającym w wyniku niewłaściwego żywienia [3]. Badania analityczne dotyczące zawartości składników odżywczych w produktach spożywczych i w całodziennych racjach pokarmowych umożliwiają bardziej dokładną ocenę wartości odżywczej i spożycia w porównaniu z oceną teoretyczną wykonaną przy pomocy programów obliczeniowych. W przypadku witamin ocena teoretyczna może być obciążona błędami spowodowanymi stratami zachodzącymi podczas przygotowywania posiłków, a wynikającymi z wrażliwości witamin na różne czynniki środowiska, jak również straty te mogą wynikać z wahań zawartości zależnych od rodzaju i cech zastosowanego produktu.

Badania analityczne żywności, w tym wprowadzanie nowych metod umożliwiających określenie zawartości witamin grupy B w środkach spożywczych, mają szczególne znaczenie nie tylko w naukach o żywności i żywieniu człowieka, lecz również w praktyce, zarówno klinicznej jak i w przemyśle farmaceutycznym oraz spożywczym.

II. CEL PRACY

Zasadnicze cele zrealizowane w cyklu badań przedstawionych w publikacjach stanowiących rozprawę habilitacyjną to:

1. Opracowanie metod analitycznych wykorzystujących technikę HPLC do oznaczania witamin grupy B w żywności i w suplementach diety.
2. Wykazanie wpływu czynników środowiskowych na zawartość witamin grupy B w produktach spożywczych i całodziennych racjach pokarmowych, w oparciu o ocenę pokrycia potrzeb organizmu człowieka na witaminy tej grupy w stosunku do rekomendacji żywieniowych.
3. Ocena sposobu żywienia młodzieży akademickiej na podstawie preferencji i częstości spożycia wybranych produktów spożywczych będących bogatym źródłem witamin grupy B.

III. OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ OPUBLIKOWANYCH W POSZCZEGÓLNYCH PRACACH

Nowe metody analityczne wykorzystujące technikę HPLC do oznaczania witamin grupy B w żywności i suplementach diety (1, 2)

1. **Lebiedzińska A., Marszał M.: Fruit juices and fruit drinks the source of vitamins B - HPLC determination of water soluble vitamins in a wide range of fortified juices and drinks, *Polish Journal of Environmental Studies* 15, 2, 1318-1321 (2006).**

Praca przedstawia opracowaną metodę jednoczesnego oznaczania witamin: B₆, B₁₂ i B₁ w sokach i napojach owocowych przy zastosowaniu techniki HPLC z detekcją kulometryczną i UV.

Badany materiał (próbki soków) poddano hydrolizie enzymatycznej stosując mieszaninę diastazy i papainy. Przed wykonaniem analizy chromatograficznej hydrolizaty uzupełniano do określonej objętości metanolem i sączono przez sączek membranowy o wielkości porów 0,22 µm.

Opisywane w literaturze metody badań ilościowych witamin najczęściej dotyczą pojedynczych związków. Dwustopniowy system detekcji, połączenie detektora kulometrycznego (Coulochem II, ESA) z detektorem UV typu Diode Array 340S (Dionex), umożliwił jednoczesne oznaczenie trzech witamin grupy B. W opracowanej metodzie utlenieniu przy potencjale dodatnim ulegają elektroaktywne grupy funkcyjne z wolną parą elektronową (grupy hydroksylowe i aminowe). Elektrochemiczne utlenianie oznaczanych witamin było możliwe dzięki optymalizacji potencjałów na celkach analitycznych. Sporządzono woltamogramy hydrodynamiczne dla pirydoksyny i cyjanokobalaminy w określonych warunkach chromatograficznych. Ustalono następujące parametry detekcji: potencjał elektrody osłonowej 0.90 V, potencjał pierwszej elektrody roboczej, pracującej jako elektroda ekranująca 0.350 V, potencjał drugiej elektrody roboczej, z której zbierano właściwy sygnał 0.85 V, czułość aparatu 50 µA. Zawartość tiaminy oznaczono przy użyciu detektora UV przy długości fali $\lambda = 280$ i 288. Zakres długości fali $\lambda = 280-288$ nm jest selektywny dla oznaczenia tiaminy; w pracy przedstawiono widmo UV tej witaminy. Akwizycji chromatogramów oraz ich integracji dokonywano za pomocą programu Chromeleon System 6,20. Optymalne warunki rozdzielania chromatograficznego uzyskano przy zastosowaniu kolumny Supelco LC 18, 5 µm (25 cm x 4,6 mm), stosując izokratyczny rozdział przy prędkości przepływu fazy ruchomej 1 ml/min. Fazę ruchomą stanowił: 0,05 M bufor fosforanowy o pH 3,55; metanol (8%) i trimetylamina (0,018 M).

Metodę oznaczania analizowanych witamin w sokach i napojach owocowych sprawdzono wykonując oznaczenia fortyfikowanych produktów w zakresie stężeń krzywej kalibracji. Średni odzysk witamin w analizowanych próbkach wynosił: dla tiaminy 83,0 – 88,1%, dla pirydoksyny 96,7 – 97,1% i dla cyjanokobalaminy do 83,1 do 84,4%, natomiast względne odchylenie standardowe (RSD) mieściło w zakresie 0,9 do 1,8%. Zawartość oznaczonych witamin była zbliżona do koncentracji deklarowanych przez producenta. Opracowaną procedurę poddano walidacji. Zastosowanie detekcji kulometrycznej pozwoliło na uzyskanie granicy wykrywalności (LOD) na poziomie 0,08 ng/ml dla cyjanokobalaminy i 2,7 ng/ml dla pirydoksyny, natomiast dla tiaminy (detekcja UV) – 9,2 ng/ml. Opracowana metoda charakteryzuje się szerokim zakresem granicy oznaczalności (LOQ), zwłaszcza dla cyjanokobalaminy (0,005-0,0275 µg/ml). Dokonano oceny precyzji i dokładności metody oznaczając dwa różne stężenia analizowanych witamin w ciągu dnia i kolejnych dni otrzymując błąd względny <4,5%.

Produkty spożywcze fortyfikowane witaminami i związkami mineralnymi oraz suplementy diety spełniają ważną rolę w prewencji zaburzeń stanu zdrowia i leczenia chorób dietozależnych. Skład i wartość odżywcza żywności ulega ciągłym zmianom wskutek unowocześnień zarówno w przemyśle spożywczym jak i w uprawach rolnych oraz w hodowli. Obecnie wiadomo, że stosowanie diety zawierającej większe ilości produktów przetworzonych i oczyszczonych może wpływać niekorzystnie na określone szlaki metaboliczne, powodując zaburzenia wielu funkcji organizmu. Dzięki zastosowaniu procesu wzbogacania żywności możliwe jest wyrównanie strat witamin, które mają miejsce podczas stosowanych zabiegów technologicznych.

