

Karotenoidy. Naturalne źródła, biosynteza, wpływ na organizm ludzki

¹Institut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu

Dyrektor Instytutu: prof. dr hab. Grzegorz Sychalski

²Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Katedra Chemii i Biochemii Klinicznej, Zakład Chemii Ogólnej
Kierownik Zakładu: prof. dr hab. Maria Iskra

CAROTENOIDS. NATURAL SOURCES, BIOSYNTHESIS, INFLUENCE ON HUMAN BODY

SUMMARY

Carotenoids belong to a group of compounds characterized by a general ability to protect the body against many serious diseases, such as impaired growth of children, the occurrence of many types of cancer, eye damage. Protective effect of carotenoids is associated mainly with the ability to scavenger free radicals and reactive oxygen species. These compounds are common in many plants, which are components of daily diet. Due to lack of synthesis of the resulting cycle of those compounds in animals, these substances are extremely important for the proper functioning of the body. Only consume large amount of plant in our daily diet can help protect the body against many irreversible consequences of disease.

KEY WORDS: CAROTENOIDS – α -CAROTENE – β -CAROTENE – LYCOPENE – ZEAXANTHIN

Wstęp

W świadomości przeciętnego konsumenta roślinnych produktów spożywczych (zarówno warzyw, owoców, jak i suplementów diety) pod nazwą karotenoidy kryje się β -karoten, witamina A (retinol), z pewnością rzadziej likopen. Jednakże klasa tych związków jest bardzo liczna (zidentyfikowano już ponad 600 związków (1, 2)), a ich prozdrowotny wpływ na organizm ludzki jest nieograniczony. Takie właściwości posiadają m.in. α -karoten, luteina, kantaksantyna czy zeaksantyna. Najważniejszą cechą karotenoidów jest działanie antyoksydacyjne wobec reaktywnych form tlenu, jak i wolnych rodników. Dzięki tej właściwości karotenoidy chronią organizm przed wieloma ciężkimi, przewlekłymi chorobami. Częste stosowanie w diecie produktów bogatych w te związki skutecznie przeciwdziałają rozwojowi nowotworów oraz miażdżycy.

Ogólna charakterystyka karotenoidów

Dotychczas zidentyfikowano ponad 600 karotenoidów, z czego 60 z nich występuje w codziennej diecie,

a 20 można wykryć we krwi (3, 4). Karotenoidy to substancje nadające barwę od żółtej do czerwonej zarówno roślinom, jak i zwierzętom (2, 4-7). Aby karotenoidy dawały zabarwienie od żółtego po czerwone, muszą mieć w łańcuchu minimum 7 wiązań podwójnych. Takie substancje jak fitoene czy fitofluen, mające jedynie 3 i 5 wiązań podwójnych, są bezbarwne. W połączeniu z niektórymi białkami (zwanymi karotenoproteinami) mogą przyjmować inne zabarwienie – od niebieskiego do purpurowego, czy zielonego. Tego typu kompleksy karotenoidów można odnaleźć u morskich bezkręgowców (8). To właśnie karotenoidy nadają piękną barwę piórom, łuskom i skórze zwierząt. W przeciwieństwie do roślin, zwierzęta nie potrafią samodzielnie syntetyzować ich na drodze procesów biochemicznych. Dlatego też substancje te muszą być dostarczane do organizmu wraz z dietą (5, 7, 9).

Najpopularniejszymi karotenoidami występującymi w diecie są: α - i β -karoten, β -kryptoksantyna, luteina, likopen i zeaksantyna. Karotenoidy wchłaniane są przez jelita do krwi, która za pomocą lipoprotein, transportuje je do różnych tkanek w organizmie. Można odnaleźć badania, które mówią, że receptory zmiatające klasy B typu 1 (SR-B1) oraz różnicowania białka błonowego (CD 36), odpowiedzialne za transport cholesterolu, ułatwiają wchłanianie karotenoidów przez jelita. Receptory transportujące mogą również ułatwić wchłanianie karotenoidów poprzez warstwę naskórka. Ze względu na powszechność występowania tkanki tłuszczowej w organizmach zwierzęcych, jest ona głównym miejscem kumulacji dużej ilości karotenoidów. Karotenoidy obecne w tkance ludzkiej uważane są za substancje markerowe stosowanej diety. Ze względu na większą stabilność tkanki tłuszczowej, obecne w niej karotenoidy są łatwiejsze do wykrycia w porównaniu do karotenoidów we krwi, gdzie szybkość ich połowicznego rozpadu jest wyższa (10). Jedną z ważniejszych właściwości karotenoidów obecnych w organizmach zwierzęcych jest fakt, iż są one miernikiem stanu zdrowia danego osobnika. Poza

prozdrowotnym działaniem na organizmy, odgrywają one ważną rolę w wabienu osobników płci przeciwnej (5, 7).

Karotenoidy rozpuszczają się w tłuszczach. Proces ten ma wpływ na wiele biologicznych procesów, takich jak fotosynteza, zdolność widzenia, czy zmiatanie wolnych rodników i tlenu singletowego (1, 7, 11, 12).

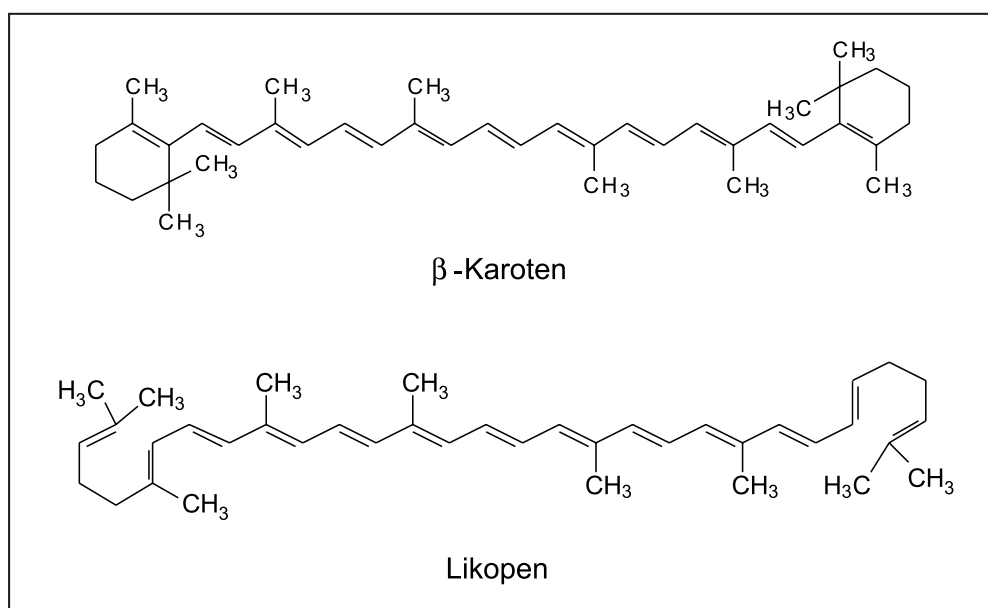
Budowa

Patrząc na strukturę chemiczną tych związków wiadać układ 11 sprzężonych wiązań podwójnych (ryc. 1), dzięki którym można je zaklasyfikować do grupy poliizoprenoidów (3, 4, 12, 13). Związki te są nierozpuszczalne w wodzie, natomiast bardzo dobrze rozpuszczają się w tłuszczach, z którymi często tworzą estry. Ze względu na różnice w łańcuchu poliizoprenoidowym, karotenoidy można podzielić na 2 grupy. Pierwsza to związki zawierające jedynie atomy węgla i wodoru o wzorze sumarycznym $C_{40}H_{56}$, najczęściej to izomery *all-trans*, które są termodynamicznie bardziej stabilne (3, 13). Zmiana izomerii na *cis-trans* jest możliwa w podwyższonej temperaturze i/lub w obecności intensywnego promieniowania. Izomery *cis* można odnaleźć w warzywach i owocach, są to też produkty przemiany metabolicznej pożywienia (11). Ze względu na taką budowę karotenoidy są substancjami mało polarnymi, absorbują promieniowanie o wyższej długości fali (2). Do pierwszej grupy karotenoidów zalicza się również związki, które mają krótsze łańcuchy węglowe, ale wyposażone w centralny fragment karotenu z 4 grupami metylowymi (np. biksyna) (ryc. 2) (3).