Dotychczas zarówno w ustawodawstwie polskim jak i regulacjach prawnych Wspólnoty Europejskiej nie zostały ustalone maksymalne poziomy witamin i składników mineralnych w suplementach diety. Ustalenia górnych tolerowanych poziomów spożycia (UL) witamin i składników mineralnych podjęły się liczne organizacje międzynarodowe, włączając Naukowy Komitet ds. Żywności Unii Europejskiej, Radę Żywności i Żywienia Instytutu ds. Medycznych Stanów Zjednoczonych oraz Grupę Ekspertów ds. Witamin i Składników Mineralnych Wielkiej Brytanii. Państwa Członkowskie UE są zobowiązane do ustalenia „maksymalnych ilości witamin i składników mineralnych w suplementach diety”; w ich gestii leży pierwszy etap procesu zarządzania ryzykiem, mianowicie ocena ryzyka dla populacji UE wynikającego z obecnego i przyszłego pobrania składników odżywczych [16, 33]. Osoby spożywające produkty spożywcze wzbogacane oraz suplementy diety (preparaty farmaceutyczne witaminowo-mineralne) mogą być narażone na pobranie zbyt wysokich dawek poszczególnych witamin i związków mineralnych, co stanowi ryzyko niepożądanych objawów związanych z przedawkowaniem niektórych spośród składników odżywczych.

Opracowana metoda jednoczesnego oznaczania witamin: B₆, B₁₂ i B₁ w żywności fortyfikowanej przy zastosowaniu techniki HPLC z detekcją kulometryczną i UV pozwala na badanie zawartości witamin w poszczególnych produktach spożywczych oraz w diecie człowieka. Uzyskane wyniki badań umożliwiają ocenę ryzyka zarówno niedoborów jak i przekroczenia pobrania zbyt wysokich dawek omawianych witamin grupy B.

2. Marszał L.M., Lebedzińska A., Czarnowski W., Szefer P.: High-performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of thiamine hydrochloride, pyridoxine hydrochloride and cyanocobalamin in pharmaceutical formulations using coulometric electrochemical and ultraviolet detection, *Journal of Chromatography A* 1094, 91-98 (2005).

Opracowano metodę HPLC jednoczesnego oznaczenia chlorowodoru tiaminy, chlorowodoru pirydoksyny i cyjanokobalaminy w preparatach farmaceutycznych. Właściwości fizyko-chemiczne witamin grupy B czynią te związki możliwe do oznaczenia techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz. Rozwój nowoczesnych metod chromatograficznych doprowadził do obniżenia poziomu wykrywalności, wzrostu precyzji pomiaru oraz do kompleksowej analizy szerokiego spektrum badanych związków. Opracowana metoda z detekcją kulometryczną i UV umożliwiła oznaczenie ilościowe różnych koncentracji analizowanych witamin w szerokim zakresie stężeń, np. analizowany *Vibovit junior* zawierał 2 µg cyjanokobalaminy w jednej saszetce, podczas gdy roztwory do nastrzyków kilkusetkrotne wyższe stężenia. W ww. publikacji określono granicę oznaczalności (LOQ), która wynosi dla tiaminy 29 ng/ml, dla pirydoksyny 9,3 ng/ml i dla cyjanokobalaminy 0,28 ng/ml.

Dokonano optymalizacji warunków rozdziału analitów, najkorzystniejszy rozdział analizowanych witamin i czas oznaczenia (17 min) uzyskano stosując fazę ruchomą złożoną z 0,05 M buforu fosforanowego o pH 3,55; metanolu (8%) i trimetylaminy (0,018 M), przy szybkości przepływu 1 ml/min.

Opracowana metoda została zwalidowana pod kątem powtarzalności, czułości, liniowości i selektywności. Uzyskano granicę wykrywalności na poziomie 0,08 ng/ml dla cyjanokobalaminy i 2,7 ng/ml dla pirydoksyny, natomiast dla tiaminy – 9,2 ng/ml. Przebadano 13 preparatów farmaceutycznych w postaci roztworów do wstrzykiwań, kropli, tabletek zwykłych, powlekanych oraz formy do rozpuszczania. Opracowaną metodę zastosowano do oznaczeń witamin w formulacjach farmaceutycznych, w których oprócz witamin znajdowały się ekstrakty roślinne, związki mineralne i pozostałe witaminy rozpuszczalne w wodzie i w tłuszczach. Średnie odzyski witamin dla fortyfikowanych preparatów kształtowały się w granicach 99,6 do 102,7%.

Przedstawiona metoda może stanowić innowacyjne rozwiązanie wielu problemów analitycznych związanych z równoczesnym oznaczeniem witamin B₁, B₆ i B₁₂ w preparatach farmaceutycznych oraz w złożonych matrycach suplementów diety.

Równocześnie autorzy ww. publikacji prowadzili badania związane z metodą oznaczania zawartości witamin B₁, B₆ i B₁₂ w produktach spożywczych. Aktualnie, do redakcji czasopisma *Journal of Chromatography A* wysłano poprawioną wersję manuskryptu pracy, uwzględniającą uwagi trzech recenzentów: „*Reversed-phase high-performance liquid chromatography method with coulometric electrochemical and ultraviolet detection for the quantification of vitamins B₁, B₆ (pyridoxamine, pyridoxal, pyridoxine) and B₁₂ in animal and plant food*” [34].

Witaminy grupy B w naturze występują w postaci różnych związków chemicznych. Mnogość i różnorodność form, bardzo duża labilność, małe stężenia w materiale biologicznym oraz skomplikowany proces ekstrakcji powodują, że analiza ilościowa witamin w żywności jest niezwykle trudnym przedsięwzięciem badawczym [3]. Ekstrakcję analizowanych witamin najczęściej przeprowadza się stosując hydrolizę tzw. kwaśną i enzymatyczną. W omawianej pracy dobrano warunki ekstrakcji witamin B₆ i witaminy B₁₂ stosując hydrolizę z 0,055 M HCl (120 °C, 30 min), następnie po doprowadzeniu pH do 4,5 ekstrakcję enzymatyczną (diastaza i papaina, 37 °C, 18 h). Zastosowaną ekstrakcję porównano z proponowaną przez AOAC dla oznaczeń mikrobiologicznych [23], w której prowadzi się hydrolizę enzymatyczną (α -amylaza i proteaza) poprzedzoną przeprowadzeniem kobalamin w formę dicyjanową. Przeprowadzona analiza porównawcza obu zastosowanych metod hydrolizy wykazała, że w przypadku wyeliminowania cyjanokobalamin uzyskano pełny rozdział witamin B₆.

Opracowana metoda umożliwia jednoczesne oznaczenie pirydoksaminy, pirydoksalu, pirydoksyny i cyjanokobalaminy w bardzo zróżnicowanych matrycach produktów spożywczych pochodzenia zwierzęcego i roślinnego.

Kontynuując badania związane z opracowaniem metod oznaczania zawartości witamin grupy B w żywności zoptymalizowano metodę oznaczania kwasu foliowego w fortyfikowanych produktach spożywczych; manuskrypt pracy pt. „*High performance liquid chromatography method for the determination of folic acid in fortified food products*” został wysłany do redakcji czasopisma *Toxicology Mechanisms and Methods* w 2006 r. [35]. Proces opracowania metodyki badawczej obejmował, oprócz przygotowania próbki żywności i uwolnienia folianów z macierzy komórkowej, także dekonjugację form poliglutaminowych do mono- i diglutaminowych, a następnie ilościową ich analizę. Aktualnie, jedynymi zatwierdzonymi

przez AOAC metodami oznaczania kwasu foliowego są metody mikrobiologiczne i dotyczą preparatów witaminowych (nr 944.12) oraz pokarmu dla niemowląt (nr 992.05) *Official Methods of Analysis* [23]. Opracowanie metodyki badawczej obejmowało optymalizację warunków rozdziału analitów tj. skład i pH fazy ruchomej, prędkość przepływu i temperaturę kolumny. Metoda została zwalidowana pod kątem dokładności, powtarzalności, czułości, liniowości i selektywności. Oznaczono zawartość kwasu foliowego w fortyfikowanych sokach owocowych i w zbożowych produktach śniadaniowych.