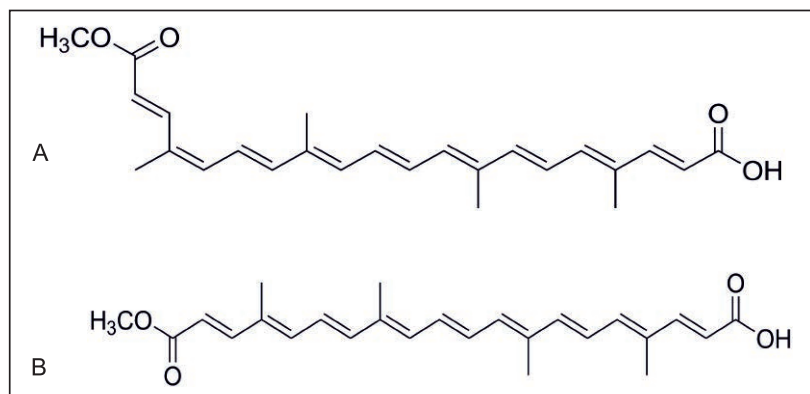
Druga grupa związków zawiera minimum jeden atom tlenu, znajdujący się np. w grupie hydroksylowej, karbonylowej, karboksylowej czy hydroksymetylowej. Tę drugą grupę karotenoidów określa się mianem ksantofili (ryc. 3). Ksantofile są szeroko występującą w naturze grupą związków, wykazującą podobieństwo zarówno chemiczne, biochemiczne, jak również fizykochemiczne (3, 13). Ksantofile są to związki bardziej polarne, absorbujące promieniowanie o niższych długościach fali niż większość karotenoidów (2).

Biosynteza karotenoidów

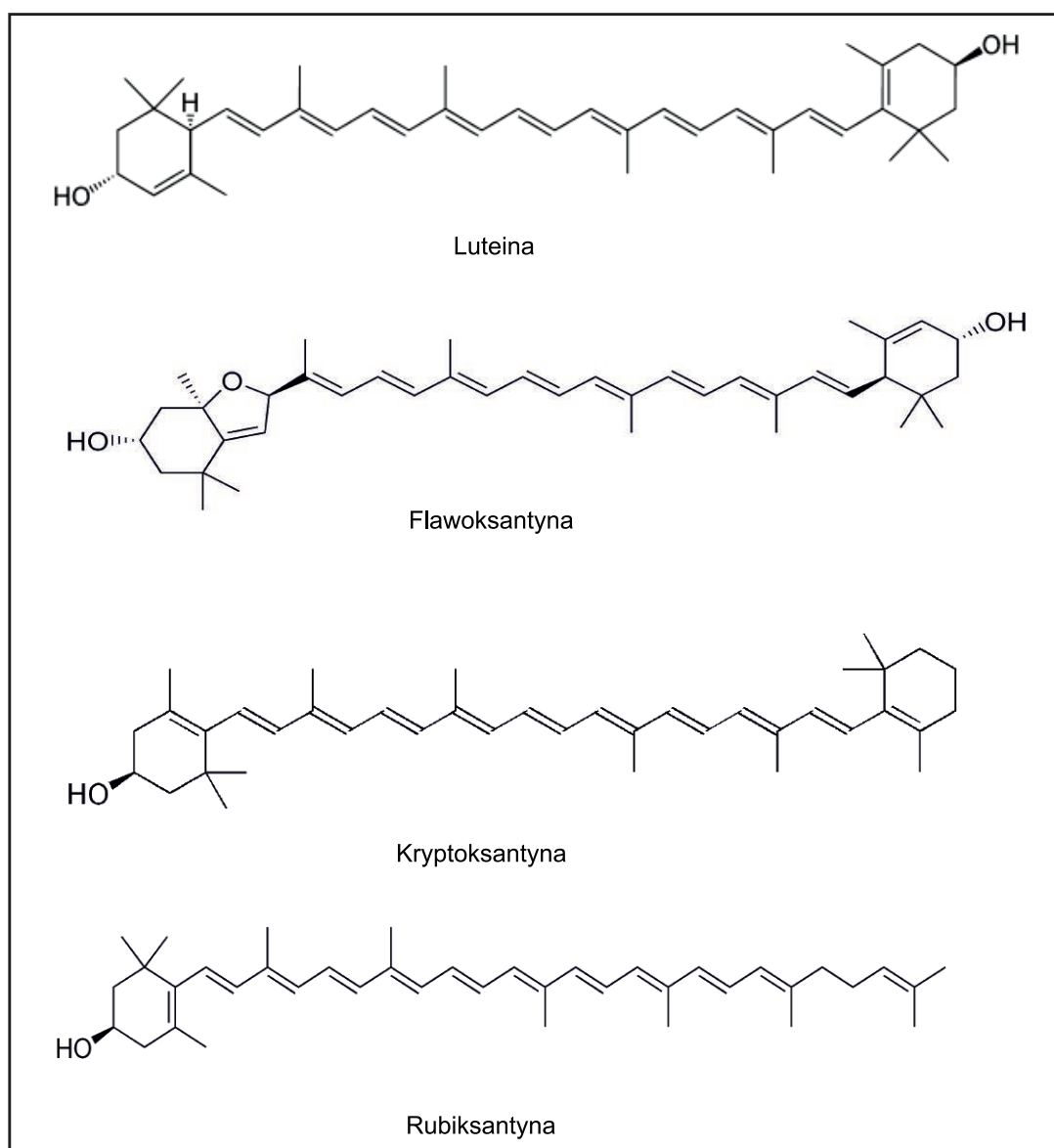
Naukowcy od lat 60. XX wieku prowadzili liczne eksperymenty, aby zrozumieć biochemiczne procesy prowadzące do powstania cząsteczek karotenoidów (14). Grupa karotenoidów C_{40} jest najbardziej zróżnicowana i rozpowszechniona. Różnego rodzaju związki z tej grupy można znaleźć w wielu organizmach, tj. bakterie, archebakterie, algi, grzyby, czy rośliny. Związki te syntetyzowane są w dwojaki sposób. Duża większość, bo aż 95% z nich, powstaje w wyniku procesu kondensacji 2 cząsteczek difosforanu digeranilu (GGPP, $C_{20}PP$), konsekwencją czego jest symetryczny szkielet fitoenu C_{40} (1). Proces ten zachodzi w obecności syntazy fitoenu (PSY). Powstały w ten sposób fitoenu ulega 4-stopniowej przemianie w reakcjach katalizowanych oksydazami, czego następstwem jest powstanie cząsteczki likopenu. W wyniku reakcji cyklizacji powstaje α -karoten i β -karoten. W kolejnych etapach β -karoten w reakcji hydroksylacji przekształcany jest w zeaksantynę, natomiast α -karoten – w luteinę. Enzym epoksydaza zeaksanty-



Ryc. 1. Struktura chemiczna β -karotenu i likopenu.



Ryc. 2. Biksyna: A – izomer *cis*, B – izomer *trans*.



Ryc. 3. Budowa chemiczna związków ksantofilowych.

nowa w 2-stopniowej reakcji przekształca zeaksantynę w anteraksantynę i wiolaksantynę. Finalnie u roślin wyższych wiolaksantyna przekształcana jest za sprawą syntazy neoksantynowej w neoksantynę. Przy udziale dużej ilości światła wiolaksantyna może ulec powrotnej przemianie w anteraksantynę za sprawą aktywnej deepoksydazy wiolaksantynowej (VDE).

Przemiana wiolaksantyny i zeaksantyny nazywana jest cyklem ksantofilowym (ryc. 4). Jest ona mechanizmem przystosowawczym rośliny do zmian (w szczególności intensywności światła) zachodzących w otoczeniu. Przy częściowym niedoborze światła lub w ciemności przemiana zeaksantyny do wiolaksantyny jest faworyzowana, konsekwencją czego jest wysoka zawartość wiolaksantyny. Natomiast gdy roślina przebywa w silnie nasłonecznionym miejscu, wiolaksantyna przekształcana jest w zeaksantynę, zwiększając jej zawartość w tkankach. Stosunek zeaksantyny i wiolaksantyny jest miarą stresu, wywołanego np. zmianą temperatury otoczenia, czy dostępności wody (14). Oprócz nasłonecznienia i temperatury, ważnym czynnikiem wpływającym bezpośrednio na skład chemiczny liści jest napromieniowanie.

Dla przykładu, ważnym parametrem fizycznym dla procesu biosyntezy likopenu w pomidorach jest temperatura. Zaobserwowano wzrost zawartości tej substancji w temperaturze 12-21°C, natomiast powyżej 30°C następowało spowolnienie tego procesu (2).

Druga grupa karotenoidów powstaje na drodze syntezy 2 cząsteczek difosforanu farnezyli (FPP, C₁₅PP).

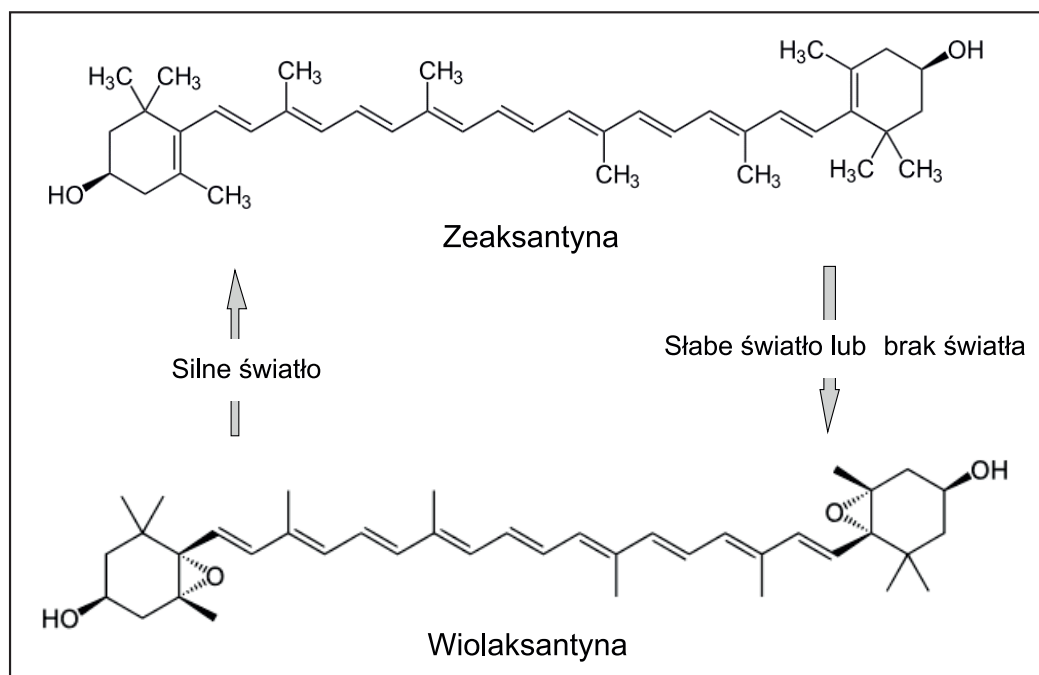
W wyniku tego procesu tworzy się łańcuch zawierający 30 atomów węgla. Powszechność tej grupy cząsteczek ogranicza się do bakterii z rodziny *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Methylobacterium* oraz *Heliobacterium* (1).

Charakterystyka podstawowych karotenoidów

Karotenoidy od wielu lat były interesującym tematem dla naukowców. Prowadzone liczne eksperymenty miały nie tylko na celu ich identyfikację, ale również, a może przede wszystkim, wyjaśnienie ich enzymatycznego i genetycznego wpływu na organizmy. U roślin karotenoidy często znajdują się w niefotosyntetyzujących organach, tj. owoce, nasiona czy kwiaty. Są to najczęściej produkty drugorzędowych reakcji metabolicznych, czyli oksydacji, rozpadu łańcucha polienowego i izomeryzacji (*Z/E* i *cis-trans*) (15).

Karotenoidy pełnią bardzo ważne funkcje w świecie roślin. Odpowiadają za stabilność błon lipidowych, biorą udział w gromadzeniu światła w procesie fotosyntezy, jak również ochronie przed procesem fotooksydacji wywołanym przez reaktywne formy tlenu powstające podczas wzbudzenia chlorofilu w procesie fotosyntezy (2, 14).

Działanie przeciwutleniające karotenoidów na błony lipidowe zależy od ich orientacji, lokalizacji oraz organizacji w błonach. Polarne i niepolarne karotenoidy w różny sposób oddziałują na strukturę i fizjologię tkanek. Na przykład astaksantyna, będąca



Ryc. 4. Cykl ksantofilowy biosyntezy karotenoidów.

substancją polarną, ogranicza peroksydację lipidów poprzez utrzymywanie sztywnej struktury błony (11). Ochronne działanie karotenoidów na roślinę może być zaburzone przez mutacje genetyczne, czy stosowanie środków ochrony roślin (w szczególności herbicydu – norflurazonu) (14). Działanie przeciwrodnikowe karotenoidów opiera się na dwóch mechanizmach; pierwszy polega na przenoszeniu elektronów (NO_2^* , CCl_3^* , Br_2^*), drugi – na tworzeniu adduktów z rodnikami (nadtlenkowymi oraz tiolowymi). Są jednak takie rodniki, które do neutralizacji przez karotenoidy wymagają zajścia obu tych procesów. Do tej grupy należą rodniki sulfonowe oraz fenoksyłowe (3).

Karotenoidy charakteryzują się wysoką aktywnością wobec reaktywnych form tlenu, jak i wolnych rodników (2, 6). Porównując β -karoten z innymi antyoksydantami, witaminą C i E, wykazuje on wyższą aktywność antyoksydacyjną wobec tlenu singletowego, powstającego w procesie fotosyntezy (16). β -karoten hamuje fazę początkową, jak również etap propagacji peroksydacji lipoprotein (3). Równoczesne stosowanie β -karotenu oraz witamin C i E powoduje cofanie się miażdżycy. α -Karoten chroni komórki przed nadmiernym rozrostem. Stosowanie diety bogatej w luteinę, czy zeaksantynę, zapobiega powstaniu zaćmy i zwyrodnieniu plamki żółtej. Prowadzone są badania nad wykorzystaniem syntetycznego β -karotenu w walce ze stanem przedrakowym jamy ustnej, płuc i szyjki macicy.

Inny karotenoid – likopen jest dwukrotnie efektywniejszy w walce z rodnikiem tlenu azotu NO_2^* odpowiedzialnym za uszkodzenia limfocytów. Badania potwierdzają jego zapobiegawcze właściwości wobec raka prostaty i szyjki macicy (16). Potwierdzono również skuteczne działanie ochronne β -karotenu na skórę u pacjentów chorych na protoporfirię erytropoetyczną, którzy są nadwrażliwi na światło słoneczne. Badania kontrolne nad karotenoidami, a w szczególności nad β -karotenem, potwierdzają jego działanie zapobiegające oparzeniom skóry u osób zdrowych, choć jego współczynnik ochrony przeciwslonecznej jest stosunkowo niski ($\text{SPF} \approx 2$). Dodatkowo metaanaliza suplementacji β -karotenem w porównaniu z placebo również wskazuje na ochronę przed powstaniem poparzeń słonecznych. Wiąże się to z właściwościami zmiatającymi wolne rodniki i reaktywne formy tlenu, powstające w wyniku ekspozycji skóry na promieniowanie UVA.