Oba wysłane do druku manuskrypty prac [34, 35] wiążą się ściśle z tematyką badań publikacji stanowiących podstawę rozprawy habilitacyjnej.

Bromatologiczna ocena żywności jako elementu środowiska człowieka w oparciu o zawartość witamin grupy B w produktach spożywczych i dietach sportowców w świetle rekomendacji żywieniowych (3, 4, 5, 6, 7)

3. Lebedzińska A., Szefer P.: Vitamins B in grain and cereal-grain food, soy-products and seeds, *Food Chemistry* 95, 116-122 (2006).

Praca przedstawia wyniki badań, dotyczących zawartości witamin grupy B tj., B₁, B₂, B₆ i niacyny w zbożach, produktach zbożowych, soi oraz nasionach. Materiałem doświadczalnym było 14 produktów wyprodukowanych z kukurydzy, 7 gatunków ryżu i 4 produkty ryżowe, 8 rodzajów produktów jęczmiennych, gryczanych i otrzymanych z prosa oraz 24 rodzaje produktów sojowych i nasion lnu, słonecznika, maku, sezamu i amarantusa. Analizowaną żywność zakupiono w gdańskiej sieci handlowej. Zawartość tiaminy, ryboflawiny, witaminy B₆ i niacyny oznaczono metodami mikrobiologicznymi, po uwolnieniu witamin z próbki za pomocą hydrolizy kwasowej i enzymatycznej, zgodnie z metodyką proponowaną przez AOAC [23].

Badane produkty spożywcze charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością analizowanych witamin grupy B. Na podstawie oznaczonej zawartości witamin przeprowadzono ocenę produktów zbożowych pod względem ich wartości odżywczej i pozytywnego wpływu na prewencję zdrowia człowieka. Wykazano wpływ czynników zewnętrznych (środowiskowych) na obniżenie zawartości witamin w poszczególnych przetworach zbożowych wyprodukowanych ze zbóż i ziaren.

Produkty zbożowe poddane takim zabiegom technologicznym jak konserwowanie, oczyszczanie lub prażenie zawierały znacznie niższe zawartości analizowanych witamin np. 100 g kukurydzy w kolbach zawierało średnio 0,058 mg tiaminy, a ta sama porcja kukurydzy „w puszcze” średnio zawiera 0,014 mg tej witaminy. Badane próbki ryżu zależnie od gatunku i rodzaju zastosowanych procesów technologicznych różniły się zawartością witamin, w 100 g ryżu oznaczono od 0,006 do 0,264 mg tiaminy (potencjalny udział 100 g ryżu w realizacji norm może mieścić się w przedziale od 0,3 do 13,2%); od 0,086 do 0,481 mg witaminy B₆ i od 0,58 do 5,38 mg niacyny. Ziarna zbóż, kasze i nasiona są dobrym źródłem witamin grupy B, natomiast produkty z nich wyprodukowane zawierają znacznie mniejszą ilość analizowanych witamin, zwłaszcza tiaminy i witaminy B₆. Spożywanie produktów zbożowych nisko przetworzonych, z pełnego ziarna, kasz i nasion jest istotne z żywieniowego punktu widzenia, gdyż są one najważniejszym źródłem tiaminy dla człowieka.

W omawianej pracy dokonano oceny potencjalnego udziału analizowanych produktów zbożowych i nasion w realizacji norm żywienia na badane witaminy. Niefortyfikowane produkty zbożowe (dziki ryż, kasza gryczana, soja, mąka sojowa, nasiona słonecznika i sezamu) - porcja 100 g - dostarczają witamin B₁, B₂, B₆ i PP w ilościach od 5,1% do 48,0% norm na te składniki. W przypadku produktów wzbogacanych witaminami – 100 g płatków śniadaniowych „*Corn flakes*”, dostarcza witamin B₁, B₂, B₆ i PP w ilościach realizujących normy od 41,0% do 79,5%.

W 2004 r. WHO ogłosiła „Globalną Strategię WHO” dotyczącą sposobu żywienia, zalecając, by dieta współczesnego człowieka oparta była na produktach bogato-węglo-wodanowych, tj. bogatych w błonnik, z niskim indeksem glikemicznym (GI). Zwrócono uwagę na rolę nisko przetworzonych produktów zbożowych w diecie człowieka, charakteryzujących się niskim indeksem glikemicznym oraz wysoką zawartością błonnika i witamin grupy B.

W pracach [36, 37] których tematyka badań wiąże się ściśle z tematyką publikacji stanowiących podstawę rozprawy habilitacyjnej, autorzy przedstawiają wyniki analiz zawartości witamin grupy B w mąkach, mieszankach wypiekowych oraz w pieczywie. Badane produkty piekarnicze wypieczone z mąk pełnoziarnistych, orkiszowych i z dodatkiem mąki „winogronowej” charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością analizowanych witamin z najwyższą ilością witamin B₁ i B₆ w mąkach pełnoziarnistych i produktach z nich wypieczonych.

Mąki i produkty orkiszowe oraz tzw. winogronowe (z 5% dodatkiem mąki z winogron) ze względu na specyficzne cechy, jak zawartość i jakość białek, profil zawartych tłuszczów, właściwości antyoksydacyjne, zawartość witaminy B₆ można zaliczyć do żywności funkcjonalnej, która będąc częścią zróżnicowanej diety i spożywana w odpowiednich ilościach, wpływa korzystnie na zdrowie człowieka.

Produkty roślinne i zwierzęce zawierające w swym składzie substancje biologicznie aktywne powinny być obok podstawowych składników odżywczych elementem diety człowieka. Flawonoidy, do lat pięćdziesiątych posiadające status witaminy P, dzisiaj są znane głównie jako rutyna i hesperydyna. Obecnie, biologicznie aktywne substancje występujące w żywności pochodzenia roślinnego (polifenole, flawonoidy i witaminy) ze względu na szerokie spektrum możliwych oddziaływań na organizm człowieka, stały się ważnym czynnikiem dietoprofilaktyki wielu schorzeń. Wśród wielu możliwych oddziaływań istotną rolę odgrywają ich właściwości przeciwutleniające. Spożycie warzyw i owoców, głównego źródła przeciwutleniaczy, przez współczesnego człowieka nie jest zadawalające, dlatego też wzbogacanie mąki wypiekowej wyciągiem z pestek winogron może wzbogacić dietę konsumenta „chleba winogronowego” w składniki biologicznie czynne, tj. witaminę B₆ i antyoksydanty.

Stosując metody mikrobiologiczne i opracowane metody HPLC z detekcją kulometryczną i UV oznaczono zawartość witamin grupy B (B₁, B₂, B₆ i niacyny) w dostępnych w gdańskiej sieci handlowej produktach zbożowych, w nasionach i produktach otrzymanych z soi, w nasionach maku, amarantusa, sezamu, lnu i słonecznika. Oceniono pod kątem zawartości witamin grupy B pieczywo, produkty śniadaniowe (płatki kukurydziane, owsiane i ryżowe), szeroki asortyment kasz i ryżu. W omawianych pracach dokonano oceny potencjalnego udziału analizowanych produktów zbożowych i nasion w realizacji norm żywienia na badane witaminy.