Karotenoidy w ludzkim organizmie magazynowane są przede wszystkim w wątrobie, nadnerczach i tkance tłuszczowej. Liczne eksperymenty mówią o zależności wchłaniania karotenoidów od ilości lipoprotein o niskiej gęstości (LDL), receptorów klasy B typu

1 (SR-B1) i degradacji lipoprotein przez enzymy. Można również odnaleźć badania, które wskazują na preferencję tkanek do przyswajania poszczególnych izomerów geometrycznych karotenoidów (10).

Niektóre karotenoidy, oprócz prowitaminy A, wzmacniają odporność immunologiczną organizmu. Część z nich bierze udział w komunikacji międzykomórkowej. Badania epidemiologiczne wskazują na korzystny związek pomiędzy spożyciem dużych ilości warzyw, a zmniejszającym się ryzykiem wystąpienia chorób przewlekłych tj. nowotwory, czy choroby układu krążenia oraz związanym z procesem starzenia się zwyrodnieniem plamki żółtej (3, 4, 6, 13, 17, 18). Potwierdzono także spowalniający wpływ karotenoidów na proliferację komórek nowotworowych (6, 17, 19).

Prawidłowe stężenie β -karotenu we krwi na czczo wynosi 0,9-5,58 $\mu\text{mol/L}$ (50-300 mg/dL) (20).

Karotenoidy pochodzenia roślinnego

Likopen występuje w pożywieniu w postaci izomeru *cis*. Postać ta sprzyja wchłanianiu przez układ pokarmowy, ponieważ nie wykazuje tendencji do krystalizacji i agregacji. Izomery *cis* ksantofili występują we krwi i tkankach człowieka. Na agregację *trans*-ksantofili wpływa płynność warstwy lipidowej (11).

Zidentyfikowane (15) w papryce kapsantyna i kapsarubina wykazują bardzo istotną dla organizmu aktywność neutralizującą tlen singletowy, jak również inhibicyjny wpływ na peroksydację lipidów. Dodatkowo mogą być stosowane jako substancje przeciwdziałające rozwojowi nowotworów (15).

Astaksantyna (9) jest karotenoidem występującym dość często w organizmach morskich, np. w łososiu. Należy ona do grupy karotenoidów charakteryzujących się niską zdolnością redukującą. W jednorodnych roztworach jest bardzo słabym antyoksydantem. Występując w liposomach, jako składnik błon komórkowych, wykazuje tam lepsze właściwości przeciwutleniające niż inne karotenoidy (9).

W piśmiennictwie można znaleźć również informacje o profilu karotenoidowym winogron (21). 85% wszystkich zawartych w winogronach karotenoidów to β -karoten i luteina (ich zawartość wyrażana jest w mg/kg). Pozostałe karotenoidy, tj. neochrom, neoksantyna, wiolaksantyna, luteoksantyna, flawoksantyna, 5,6-epoksyd luteiny, zeaksantyna, *cis*-izomery luteiny i β -karotenu, występują na poziomie $\mu\text{g/kg}$. Podejrzewa się, że β -karoten, neoksantyna, luteina i zeaksantyna odpowiadają za aromat winogron, jak również prawdopodobnie są one substratami dla reakcji otrzymywania norizoprenoidów. Na profil karotenoidowy w winogronach, podobnie jak u innych roślin, ma

wpływ wiele czynników zewnętrznych; odmiana, warunki klimatyczne, skład gleby, stadium rozwoju, czy nawet sposób uprawy. Najwyższą zawartość tej grupy związków obserwuje się w winogronach rosnących w gorących regionach świata, a najwyższe ich stężenie znajduje się w skórce (2-3 razy wyższe niż w miąższu owoców).

Wysokie stężenie wiolaksantyny, 5,6-epoksydu luteiny i luteoksantyny obserwuje się w owocach zawierających w 1 kg 160 g cukru, natomiast neochrom jest charakterystyczną substancją dla niedojrzałych owoców. Prowadzono wiele badań nad karotenoidami w różnych stadiach rozwoju owoców. Karotenoidy są intensywnie syntetyzowane w pierwszych etapach tworzenia się owoców, a po dojrzeniu ich stężenie wyraźnie spada. Liczne badania potwierdzają drastyczny spadek zawartości β -karotenu, luteiny, flawoksantyny i neoksantyny. Prawdopodobnie jest to związane z degradacją enzymatyczną lub procesami biokonwersji tych związków, np. w wiolaksantynę podczas aktywacji cyklu ksantofilowego pod koniec dojrzewania owocu (21).

Skład poszczególnych karotenoidów w roślinach zależy od gatunku, odmiany, miejsca wzrostu, nasłonecznienia i okresu, w którym zostały zebrane owoce (3, 21). Do roślin bogatych w karotenoidy należą jarmuż, szpinak, czerwona papryka, pomidory, marchew. Najczęściej w roślinach dominującym związkiem jest luteina,

a więc ksantofil. Papryka czerwona bogata jest w kapsantynę, kapsorubinę, kapsoluteinę i β -karoten. Natomiast pomidory są źródłem likopenu, który wykryto również w małych ilościach w marchwi i czerwonej papryce. 95% likopenu zawartego w pomidorach występuje jako izomer *trans*, natomiast zawartość izomeru *cis* nie przekracza 10%. Najpowszechniejszymi ksantofilami w roślinach są: wiolaksantyna, neoksantyna, β -kryptoksantyna. W szpinaku, czerwonej papryce, ziemniakach i białej kapuście można znaleźć zeaksantynę.

Na zawartość karotenoidów w spożywanych owocach i warzywach ma też wpływ ich przyrządzenie, czyli usuwanie zewnętrznych liści czy skóry. Usunięcie zewnętrznej warstwy liści z białej kapusty pozbawia ją dużej ilości luteiny i β -karotenu (liście zewnętrzne bowiem zawierają ok. 150-razy więcej luteiny i ok. 200 razy więcej β -karotenu niż wewnętrzne liście). Natomiast skóra pomidora zawiera ok. 5 razy więcej likopenu niż miąższ. Na zawartość likopenu w pomidorach ma wpływ temperatura wzrostu owoców. Przyjmuje się, że optymalna temperatura wzrostu owoców to 16-26°C, natomiast w temperaturze powyżej 35°C likopen przekształcany jest w β -karoten (3).

W tabeli 1 umieszczono zawartość poszczególnych karotenoidów w popularnych warzywach, a w tabeli 2 w popularnych owocach i innych produktach spożywczych.

Tabela 1. Zestawienie zawartości karotenoidów w jadalnych częściach popularnych warzyw (wg 3).

Warzywo	Zawartość (mg/100 g części jadalnych)			
	α -karoten	β -karoten	likopen	luteina + zeaksantyna
Brokuły	0,001-0,073	0,28-2,42	–	0,78-3,50
Brukselka	0,004-0,011	0,43-1,02	–	0,92-1,59
Kapusta biała	0-0,002	0,01-0,41	–	0,084-0,45
Kapusta czerwona	ilości śladowe	0,015-0,05	–	0,026-0,15
Jarmuż	0-0,15	2,84-43,80	–	3,04-39,55
Kalafior	–	0,002-0,08	–	0,015-0,033
Szpinak	0-0,09	3,25-5,60	–	4,40-11,94
Salata	0,04	0,98-1,55	–	1,35-2,92
Marchew	0,53-4,96	6,15-9,02	0,015	0,30-0,51
Seler	–	0,15-2,90	–	0,23-7,20
Cebula żółta	–	0,002-0,007	–	0,015-0,016
Por	–	1,00-3,19	–	1,90-3,68
Ogórek	ilości śladowe	0,13-0,27	–	0,47-0,84
Pomidory	0,11-0,15	0,21-0,89	3,10-11,44	0,076-0,43
Pomidory cherry	–	0,92-1,05	7,20-10,80	–
Papryka czerwona	0,059-0,51	2,38-3,25	0,13	2,20
Papryka żółta	0,092	0,12-0,27	–	0,77
Papryka zielona	0,010-0,022	0,10-0,25	–	0,41-0,77
Ziemniaki	–	0,003-0,006	–	0,013-0,116

Tabela 2. Zestawienie zawartości witaminy A i β -karotenu w popularnych produktach spożywczych (wg 16).