Wykazano wpływ czynników środowiskowych na obniżenie zawartości analizowanych witamin w szerokim asortymencie obecnie dostępnych konsumentom produktów zbożowych. Ze względu na wzrost spożycia witamin w postaci suplementów oraz w postaci produktów fortifikowanych istnieje potrzeba monitorowania ich spożycia i efektów zdrowotnych zarówno na poziomie indywidualnym, jak i populacyjnym, ponieważ zarówno niedobory, jak

i nadmierne spożycie witamin mogą prowadzić do niekorzystnych zmian metabolicznych w organizmie człowieka.

4. Lebedzińska A.: Fish and shellfish as a source of vitamins B - own results in a view of literature data, *Polish Journal of Environmental Studies* 15, 1322-1327 (2006).

W pracy, na podstawie wyników badań własnych oraz przeglądu literatury specjalistycznej omówiono witaminy grupy B w aspekcie odżywczym podkreślając ich rolę w zachowaniu dobrej kondycji zdrowotnej. Mięso produktów pochodzenia morskiego ma wyjątkowe zalety żywieniowe, obok pełnowartościowego białka, nienasyconych kwasów tłuszczowych, żelaza, miedzi, jodu i kobaltu zawiera także witaminy A, D, B₁₂, B₆, B₂ i PP. Tkanka mięśniowa poszczególnych gatunków jadalnych organizmów morskich w istotny sposób różni się zawartością wody, tłuszczu, białka, związków mineralnych i witamin.

W publikacji na podstawie wyników badań własnych omówiono zagadnienia dotyczące zawartości witamin grupy B (tiamina, witamina B₂, B₆, niacyna i witamina B₁₂) w łososiach bałtyckich i norweskich (hodowlanych) oraz w owocach morza. W tabelach zestawiono wyniki badań eksperymentalnych obrazujących zawartość omawianych witamin w świeżych i wędzonych rybach oraz w owocach morza tj. w krewetkach (5 gatunków), krabach, ośmiornicach, kalmarach, małżach i ostrygach (3 gatunki) na podstawie wcześniej opublikowanych prac własnych. Badane łososie, zarówno hodowlane jak i dziko żyjące w wodach Bałtyku wyróżniają się wysoką zawartością witaminy B₆ i niacyny i w porównaniu z pozostałymi analizowanymi produktami rybnymi, zawierają także znaczące ilości witaminy B₁₂ (średnio 2 µg/100 g). Natomiast ostrygi i małże są doskonałym źródłem witaminy B₁₂ (od 5,20 do 78,30 µg/100 g tkanki jadalnej). Ryby morskie i owoce morza są naturalnym źródłem cennych składników odżywczych, w tym również witamin grupy B.

Owoce morza stanowią źródło dobrze przyswajalnego białka o wysokiej wartości odżywczej. Zawartość białka w rybach kształtuje się na poziomie 16-20%, natomiast jest niższa w niektórych mięczakach i skorupiakach [41]. Białka te charakteryzują się bardzo korzystnym, z punktu widzenia żywieniowego, profilem aminokwasowym i wysoką wartością ich wykorzystania. Strawność białek owoców morza jest wysoka i wynosi powyżej 97%. Podobnie jak inne małże, ostrygi posiadają bardzo korzystną kombinację kwasów tłuszczowych; tłuszcz ryb morskich i owoców morza jest bogaty w niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe. Ilość i rodzaj spożywanych tłuszczów ma szczególne znaczenie z punktu widzenia profilaktyki i leczenia metabolicznych chorób układu krążenia. W ograniczeniu ryzyka wystąpienia chorób cywilizacyjnych istotną rolę odgrywa właściwie przygotowana, urozmaicona dieta, która może obniżyć ryzyko zachorowania poprzez kilka mechanizmów, a mianowicie redukcję wagi ciała, obniżenie ciśnienia krwi, oddziaływanie na lipidy, kontrolę poziomu glukozy oraz obniżenie skłonności do tworzenia się skrzepów.

Szczególne znaczenia omawianemu opracowaniu nadaje fakt, że przedstawiono w nim rezultaty analiz zawartości pięciu witamin grupy B w dostępnych w sieci handlowej łososiach świeżych i wędzonych oraz w owocach morza, wskazując na korzystny profil odżywczy mięsa ryb, mięczaków i skorupiaków, które zgodnie z zaleceniami powinny być stałym elementem diety człowieka.

Stosując opracowaną metodę oznaczania zawartości witamin B₆ i B₁₂ autorzy oznaczyli ww. witaminy i biopierwiastki (żelazo, miedź, cynk i mangan) w ostrygach hodowlanych, oferowanych przez krajowy rynek w latach 2004 i 2005 [42]. Analizowane ostrygi, są bardzo dobrym źródłem witaminy B₁₂, spożycie porcji 100 g ostryg realizuje wielokrotne dzienne zapotrzebowanie na cyjanokobalaminę. Wszystkie analizowane produkty pokrywają w ponad

100% dzienne zapotrzebowanie człowieka na cynk, mogą realizować normy od 18,8 do 61,6% na żelazo oraz 23,5 – 53,6% na miedź, na poziomie bezpiecznym, w przypadku kobiet i mężczyzn. W odniesieniu do amerykańskich zaleceń żywieniowych (U.S. *National Academy of Sciences*), porcja 100 g ostryg może realizować normy w zakresie od 14,6 do 84,7% RDA w przypadku żelaza i od 65,2 do 117,8% RDA w przypadku miedzi dla kobiet i mężczyzn. Jeżeli chodzi o mangan, brak jest polskich norm, lecz zgodnie z amerykańskimi zaleceniami 100 g tych organizmów pokrywa 4,8 – 25,8% wartości AI (*Adequate Intake*).

Badania dotyczące zawartości składników odżywczych w artykułach żywnościowych są bardzo ważne dla konsumentów, którzy przy wyborze produktu spożywczego powinni kierować się nie tylko walorami smakowymi, ale także zdrowotnymi, a tym samym ich odpowiednim składem, również witaminowo-mineralnym.

Z uwagi na fakt, że badania nad stanem żywienia i odżywienia różnych grup populacyjnych w Polsce wykazują niedobór spożycia witamin grupy B wraz z dietą, istotnym jest znajomość ich zawartości w rybach i owocach morza, zarówno dziko żyjących jak i hodowlanych. W dostępnej literaturze oraz w tabelach wartości odżywczej produktów spożywczych [39, 40] brakuje danych dotyczących zawartości witamin grupy B w owocach morza, również niewiele jest danych o zawartości składników odżywczych w rybach hodowlanych. Uzyskane wyniki badań własnych dotyczących zawartości witamin grupy B w omawianych produktach pochodzenia morskiego mogą być uzupełnieniem tych brakujących informacji.

5. Lebedzińska A., Żbikowski R., Czaja J., Szefer P.: Assessment of energy, carbohydrates, vitamin B₁ and chromium in daily food rations of the Polish National Team of Athletes, *Polish Journal of Environmental Studies* 15, 403-406 (2006).