Produkt	Zawartość witaminy A (mg/100 g części jadalnych)	Zawartość β -karotenu (mg/100 g części jadalnych)
Tran	60,000	
Wątroba wołowa	14,400	0,950
Wątroba wieprzowa	13,000	0,011
Masło ekstra	0,814	0,380
Ser twarogowy tłusty	0,083	0,062
Jajka kurze całe	0,375	0,281
Makrela wędzona	0,054	–
Mleko spożywcze (2%)	0,025	0,012
Jabłko	0,004	0,024
Ser gouda tłusty	0,276	0,207
Śliwki suszone z pestką	0,154	0,925
Dynia	0,496	2,974
Kurki	–	0,800
Brzoskwinie	0,099	0,595
Morele	0,254	1,523
Fasola szparagowa	0,063	0,378
Śliwki	0,049	0,295
Jeżyny	–	0,300
Groszek zielony	0,068	0,408

Witamina A

Jedną z substancji, z których może powstać prowitamina A jest β -karoten (2, 17). Cecha ta jest bezpośrednio związana ze strukturą danej cząsteczki karotenoidu. Podstawowym warunkiem, by dana substancja mogła być prekursorem witaminy A (retinolu), jest obecność niepodstawionego pierścienia β . Inne karotenoidy, które nie mają takiego pierścienia, bądź jest on podstawiony przez grupę hydroksylową, epoksydową lub karbonylową, nie mogą być substratami do syntezy prowitaminy A (2).

Odkrycie retinolu datuje się na 1915 rok, choć objawy hipowitaminozy i awitaminozy znane były już w starożytnym Egipcie. Prawidłowe stężenie witaminy A w organizmie chroni przed wieloma poważnymi chorobami, choć do dnia dzisiejszego nie odkryto jej funkcji biologicznej. Ze względu na budowę retinolu, w składzie którego znajdują się liczne wiązania podwójne, czego konsekwencją są różnego rodzaju izomery geometryczne, można mówić o ponad 1000 związkach, z czego biologicznie czynnych jest jedynie 50. Najważniejszym z nich jest β -karoten.

Witamina A odpowiedzialna jest za widzenie, bierze udział w procesach zachodzących w siatkówce za sprawą rodopsyny, czyli purpury wzrokowej. Odgrywa również bardzo ważną rolę w procesie rozrostu tkanki kostnej oraz komórek nabłonkowych, w szczególności błony śluzowej jamy ustnej, przewodu pokarmowego, układu moczowego, dróg oddechowych, jak również narządu wzroku. Awitaminoza prowadzi do zaburzenia wzrostu u dzieci, wysychania i rogowacenia naskórka, rogowacenia części nerek i powstawania kamieni, kurzej ślepoty, wysychania rogówki i jej rozmiękczenia, czego konsekwencją może być całkowita ślepota. Szczególnie wrażliwe są tkanki płucne wcześniaków. Najczęściej niedobór witaminy A diagnozuje się u dzieci poniżej 5. roku życia. Objawia się on biegunką oraz chorobami układu oddechowego. Inne badania donoszą, że awitaminoza prowadzi do niedrożności przewodów gruczołowych i atrofii gruczołów, zaburzenia spermatogenezy, zapłodnienia i rozwoju płodu.

Witamina A jest magazynowana w wątrobie (96%) w postaci estrów, w szczególności kwasu palmitynowego. Pozostałe 4% to retinol. Należy podkreślić, że nadmierne spożywanie witaminy A działa toksycznie na organizm, a nadmierna, niezwiązana przez białka ilość retinolu występująca w postaci wolnej we krwi, tkankach, jak również w innych narządach, prowadzi do hiperwitaminozy. Jedynie 80% spożywanego retinolu ulega wchłanianiu, natomiast pozostałe 20% wydalane jest z organizmu w przeciągu 24-48 godzin. Karotenoidy wchłaniane są dużo gorzej niż witamina A, bo zaledwie w 30%. Proces ten uzależniony jest od diety, źródła i rodzaju białka, żelaza, cynku, tłuszczów, jak również procesów metabolizmu pożywienia (16). Pochodna witaminy A – kwas retinowy – odgrywa bardzo ważną rolę w organizmie. Aktywuje on receptory jądrowe czynników transkrypcyjnych aktywowanych przez ligandy. Około 500 genów w sposób pośredni lub bezpośredni regulowanych jest przez ten kwas (3).

Inne karotenoidy

Liao i wsp. (3) prowadzili badania nad karotenoidami, w szczególności nad β -karotenem oraz innymi substancjami pochodzenia roślinnego, wykazującymi silne właściwości antyoksydacyjne, tj. (+)-katechina, (-)-epikatechina. Z badań wynika, że połączenie tych grup związków wzmacnia ochronę przed peroksydacją lipidów błon erytrocytalnych katalizowanych jonami Fe^{+2} . Natomiast z badań nad samymi karotenoidami można wywnioskować zwiększenie ochronnego działania na błony lipidowe za sprawą likopenu i luteiny (3).

Ren i Zhang (19) prowadzili badania nad izolacją i identyfikacją żółtych barwników z rdestnicy kędzie-

rzawej (*Potamogeton crispus* L.). Ekstrakcję z surowca prowadzono za pomocą mieszaniny acetonu i eteru naftowego (1:1). Tak uzyskany ekstrakt poddawano kolejnym procesom mającym na celu izolację karotenoidów. Identyfikację poszczególnych związków potwierdzono za pomocą chromatografii cieczowej (TLC, HPLC) i spektrometrii mas. Dzięki temu potwierdzono obecność 231 $\mu\text{g/g}$ karotenoidów w przeliczeniu na wysuszoną substancję roślinną. Zidentyfikowano w ten sposób neoksantynę, wiolaksantynę, luteinę, rodoksantynę oraz β -karoten (19).

Simkin i wsp. (14) prowadzili badania nad wyjaśnieniem genetycznych procesów prowadzących do powstania karotenoidów w popularnych gatunkach kawy. Przebadali oni młode liście, gałęzie i kwiaty *Coffea canephora* i *Coffea arabica*. Badania koncentrowały się na 8 genach kodujących biosyntezę karotenoidów: PSY, PDS, ZDS, PTOX, LCY-E, CRTR-B, ZEP, VDE oraz 2 genach odpowiedzialnych za formowanie różnych apokarotenoidów: CCD1 oraz NCED3. Dla każdego genu określone zostały filogenetyczne powiązania sekwencji cDNA kawy, opierając się na blisko spokrewnionych genetycznie gatunkach roślin (pomidorach, ziemniakach, tytoniu oraz pieprzu). Sekwencja aminokwasów CcCRTR-B, a w szczególności gen CRTR-B, obecna jest we wszystkich gatunkach roślin. Gen ten odpowiedzialny jest za przekształcanie β -karotenu w zeaksantynę poprzez dwukrotną hydroksylację kryptoksantyny. Umieszczenie białka rekombinującego CcCRTR-B w komórkach odpowiadających produkcji zeaksantyny, nie spowodowało żadnych zmian w ich zabarwieniu. Jednakże gromadzenie β -karotenu indukowane CcCRTR-B spowodowało zmianę zabarwienia z pomarańczowo-żółtego na jasno żółte, powodując powstanie β -kryptoksantyny oraz zeaksantyny.

Badania nad CcCRTR-B potwierdziły aktywność genu CRTR-B w przemianach biochemicznych β -karotenu. W liściach większości gatunków roślin występuje β -karoten oraz luteina, ale nie α -karoten. α -Karoten jest substancją charakterystyczną dla marchwi. W badaniach prowadzonych nad liśćmi *Coffea canephora* i *Coffea arabica* wykryto wysoką zawartość tej postaci karotenu, w szczególności w *C. arabica*. Natomiast w drugim gatunku zaobserwowano wysoką zawartość luteiny, co pozwala wysunąć hipotezę o dwóch różnych procesach syntezy tych związków. Liście kawy zawierały 12-13% β -karotenu, w przeciwieństwie do pomidorów, tytoniu czy rzodkiewnika (26-28%). Wysunięto więc hipotezę, że niska zawartość β -karotenu jest ściśle powiązana z odpowiednimi warunkami panującymi podczas przekształcania α -karotenu w β -karoten w obecności kompleksu PSII.

Biosynteza karotenoidów może również być ściśle powiązana ze stresem wywołanym brakiem wody. Wyżej wymienione geny badano również w stanie stresu. Poziom transkrypcji tych genów w stanie stresu był wyższy niż w liściach roślin próby odniesienia. I tak np. poziom transkrypcji genu PSY był 10-krotnie wyższy. Prawdopodobnie odpowiada on za kontrolę pierwszego etapu przemiany, dlatego też jego poziom może być wyższy w szybko rozwijających się liściach. PTOX odpowiada za desaturację fitoenów oraz może być powiązany z poziomem PDS. Poziom tych 2 genów po trzytygodniowym pozbawieniu rośliny wody wzrósł 3-krotnie, choć ich poziom spadł nieznacznie w trakcie eksperymentu. Poziom transkrypcji LCY-E jest niższy przy braku wody. Zachowanie to wskazywać by mogło na udział tego genu w metabolizmie luteiny do ksantofili.

Geny ZEP i VDE biorą udział w cyklu ksantofilowym. ZEP odpowiedzialny jest za przekształcanie zeaksantyny w anteraksantynę, a VDE za przemianę w wiolaksantynę. W normalnych warunkach aktywność ZEP powoduje powstanie dużej ilości wiolaksantyny, a małej ilości zeaksantyny, natomiast VDE indukowany jest nadmierną obecnością światła. W normalnych warunkach poziom transkrypcji ZEP był wyższy niż w przypadku VDE u *C. arabica*. U roślin pozbawionych wody zauważono początkowy wzrost poziomu ZEP, a następnie spadek. Zachowanie to wynikało z wzmożonej aktywności VDE. Tak więc u dojrzałych roślin kawy proces biosyntezy karotenoidów i aktywacji cyklu ksantofilowego może odgrywać bardzo istotną rolę. *Coffea arabica*, ze względu na istotną różnicę w rozmiarze rośliny w porównaniu do *Coffea canephora*, jest bardziej wrażliwa na brak wody. W pierwszym etapie badań (rośliny mające dostęp do wody) zaobserwowano taki sam trend zachowań w przypadku genów FIB1, PTOX, CRTR-B, ZEP, CCD1 oraz NCED3. W stanie stresu, poziom LCY-E gwałtownie spada, potwierdzając fakt, iż w wyniku odwodnienia blokowany jest gen odpowiadający za przemianę. Co istotne, zmiana ekspresji LCY-E nie wpływa istotnie na redukcję poziomu karotenoidów w czasie krótkotrwałego odwodnienia. Poziom transkrypcji genów PSY, PDS i ZDS w trakcie pozbawienia rośliny wody pokazuje tendencję spadkową. Bardziej dojrzałe liście mniejszych roślin miały niższy poziom transkrypcji VDE w stresie wodnym w porównaniu z pierwszym etapem badań, gdzie wykazano wzrost. Badania te wskazują na odmienny cykl ksantofilowy oraz początkowe etapy przekształceń karotenoidów u roślin małych i dużych. Jednakże potwierdzenie tych hipotez wymaga prowadzenia dalszych badań (14).

Można również znaleźć doniesienia naukowe mówiące o ochronnym wpływie karotenoidów, w szczególności luteiny i zeaksantyny, w walce ze szkodliwym działaniem promieni słonecznych (2). Karotenoidy te odnaleziono w siatkówce i soczewce oka, gdzie są widoczne jako żółty pigment. To prawdopodobnie one są odpowiedzialne za ochronę oka przed promieniowaniem słonecznym oraz oksydacyjnymi uszkodzeniami powodowanymi przez procesy starzenia się, czy kataraktę (2). Uważa się, że ich działanie opiera się na 2 mechanizmach; jako antyoksydantu oraz filtru niebieskiego promieniowania, który jest odpowiedzialny za uszkodzenia fotoreceptorów i nabłonka barwnikowego siatkówki (2, 6, 10).

Badania nad suplementacją luteiną i zeaksantyną wskazują na poprawę w ich obecności wydajności widzenia ludzkiego oka. Zostały również odkryte i zidentyfikowane białka wiążące te substancje w płamce żółtej, w tym π -izofomy transferazy S-glutationu (GSTP1). Wykazano, że GSTP1 ma większe powinowactwo do izomerów zeaksantyny niż luteiny. Wykrycie tych białek wiążących jest kolejnym dowodem na wykorzystanie karotenoidów przez organizm zwierzęcy (10).

Widomska i wsp. (11) badali wpływ *cis*-karotenoidów na termotropowe zachowanie wielowarstwowych fosfatydylocholin za pomocą skaningowej kalorymetrii różnicowej. Wyniki wskazują jednoznacznie, że karotenoidy mające dwie grupy hydroksylowe na końcu łańcucha w warstwie lipidowej zmieniają zachowanie dwuwarstwy fosfatydylocholinowej, konsekwencją czego jest ich bezpośredni wpływ na fizyczne i dynamiczne właściwości błony. Karotenoidy te zmieniają termotropowe zachowanie błony dipalmitylofosfatydylocholinowej, sprawiając że jest ona silniejsza niż w przypadku obecności karotenoidów nie zawierających grup hydroksylowych. Natomiast w przypadku *cis*-izomerów zaobserwować można innego rodzaju wpływ na warstwy lipidowe. Wpływ *all-trans* zeaksantyny na fizyczne właściwości dwuwarstwy lipidowej silnie uzależniony jest od grubości hydrofobowej warstwy błony. W przypadku *cis*-zeaksantyny zależność ta jest słabsza. Tak więc zastosowanie odpowiednich cząsteczek odgrywa ważną rolę w relacji pomiędzy warstwą lipidową a karotenoidami (11).

Dias i wsp. (6) analizowali popularne w Portugalii owoce i warzywa pod kątem zawartości karotenoidów; α -karotenu, β -karotenu, β -kryptoksantyny, luteiny, likopenu oraz zeaksantyny. Przebadali oni 5 gatunków owoców i 6 liściastych odmian warzyw uprawianych w tym kraju. Dodatkowo przeanalizowano te same rośliny pochodzące z krajów, w których również istnieje tradycja ich uprawiania. Do eksperymentu