Celem przeprowadzonych badań było oznaczenie zawartości chromu, tiaminy i węglowodanów w całodziennych racjach pokarmowych lekkoatletów. Witamina B₁ jest aktywną częścią koenzymu pirofosforanu tiaminy, związanego z przemianą węglowodanów. Zapotrzebowanie na tiaminę zależy od wydatku energetycznego i spożycia węglowodanów. Chrom jest składnikiem czynnika tolerancji glukozy (GTF), który wraz z insuliną wpływa na lepsze wykorzystanie glukozy przez tkanki, wzmacnia magazynowanie glukozy w mięśniach oraz podnosi tolerancję tkanek na glukozę. Jest uznawany za czynnik obniżający poziom cholesterolu we krwi, wykazując pewne właściwości przeciwmiażdżycowe oraz wpływa na produkcję białek w mięśniu sercowym. Zawartość chromu w diecie może być niewystarczająca, stwierdzenie niedoborów w organizmie nie jest możliwe ze względu na brak odpowiednich testów do oznaczenia poziomu tego pierwiastka. Chrom jest niezbędnym pierwiastkiem dla przemian węglowodanowych, które odgrywają ważną rolę podczas wysiłku fizycznego.

Badaną populację stanowiło 62 polskich sportowców będących członkami Kadry Narodowej Polski w lekkiej atletyce (24 kobiety w wieku 19-31 lat i 38 mężczyzn w wieku 18-36 lat). W latach 2004 i 2005 ankietowani lekkoatleci reprezentowali Polskę na Mistrzostwach Europy, Mistrzostwach Świata oraz na Igrzyskach Olimpijskich w Atenach. Ogólne informacje o respondentach i sposobie żywienia (spożycie z ostatnich 24-godzin poprzedzających wywiad) zebrano metodą wywiadu kwestionariuszowego na treningowych obozach i zawodach sportowych z każdym z uczestników indywidualnie, z wykorzystaniem „Albumu fotografii produktów i potraw”.

Zawartość tiaminy i węglowodanów w dietach sportowców obliczono przy użyciu programu komputerowego „Wikt 1.3” bazującego na aktualnie obowiązujących tabelach wartości odżywczej produktów, opracowanych w Instytucie Żywności i Żywienia w Warszawie [39].

Dla pełniejszej analizy wartości odżywczej diety sportowców oznaczono analitycznie zawartość chromu w liofilizowanych całodziennych racjach pokarmowych (12 diet), odtworzonych na podstawie przeprowadzonych badań ankietowych. W analizowanych całodziennych racjach pokarmowych badanych sportowców nie stwierdzono deficytu chromu, suplementacja diety tym pierwiastkiem wydaje się być nieuzasadniona. Ocena całodziennych diet lekkoatletów pod względem stopnia realizacji norm na tiaminę i węglowodany pozwala stwierdzić, iż badane racje pokarmowe były niewystarczającym źródłem węglowodanów i tiaminy.

Uzyskane wyniki badań mogą być wykorzystane przy opracowaniu zaleceń żywieniowych dotyczących składu diety osób aktywnych fizycznie jak również uprawiający sport wy-czynowo.

6. Lebedzińska A., Żbikowski R., Czaja J., Szefer P.: Content of vitamins B₁₂, C, folate and the essentials trace elements in daily food rations of the Polish National Team of Athletes, *Polish Journal of Environmental Studies* 15, 124-126 (2006).

Niniejsza praca przedstawia ocenę spożycia witamin grupy B (B₁₂ i folianów), witaminy C, cynku, żelaza i miedzi w całodziennych racjach pokarmowych (CRP) sportowców będących członkami Kadry Narodowej Polski w lekkiej atletyce. Spożywanie produktów o dużym stopniu przetworzenia, zmniejszanie dziennych racji pokarmowych i mięsa oraz stosowanie diet ograniczających masę ciała to przyczyny anemii tzw. pokarmowej. Niedokrwistość żywieniowa jest przedmiotem szczególnego zainteresowania Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), dotyczy nie tylko sportowców. Z literatury światowej wynika, iż ok. 1,5% zgonów spowodowanych jest anemią wywołaną niedoborem żelaza (IDA - *iron deficiency anemia*). Brak jednego ze składników żywieniowych lub jego nadmiar, tj. żelaza, kwasu foliowego, białka, witamin B₁₂, B₆, B₂ a także miedzi, selenu, kobaltu, cynku, manganu lub molibdenu powoduje zaburzenia w syntezie krwinek czerwonych i hemoglobiny [3].

Badaną populację stanowiło 62 polskich sportowców (24 kobiety w wieku 19-31 lat i 38 mężczyzn w wieku 18-36 lat). Ogólne informacje o respondentach i sposobie żywienia (spożycie z ostatnich 24-godzin poprzedzających wywiad) zebrano metodą wywiadu kwestionariuszowego na treningowych obozach i zawodach sportowych z każdym z uczestników indywidualnie, z wykorzystaniem „Albumu fotografii produktów i potraw”. Zawartość witamin i biopierwiastków mineralnych w dietach sportowców obliczono przy użyciu programu komputerowego „Wikt 1.3” bazującego na aktualnie obowiązujących tabelach wartości odżywczej produktów, opracowanych w Instytucie Żywności i Żywienia w Warszawie [39].

Celowe wydaje się prowadzenie kompleksowych badań diet pod kątem zawartości witamin i mikroelementów tzn. składników odżywczych biorących udział w przemianach krwiotwórczych. Analizowane diety lekkoatletek, jak i lekkoatletów pokrywały dzienne zapotrzebowanie na cynk i miedź, natomiast zarówno diety badanych kobiet jak i mężczyzn nie wypełniały poziomu bezpiecznego spożycia żelaza. Wykazano znaczne różnice w poziomie spożycia żelaza w CRP (całodzienniej racji pokarmowej) w zależności od płci. Zawartość żelaza w dietach mężczyzn jest znacznie wyższa niż kobiet. Średnia zawartość analizowanych witamin grupy B (B₁₂, folianów) i witaminy C spożytych w CRP przez badanych sportowców wypełniała zalecane dzienne bezpieczne spożycie.

Zapotrzebowanie na miedź, pierwiastek niezbędny do uruchomienia rezerw żelaza bardzo często nie jest realizowane, co potwierdzają badania Olędzkiej i wsp. [43], w których wykazano, że zawartość miedzi w analizowanych dietach odniesiona do norm polskich jest niewystarczająca. Przystawalność składników mineralnych z diety zależy od ich wzajemnych pro-

porcji ilościowych; interakcje pomiędzy żelazem, cynkiem i miedzią nie są do końca dobrze poznane. Wiadomym jest, iż wysoka zawartość cynku w diecie powoduje obniżenie absorpcji i retencji miedzi w organizmie [15].

Niedostateczna ilość witamin i soli mineralnych w diecie sportowców wymusza dodatkową suplementację. Na podstawie badań ankietowych stwierdzono, że większość sportowców wspomaga się spożywając suplementy diety, które mogą odgrywać korzystną rolę w uzupełnianiu witamin i minerałów pochodzących z diety pod warunkiem dostosowania ich składu do aktualnych potrzeb organizmu. Niedokrwistość na tle niedoborów żywieniowych może powstawać przede wszystkim z powodu niedostatecznej ilości w pożywieniu żelaza, kwasu foliowego i witaminy B₁₂; żeby uniknąć niebezpieczeństwa powstawania anemii na tle wadliwego żywienia należy wybierać pożywienie, które jest bogatym źródłem tych elementów diety.

7. Lebedzińska A., Żbikowski R., Czaja J., Marszał M., Szefer P.: Ocena sposobu żywienia Kadry Narodowej Polskich Lekkoatletów. Porównanie wyników badań analitycznych z oceną teoretyczną. Część I – wybrane podstawowe składniki odżywcze i witaminy grupy B. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 39, 327- 330 (2006).