wykorzystano: brzoskwinie, pomarańcze, gruszki, jabłka (6 odmian), czereśnie, kiełki, portulakę, kapustę tronchuda, jarmuż galicyjski, rzepę, korzenie i liście buraków. Dodatkowym czynnikiem, oprócz miejsca uprawy, który wpływa na zawartość poszczególnych analizowanych związków, ma miesiąc zbioru. Luteina i β -karoten to główne karotenoidy zidentyfikowane w warzywach zielonych, odpowiednio 0,52-7,2 mg/100 g oraz 0,46-6,4 mg/100 g. Kapusta tronchuda zawiera $0,5 \pm 0,11$ mg/100 g luteiny, jarmuż galicyjski – $7 \pm 1,9$ mg/100 g, a jabłka jedynie $0,0022 \pm 0,00064$ mg/100 g. Zeaksantyna występuje w niskim stężeniu we wszystkich badanych produktach (od $0,003 \pm 0,0011$ mg/100 g w jabłkach do $0,19 \pm 0,024$ mg/100 g w pomarańczach). Najpowszechniejszym karotenoidem jest β -karoten. Jego zawartość mieści się od $0,01 \pm 0,0023$ mg/100 g w jabłkach do $6 \pm 1,3$ mg/100 g w jarmużu galicyjskim. α -Karoten występuje w roślinach w dużo mniejszych stężeniach niż β -karoten. W brzoskwinianach wykryto go w ilości $0,008 \pm 0,0012$ mg/100 g, natomiast w czereśniach jego zawartość wynosiła aż $0,037 \pm 0,0078$ mg/100 g. Badania wykazały, że zawartość karotenoidów zależy od gatunku, odmiany oraz miejsca wzrostu rośliny. Miejsce pochodzenia pomarańczy wpływa na zawartość karotenoidów, jabłka różnych odmian uprawiane w tym samym miejscu mają podobny poziom karotenoidów, czereśnie z tego samego regionu zebrane po okresie zbiorów miały porównywalny profil karotenoidów, w przeciwieństwie do jarmużu galicyjskiego. Natomiast kapusta tronchuda wykazywała różnice w zawartości poszczególnych karotenoidów (6).

Luo i wsp. (17) prowadzili badania nad zawartością karotenoidów, witaminy A oraz tokoferoli we krwi dorosłych pacjentów z zaburzoną wchłanianiem (wywołanym ostrym stadium syndromu krótkiego jelita (SBS)), stosujących żywienie pozajelitowe (PN) oraz przyjmujących lub nieprzyjmujących rekombinowany hormon wzrostu (GH). W badaniach wzięło udział 21 dorosłych z SBS stosujących żywienie pozajelitowe, w tym u 10 pacjentów SBS było konsekwencją jednej lub wielu operacji brzucha, u 5 choroby Leśniowskiego-Crohna, a u 6 niedokrwienia krezki. Pacjenci, którzy przeszli resekcję przełyku, mieli jelito cienkie krótsze niż 20 cm, byli chorzy na cukrzycę typu 1 lub na niekontrolowaną cukrzycę typu 2, cierpieli na zaburzenia nerek (stężenie kreatyniny w surowicy $> 1,8$ mg/dl) lub wątroby (stężenie bilirubiny w surowicy $> 1,5$ mg/dl), mieli polipy gruczołów okrężnicy lub inne choroby okrężnicy, zdiagnozowany nowotwór w ostatnich 5 latach, jak również inne poważne dolegliwości, byli wykluczani z badań. W pierwszym tygodniu hospitalizowani pacjenci zażywali przepisane wcześniej leki,

przy zachowaniu odpowiedniego stosunku żywienia pozajelitowego do emulsji tłuszczowej na bazie oleju sojowego, jak również suplementy diety zawierające 1 mg witaminy A i 10 mg witaminy E. Wyniki zawartości poszczególnych karotenoidów, witaminy A i E były wartościami odniesienia w przeprowadzonym eksperymencie. Po tygodniu zmieniono dietę na bogatą w węglowodany i białko, z niską zawartością tłuszczu. Zostały odpowiednio dobrane leki przeciwwzdęciowe, jak również podawane oddzielnie suplementy zawierające wapń, witaminę D, żelazo, cynk, potas i magnez. Dodatkowo, oprócz zmiany diety, pacjenci grupy przyjmującej placebo ($n = 9$) i grupy GH ($n = 12$) przyjmowali podskórne zastrzyki z soli fizjologicznej przez 21 dni po pierwszym tygodniu hospitalizacji. Grupa GH przyjmowała hormon wzrostu w dziennej dawce nie przekraczającej 6 mg/dzień (0,1 mg/kg). Podczas 28-dniowego eksperymentu nie odstawiono całkowicie PN, ograniczono jedynie u niektórych pacjentów stosunek żywności do emulsji zawierającej olej sojowy.

Po 4 tygodniach wszyscy pacjenci przeszli badania kontrolne. Następnie po upływie 12 tygodnia zostali ponownie zbadani podczas 7-dniowej hospitalizacji. Krew przebadano pod kątem zawartości następujących substancji: α -karotenu, *trans*- β -karotenu, *cis*- β -karotenu, β -kryptoksantyny, luteiny, zeaksantyny, likopenu, retinolu, palmitynianu i stearynianu retinyli oraz tokoferoli. Chorzy na SBS ze względu na specyfikę choroby stosowali dietę ubogą w warzywa i owoce, co przekładało się na niskie zawartości poszczególnych związków we krwi. Potwierdzono to w 1 tygodniu eksperymentu. Stwierdzono, że obecność we krwi luteiny, α -kryptoksantyny, α - i β -karotenu jest ściśle powiązana z przyjmowaniem diety bogatej w warzywa, natomiast β -kryptoksantyny – z dietą bogatą w owoce. Tak więc dieta uboga w produkty roślinne może wyjaśniać niską zawartość tych substancji we krwi osób ze zdiagnozowanym SBS. Po upływie 1 tygodnia pacjenci przyjmowali suplementy diety zawierające β -karoten (493 mg/dobę), likopen (600 μ g/dobę) i luteinę (500 μ g/dobę). Pomimo stosowania dodatkowej suplementacji nie zauważono zmiany poziomu karotenoidów w porównaniu do 1 tygodnia, który pozostawał na niezmiennym poziomie przez cały czas trwania eksperymentu. U pacjentów, którym zmniejszono w 12 tygodniu stosunek PN do emulsji tłuszczowej zawierającej olej sojowy, zauważono wyższe stężenie luteiny, zeaksantyny i likopenu w porównaniu do pacjentów, u których nie zmieniono tego stosunku. Prawdopodobnie jest to wynikiem poprawy wchłaniania tych związków przez śluzówkę jelita. Niska zdolność wchłaniania związana jest również z niską absorpcją tłuszczów. W badaniach

zastosowano jedynie 30% dziennego zapotrzebowania organizmu na tłuszcze. Wyniki wskazują na to, że zastosowane dawki suplementacji karotenoidami u pacjentów chorych na SBS są zdecydowanie za niskie. Witamina A występuje we krwi głównie pod postacią retinolu, natomiast w wątrobie pod postacią estrów; palmitynowego i stearynowego. Pacjenci z SBS charakteryzują się zwiększonym prawdopodobieństwem niedoboru witaminy A ze względu na zmniejszone wchłanianie tłuszczów. U wszystkich badanych pacjentów zauważono prawidłowy poziom retinolu we krwi na przestrzeni całego eksperymentu, co wskazuje na skuteczne zastosowanie dożylną i/lub doustną suplementacji tą substancją. Mechanizm prowadzący do zwiększenia stężenia retinolu u pacjentów z ograniczonym PN może wskazywać na zwiększenie jego wchłaniania przez jelita. Potwierdzenie tego wymaga jednak dalszych badań, nie tylko na większej grupie pacjentów dorosłych, ale również na dzieciach, czy różnego rodzaju suplementacjach (17).

Odrizola-Serrano i wsp. (12) badali wpływ przechowywania pasteryzowanego soku pomidorowego na ogólną zawartość karotenoidów. Poddawali oni sok pomidorowy procesom pasteryzacji różniącym się czasem ogrzewania. Łagodną pasteryzację prowadzono w 90°C przez 30 s (MP), natomiast wysoką – w 90°C przez 60 s (HP), ponadto sok poddano wpływowi impulsowego pola elektromagnetycznego o wysokiej częstotliwości przez 1000 μ s (HIPEF). Po obróbce cieplnej sok był chłodzony. Sok umieszczano w butelkach polipropylenowych i przechowywano w temperaturze 4°C \pm 1°C przez 56 dni, w międzyczasie co 7 dni kontrolowano profil karotenoidowy. Następnie przy pomocy tetrahydrofuranu i chlorku metylenu ekstrahowano z prób karotenoidy. Dodatkowo soki pobrane bezpośrednio po procesie pasteryzacji po 7 i 14 dniach porównywano ze świeżym sokiem nie poddanym procesowi pasteryzacji, ani HIPEF. Wyniki poszczególnych oznaczeń zamieszczono w tabeli 3. W sokach analizowano zawartość następujących karotenoidów: likopenu, neurosporenu (prekursora likopenu), γ -karotenu, ζ -karotenu, β -karotenu, fitofluenu, fitoenu, witaminy A oraz ogólnej zawartości karotenoidów (TC). Prawie za każdym razem po procesie HIPEF sok zawierał największą ilość TC (12).