Celem tej pracy było porównanie zawartości niezbędnych podstawowych składników odżywczych (wartość energetyczna, węglowodany, białka, tłuszcze, woda i popiół) oraz witamin z grupy B (B₆ i B₁₂) oznaczonych analitycznie i obliczonych teoretycznie w całodziennych dietach sportowców oraz ocena pobrania składników odżywczych przez badanych lekkoatletów.

Zarówno niedobory jak i nadmierne spożywanie składników odżywczych żywności mają na ogół niekorzystny wpływ na zdrowie człowieka. Spożycie poszczególnych składników pokarmowych może być oceniane różnymi metodami: metodą bilansów żywnościowych, badań budżetów gospodarstw domowych i wywiadów żywieniowych. Najbardziej dokładne są badania analityczne pozwalające ocenić wartość odżywczą całodziennych racji pokarmowych. Na podstawie komputerowej analizy szacunkowej wybrano po sześć jednodniowych diet badanych kobiet i mężczyzn w celu analitycznego oznaczenia zawartości składników odżywczych w badanych posiłkach. Czynnikiem decydującym o wyborze diet był udział poszczególnych składników odżywczych w dostarczaniu energii. Produkty spożywcze będące składnikami 12 analizowanych diet zakupiono w sieci gdańskich placówek handlowych. Po odważeniu produktów (zgodnie z ankietami) poddano je homogenizacji. Część homogenizatu poddano procesowi liofilizacji w celu oznaczenia zawartości witamin z grupy B (B₆ i B₁₂). Oznaczono zawartość podstawowych składników odżywczych tj. białka metodą *Kjeldahla*, tłuszczu metodą ekstrakcyjno-wagową z zastosowaniem chloroformu, wody metodą suszenia do stałej masy w temperaturze 105 °C. Zawartość węglowodanów obliczono jako tzw. „różnicę” uwzględniając zawartość błonnika, którą przyjęto z tabel wartości odżywczej. Wartość energetyczną oszacowano metodą klasyczną. Witaminy B₆ i B₁₂ oznaczono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz z detektorem elektrochemicznym Coulochem II (ESA, Bedford, USA) stosując opracowaną metodę.

Analizę teoretyczną oceny wartości odżywczej przeprowadzono przy użyciu programu komputerowego. Wykazano różnice w zawartości składników odżywczych pomiędzy danymi tabelarycznymi, a rzeczywistą zawartością tych składników w dietach. Dla podstawowych składników odżywczych wykazano na ogół dodatnią korelację pomiędzy wynikami obliczonymi analitycznie a teoretycznie przy pomocy programu Wikt ($p < 0,01$; $p < 0,001$). Nie odnotowano korelacji w przypadku oznaczeń białka, którego zawartość była wyższa dla

danych uzyskanych analitycznie. Zawartość węglowodanów była zbyt niska w badanych dietach kobiet w stosunku do ilości białka, gdyż jest jedynie 2,85 razy większa. Spożywanie odpowiedniej ilości i właściwego rodzaju węglowodanów jest bardzo ważne dla każdego człowieka, a szczególnie w sporcie. Zawartość witaminy B₆ oznaczona analitycznie w dietach kobiet i mężczyzn ($2,04 \pm 0,63$ mg i $2,12 \pm 0,61$ mg) była niższa od wartości określonych szacunkowo ($3,25 \pm 1,57$ mg i $3,37 \pm 0,78$ mg). W przypadku witaminy B₁₂ w posiłkach lekkoatletek stwierdzono statystycznie istotną różnicę ($p < 0,05$) pomiędzy ilością analitycznie oznaczoną ($5,22 \pm 1,72$ µg) a szacunkową ($2,57 \pm 1,90$ µg), natomiast nie wykazano tej korelacji w przypadku diet mężczyzn. W tym wypadku zaobserwowano również wysoce statystycznie znamiennej korelację ($p < 0,01$) pomiędzy wynikami oszacowanymi, a oznaczonymi analitycznie.

Wykazane różnice zawartości oznaczanych składników odżywczych w dietach lekkoatletów mogą wynikać z wielu przyczyn. Jedną z nich może być zamienne stosowanie produktów spożywczych przy obliczaniu teoretycznym wartości odżywczej racji pokarmowej (brak składu niektórych potraw w programie komputerowym). Innymi czynnikami różnicującymi może być sezonowość, miejsce zbioru, a także dokonywane zabiegi technologiczne dotyczące produktów spożywczych wchodzących w skład potraw diet odtwórczych.

W wyniku przeprowadzonych oznaczeń zawartości podstawowych składników odżywczych w posiłkach lekkoatletów i lekkoatletek stwierdzono, że ilości te są wystarczające do pokrycia zapotrzebowania na białko i tłuszcz. W przypadku bardzo intensywnego treningu ilość węglowodanów, wody oraz witamin B₆ i B₁₂ w diecie może się okazać niewystarczająca do pokrycia zapotrzebowania u osób o bardzo wysokiej aktywności fizycznej, jakimi są badani lekkoatleci.

Przeprowadzona analiza teoretyczna przy użyciu programu komputerowego oraz oznaczenia analityczne poparte analizą statystyczną pozwalają stwierdzić, że w niektórych przypadkach istnieją różnice w zawartości składników odżywczych pomiędzy danymi tabelarycznymi, a rzeczywistą zawartością tych składników w dietach.

Ocena sposobu żywienia młodzieży akademickiej, chemometryczna metodyka interpretacji wyników badań (8)

8. Lebedzińska A., Kostrzewa A., Ryśkiewicz J., Żbikowski R., Szefer P.: Preferences, consumption and choice factors of fish and seafood among university students, *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 15/56, 1, 91-96 (2006).

Praca przedstawia wyniki badań własnych dotyczących preferencji i częstości spożycia ryb i owoców morza w celu uzyskania informacji na temat znajomości produktów pochodzenia morskiego wśród młodzieży akademickiej. Konsumpcja ryb i owoców morza na świecie systematycznie wzrasta, natomiast w Polsce jest niewystarczająca i ciągle maleje. Badaniem preferencji w zakresie spożycia ryb i owoców morza objęto grupę 200 studentów Akademii Medycznej w Gdańsku. Określono ważność czynników wpływających na wybór ryb i owoców morza oraz częstość ich spożywania stosując 10 atrybutów wyboru: smak, świeżość, wygląd zewnętrzny, wpływ na zdrowie, wartość odżywcza, przyzwyczajenia (nawyki żywieniowe), nowość na rynku, moda, cena i dostępność. Najczęściej wskazywanymi przez studentów czynnikami wyboru były smak i świeżość. Stwierdzono, że o wyborze produktu rybnego w większym stopniu decydowały czynniki sensoryczne, aniżeli ekonomiczne. Kobiety,

w przeciwieństwie do mężczyzn, w większym stopniu brały pod uwagę wartość odżywczą ryb i owoców morza. Z analizy danych wynika, że 43% poddanych badaniom respondentów spożywa ryby jeden raz w tygodniu. Najczęściej konsumowane były ryby smażone i wędzone. Preferencje spożycia sześciu rodzajów owoców morza oceniono w oparciu o skalę zawierającą cztery warunkujące czynniki wyboru: „nie lubię”, „umiarkowanie lubię”, „lubię” i „bardzo lubię”. Uzupełnieniem skali hedonicznej była dodatkowa rubryka „nie znam”. Do ryb o wysokiej preferencji studenci zaliczyli: łososia, tuńczyka, szczupaka i makrełę.

Analiza PCA wyodrębniła tuńczyka i śledzia spośród preferowanych ryb, prawdopodobnie dostępność, niska cena i łatwość przygotowania posiłku miały wpływ na wybór ryb. Zastosowanie chemometrycznej metody interpretacji wyników badań pozwoliło wyodrębnić takie ryby, jak tuńczyk i śledź spośród 15 gatunków ryb najczęściej wybieranych w aspekcie 10 czynników wyboru. Owoce morza, w skali preferencyjnej, zostały ocenione jako niezbyt lubiane. Zarówno kobiety, jak i mężczyźni do najczęściej wybieranych zaliczyli krewetki ($p < 0,001$). Przeprowadzona analiza skupień pozwoliła na wyodrębnienie klastra krewetek (odległość euklidesowa ok. 19) od pozostałych owoców morza, jako najbardziej preferowanych. Większość respondentów nie знаła badanych owoców morza, co zdecydowało o niskiej średniej wartości preferencji.

Zastosowana w niniejszej pracy analiza skupień okazała się wysoce przydatna w interpretacji uzyskanych danych. Należy podkreślić fakt, iż została po raz pierwszy użyta w badaniach krajowych dotyczących oceny preferencji i częstości spożycia ryb i owoców morza wśród polskich konsumentów.

Przeprowadzono również badania dotyczące częstości spożycia produktów zbożowych i rodzaju spożywanego pieczywa wśród studentów Politechniki Gdańskiej (PG) i Wyższej Szkoły Wychowania Fizycznego i Turystyki w Sopocie (WSWFiT), [37]. Przebadano 171 osób w wieku 20 - 31 lat (111 - PG, 60 - WSWFiT). Analizowano liczbę posiłków w ciągu dnia, które zawierały produkty zbożowe takie jak pieczywo, płatki śniadaniowe, kasze, makarony i ryż. Dzienna racja pokarmowa studentów odznaczała się niską częstością spożycia produktów zbożowych, większość badanych studentów preferuje pieczywo jasne.

Zachowania konsumentów w zakresie wyboru produktów zbożowych ulegają ciągłym zmianom, w Polsce na przestrzeni ostatnich lat spożycie chleba obniża się [GUS]. Na krajowym rynku obserwuje się coraz szerszy asortyment pieczywa, tradycyjne receptury wypieków są modyfikowane i ulepszane w celu uzyskania chleba o lepszych cechach sensorycznych i wyższej wartości odżywczej. Badania dotyczące czynników wyboru chleba prowadzone w Norwegii wykazały, iż informacje o tzw. organicznych uprawach, mają pozytywny wpływ na preferencje konsumenckie. W okresie rozwoju rolnictwa alternatywnego rośnie zainteresowanie pszenicą orkisz, która dzięki specyficznym właściwościom białek odznacza się formowaniem glutenu w postaci błon lepko-sprężystych, co gwarantuje wysoką jakość miękkiszu chleba. W Polsce spada spożycie chleba [44], prawdopodobnie na korzyść rafinowanych produktów zbożowych (gotowe produkty śniadaniowe), co może wpływać niekorzystnie na pobranie witamin grupy B z dzienną racją pokarmową.

IV. PODSUMOWANIE

Tradycyjnymi czynnikami środowiskowymi, które podejrzewa się o wpływ na powstawanie wrodzonych wad rozwojowych i wzrostu zachorowalności na tzw. choroby cywilizacyjne są: promieniowanie radioaktywne, skażenie środowiska, infekcje, podawanie leków oraz czynniki społeczno-ekonomiczne. Obecnie, za najlepiej udokumentowany i poznany środowiskowy czynnik ryzyka zachorowań uważa się niepełnowartościowe żywienie. Prawidłowy rozwój, sprawność fizyczna i umysłowa oraz stan zdrowia człowieka w znacznej mierze zależy od stylu życia, tzn. również od sposobu żywienia i jakości zdrowotnej diety. Różnorodność wytwarzanej żywności jest istotna z żywieniowego i pro zdrowotnego punktu widzenia, pozwala na stosowanie diety urozmaiconej. Podstawy tzw. „zdrowego odżywiania” można określić w dwóch słowach: dieta powinna być *urozmaicona i zrównoważona*.

Z punktu widzenia zachowania zdrowia i prewencji chorób układu krążenia, chorób nowotworowych i procesów starzenia się organizmu, szczególnego znaczenia nabierają badania wyjaśniające relację pomiędzy żywieniem a przebiegiem procesów metabolicznych. Witaminy grupy B (kwas foliowy, witamina B₁₂, B₆ i niacyna) poprzez wpływ na przemiany metaboliczne, aktywację lub dezaktywację kancerogenów oraz procesy syntezy i naprawy DNA mogą być uważane za kluczowe czynniki środowiskowe decydujące o stabilności genomu człowieka, co znajduje odzwierciedlenie w publikacjach naukowych [18-22].

Opracowanie nowoczesnych metod analitycznych oznaczania witamin B₆, B₁₂, B₁ i kwasu foliowego w żywności umożliwia określenie ich zawartości w pożywieniu, a także ocenę adekwatności spożycia w kontekście niedoborów czy też nadmiernego spożycia. Ponadto, badanie zawartości witamin w produktach spożywczych pozwala na kontrolę procesów produkcyjnych żywności nowej generacji, zwłaszcza fortyfikowanej witaminami.

Uzyskane wyniki badań dotyczące oceny bromatologicznej produktów zbożowych, ryb i owoców morza mają znaczenie poznawcze i praktyczne. Mogą być wykorzystane zarówno przez żywieniowców, lekarzy i dietetyków, jak i producentów żywności, w opracowaniu rekomendacji żywieniowych, diet i receptur, co ma istotne znaczenie w prewencji zdrowia współczesnego człowieka.

V. WNIOSKI

1. Opracowano nowe metody separacji i oznaczeń ilościowych zawartości witamin grupy B, tj. B₁₂, B₆ i B₁ w żywności i suplementach diety przy użyciu techniki HPLC z detekcją kulometryczną ultrafioletu UV.
2. Wykazano, że zawartość witamin grupy B w produktach spożywczych i całodziennych racjach pokarmowych zależy od czynników antropogennych i powinna być istotnym elementem w ocenie profilu odżywczego diety człowieka.
3. Badanie preferencji i częstości spożycia produktów spożywczych wśród młodzieży akademickiej wskazuje na nieznaną fakt, że pieczywo pełnoziarniste, ryby i owoce morza są bardzo dobrym źródłem składników odżywczych, w tym również witamin grupy B.

VI. PIŚMIENNICTWO

1. Wolański, N.: *Rozwój Biologiczny Człowieka*. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa 2005.
2. Traczyk, W., Z., Trzebisz, A. *Fizjologia Człowieka z Elementami Fizjologii Stosowanej i Klinicznej*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL. Warszawa 2003.
3. Ball, G., F., M.: *Vitamins in Foods. Analysis, Bioavailability, and Stability*. CRC - Press. Taylor & Francis 2006.
4. Finglas, P.M., Meer, K., Molloy, A., Verhoef, P., Pietrzik, K., Powers, H.J., Straeten, D., Jägerstad, M., Varela-Moreiras, G., Vliet, T., Havenaar, R., Buttriss, J., Wright, A.J.A. Research goals for folate and related B vitamin in Europe. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2006, 60, 287-294.
5. WHO. Global strategy on diet, physical activity and health. Fifty-seven world health assembly, Agenda item. 2004, 12, 6.
6. Yehuda, S., Mostofsky, D., I. *Nutrients, stress, and medical disorders*. Humana Press Inc. Totowa, New Jersey 2006.
7. De Backer G., Ambrosioni E., Borch-Johnsen K., Brotons C., Cifkova R., Dallongeville J., European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice, *Eur. Heart J.*, 2003, 24, 1601-1610.
8. Rosenberg J.H., Perspective: fish-food to calm the hart, *New Engl. J. Med.*, 2002, 346, 15, 1102 – 1103.
9. Trondsen T., Btaaten T., Lund E., Consumption of seafood – the influence of overweight and health beliefs, *Food Qual. Pref.*, 2004, 15, 361 – 374.
10. Moszczyński, P., Pyć, R., *Biochemia Witamin – Witaminy Grupy B i Koenzymy*, PZWN, Warszawa 1998.
11. Mandel, S., Packer, L., Youdim M.B.H., Weinreb, O. Proceedings from the “Third International Conference on Mechanism od Action of Nutraceuticals”, *J. Nutr. Biochem.*, 2005, 16, 513-520.
12. Krygier, K. Żywność funkcjonalna w Polsce i na świecie, *Przem. Spoż.*, 2003, 11-14.
13. Kunachowicz, H., Nadolna, I., Stok, K., Brozek, A., Szponar, L. Folic acid fortified food and their importance in health promotion, *Przegląd Lekarski*, 2004, 61, 1, 30-34.
14. Kunachowicz, H.: Zalecenia żywieniowe a specyfika żywności wytwarzanej w Polsce, *Przem. Spoż.*, 2004, 7, 2-5.
15. Bogden, J., D., Klevay, L., M.: *Clinical Nutrition of the Essential Trace Elements and Minerals*. Humana Press Inc. Totowa, New Jersey 2000.
16. *Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline*, Institute of Medicine, Food and Nutrition Board, Washington D.C., National Academy Press, Washington, D.C. 1998.

17. Gronowska-Senger, A.: Nowe poglądy w zakresie zaleceń spożycia składników Odżywczych. *Żyw. Człow. Metabol.*, 2003, XXX, 1, 34-49.
18. Nowicka, G.: Badania genetyczne w naukach żywieniowych: witaminy a stabilność genomu. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005, 79-82.
19. Strover P.J.: Physiology of folate and vitamin B₁₂ in health and disease. *Nutr. Rev.*, 2004, 62, 3-12.
20. van Der Put, N.M.J., Van Straaten, H.W.M., Trijbels, F.J.M., Blom, H.J. Folate, Homocysteine and Neural Tube Defects: An Overview. *Exp. Biol. Med.*, 2001, 226(4), 243-270.
21. Quinlivan, E.P., McPartlin, J., McNulty, H., Ward, M., Strain, J.J., Weir, D.G., Scott, J.M. Importance of both folic acid and vitamin B₁₂ in reduction of risk of vascular disease, *Lancet*, 2003, 359, 227-228.
22. McCullough, M., Giovannucci, E.L. Diet and cancer prevention, *Oncogene*, 2004, 23, 6349-6364.
23. AOAC International (2003). *Official Methods of Analysis*, AOAC International, Arlington, VA.
24. Mello, L., D., Kubota, L.: Review of the use of biosensors as analytical tools in the food and drinks industries. *Food Chem.*, 2002, 77, 237-256.
25. Venugopal, V.: Biosensors in fish production and quality control. *Biosens. Bioelectr.*, 2002, 17, 147-157.
26. Jarosz, M.: *Nowoczesne Techniki Analityczne*. Praca zbiorowa pod redakcją M. Jarosza. Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej. Warszawa 2006.
27. Eitenmiller, R., Landen, W., O. *Vitamin Analysis for the Health and Food Sciences*. CRC Press LLC 1999.
28. Flangan, R.J., Perrett, D., Whelpton, R. *Electrochemical Detection in HPLC. Analysis of Drugs and Poisons*. RSC Chromatography Monographs, Cambridge 2005.
29. Kaliszan, R.: *Structure and Retention in Chromatography. A Chemometric Approach*. Harwood Academic Publishers, Amsterdam 1997.
30. Szefer, P.: Application of chemometric techniques in analytical evaluation of biological and environmental samples; w: *New Horizons and Challenges in Environmental Analysis and Monitoring* (Eds. J. Namieśnik, W. Chrzanowski, P. Żmijewska), CEEAM, Chap. 18, pp. 355-388, Gdańsk 2003.
31. Stanisław, A.: *Biostatystyka*. Praca zbiorowa pod redakcją A. Stanisława. Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego. Kraków 2005.
32. Szefer, P., Nriagu, J.O. (Eds.): *Mineral Components in Foods*. CRC Press – Taylor & Francis, Florida 2007.
33. www.erna.org „Witamin and mineral supplement: a risk management model”.
34. Lebidzińska A., Marszał M.L., Szefer P.: Reverse-phase high-performance liquid chromatography method with coulometric electrochemical and ultraviolet detection for the quantification of vitamins B₁, B₆ (pyridoxamine, pyridoxal, pyridoxine) and B₁₂ in animal and plant food. *J. Chromatogr. A.*, manuskrypt pracy po korekcie, wysłany do druku (2006).

35. Lebedzińska, A., Dąbrowska, M., Marszałł, M., Szefer, P.: High-performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of folic acid in fortified food products. *Toxic. Mechanism Meth.*, praca wysłana do druku (2006).
36. Lebedzińska, A., Marszałł, M., Sperra, J., Szefer, P.: Pieczywo wzbogacone mąką z nasion winogron źródłem witamin grupy B, *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2006, 39, 2, 121-125.
37. Lebedzińska, A.: Wybrane produkty zbożowe jako elementy funkcjonalne diety - częstość spożycia produktów zbożowych wśród studentów. *Roczn. PZH*, 2007. Manuskrypt pracy przyjęty do druku.
38. Lebedzińska, A., Cyman, E.: Fortyfikowane produkty zbożowe źródłem witamin grupy B. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2006, 39, praca przyjęta do druku.
39. Kunachowicz, H., Nadolna, I., Przygoda, B., Iwanow, K.: *Tabele Składu i Wartości Odżywczej Żywności*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL. Warszawa 2005.
40. Souci, S.W., Fachmann, W., Kraut, H.: *Food Composition and Nutrition Tables*. Medpharm, Stuttgart 2000.
41. Lebedzińska, A., Zdrojewska, I., Szefer, P.: Ocena wartości odżywczej wybranych mięczaków. *Roczn. PZH*, 2004, 55, 165-169.
42. Lebedzińska, A., Kwoczek, M., Marszałł, M., Lipka, B., Szefer, P.: Ostrygi źródłem witamin grupy B i składników mineralnych, *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2006, 323-326.
43. Olędzka, R., Karpińska, D., Majewska, W., Bobrowska B.: Ocena spożycia żelaza, cynku i miedzi przez studentów w całodziennych racjach pokarmowych i suplementach. *Żyw. Człow. Metab.*, 2005, 32, 1/2, 1275-1279.
44. *Rocznik Statystyczny Rzeczypospolitej Polskiej*. Główny Urząd Statystyczny, Warszawa 2005.

VII. ODBITKI PUBLIKACJI STANOWIĄCYCH PRZEDMIOT ROZPRAWY HABILITACYJNEJ