Analizując powyższe dane można wysunąć hipotezę, że obróbka termiczna ma wpływ na niektóre substancje. Prawdopodobnie ma to związek z uszkodzeniem błon komórkowych i uwolnieniem karotenoidów z kompleksów białkowych, co przekłada się na możliwość ekstrakcji większej ich ilości, niż z nieprzetworzonych termicznie produktów roślinnych. Zależność tę najlepiej widać w przypadku likopenu, którego

Tabela 3. Zestawienie zawartości poszczególnych karotenoidów w sokach z pomidorów (wg 12).

Czas przechowywania (dni)	Próba soku	Zawartość karotenoidów (mg/100 ml)							Zawartość witaminy A (RAE/l)	TC (mg/100 ml)
		likopen	neurosporen	γ -karoten	ζ -karoten	β -karoten	fitofluen	fitoen		
0	Świeży	7,13	1,30	1,77	0,20	0,29	1,29	2,07	0,99	14,1
	HIPEF	7,84	1,19	1,70	0,20	0,40	1,37	1,98	1,04	14,7
	MP	7,46	1,27	1,67	0,19	0,38	1,37	2,02	1,01	14,4
	HP	7,64	1,23	1,71	0,19	0,39	1,36	1,83	1,04	14,4
7	Świeży	6,59	1,26	1,34	0,16	0,28	1,26	1,97	0,79	12,9
	HIPEF	7,39	1,13	1,68	0,16	0,37	1,38	1,95	1,01	14,1
	MP	6,78	1,17	1,62	0,17	0,36	1,43	2,16	0,98	13,7
	HP	6,97	1,24	1,71	0,16	0,39	1,40	1,86	1,04	13,7
14	Świeży	6,31	1,24	1,34	0,08	0,24	0,92	1,98	0,75	12,1
	HIPEF	6,32	1,11	1,63	0,15	0,37	1,37	1,90	0,97	12,9
	MP	6,37	1,13	1,63	0,14	0,33	1,44	2,05	0,95	13,1
	HP	5,99	1,24	1,65	0,14	0,38	1,40	1,88	1,00	12,7
21	HIPEF	6,23	0,90	1,69	0,12	0,37	1,37	1,98	1,01	12,7
	MP	6,23	0,65	1,46	0,12	0,33	1,45	2,11	0,87	12,3
	HP	5,85	1,15	1,69	0,13	0,37	1,37	1,85	1,02	12,4
28	HIPEF	5,87	0,75	1,64	0,11	0,38	1,38	2,04	1,00	12,2
	MP	4,66	0,47	1,46	0,11	0,32	1,43	2,16	0,87	11,6
	HP	5,24	0,70	1,70	0,12	0,37	1,33	1,89	1,02	11,4
35	HIPEF	5,81	0,62	1,60	0,11	0,37	1,36	2,07	0,97	12,0
	MP	4,46	0,38	1,47	0,09	0,31	1,38	2,01	0,88	10,1
	HP	4,38	0,64	1,63	0,11	0,37	1,26	1,85	0,99	10,3
42	HIPEF	5,20	0,60	1,65	0,11	0,38	1,33	2,01	0,99	11,3
	MP	3,09	0,15	1,47	0,09	0,28	1,38	2,04	0,84	8,5
	HP	2,56	0,56	1,57	0,11	0,37	1,30	1,82	0,96	8,3
49	HIPEF	2,71	0,60	1,57	0,10	0,36	1,21	1,90	0,95	9,8
	MP	2,70	N/O	1,40	0,08	0,26	1,33	2,07	0,80	8,2
	HP	2,43	0,54	1,50	0,10	0,36	1,24	1,83	0,93	8,1
56	HIPEF	2,71	0,60	1,44	0,09	0,36	1,03	1,96	0,91	8,2
	MP	2,70	N/O	1,34	0,07	0,25	0,99	1,99	0,77	7,3
	HP	2,43	0,52	1,37	0,09	0,36	0,85	1,81	0,87	7,4

N/O – nie potwierdzono obecności danej substancji

Najwyższa zawartość danej substancji po upływie tej samej ilości dni chłodzenia soku

Najniższa zawartość danej substancji po upływie tej samej ilości dni chłodzenia soku

ilość w przetworzonym soku wiąże się z wyczerpaniem pokładów fitoenu i neurosporenu w świeżym soku. Porównując wyniki zawarte w tabeli 3 można zauważyć, że sok po procesie HIPEF wraz z upływem czasu zawiera najwyższą łączną zawartość karotenoidów z wyjątkiem próby przechowywanej 14 dni. Zawartość ta kształtowała się od 14,7 mg/100 ml do 8,2 mg/100 ml po 56 dniach przechowywania w 4°C. W tej samej próbie wykazano najwyższą zawartość likopenu (7,84-2,71 mg/100 ml). Świeży sok z pomidorów, badany jedynie po przygotowaniu oraz po upły-

wie 7 i 14 dni, zawierał największą ilość neurosporenu. Po upływie kolejnych dni w próbach HIPEF i HP był podobnie wysoki poziom tej substancji. Natomiast po 49 i 56 dniach w próbach MP nie potwierdzono obecności tej substancji. γ -Karoten był najbardziej rozpowszechnionym izomerem karotenu we wszystkich sokach. Do 35 dnia najwyższą zawartość γ -karotenu zidentyfikowano w próbach HP. W kolejnych dniach najwyższą jego zawartością charakteryzowały się próby HIPEF. Zawartość ζ -karotenu podczas eksperymentu zmniejszyła się o połowę we wszystkich rodzajach

prób. W każdej próbie ilość tego izomeru karotenu była mniejsza niż izomeru β . Z kolei β -karoten w próbach HIPEF i HP na przestrzeni całego eksperymentu utrzymywał się na wysokim, prawie nie zmiennym poziomie.

Porównując zawartość badanych izomerów karotenu można zauważyć następującą tendencję spadkową; $\gamma > \zeta > \beta$. Stężenie γ -karotenu było ok. 10-krotnie wyższe niż ζ -karotenu i ok. 4-krotnie wyższe niż izomeru β . Analizując zawartość β -karotenu i γ -karotenu w świeżym i przetworzonych sokach na samym początku eksperymentu, można zauważyć ich wzrost odpowiednio o 31-38 i 3-6% w próbach termicznie przetworzonych. Zależność tę można wytłumaczyć reakcją cyklizacji γ -karotenu na końcu łańcucha, czego konsekwencją jest powstanie cząsteczki β -karotenu. Patrząc na zawartość fitoflenu i fitoenu, prekursorów likopenu, we wszystkich próbach była ona bardzo podobna na przestrzeni prowadzonego eksperymentu. Tak więc nie zauważa się istotnego wpływu procesów termicznych na zawartość tych substancji w przetworach. Spadek zawartości poszczególnych karotenoidów w analizowanych próbach wiąże się z wieloma procesami biochemicznymi, którym ulegają karotenoidy. Są to przede wszystkim procesy utleniania nienasyconych łańcuchów w wyniku fotooksydacji (konsekwencją czego jest odbarwienie w wyniku powstania bezbarwnych produktów utleniania), czy autoooksydacji prowadzącej do powstania rodników alkilnadrtlenkowych, które powodują powstanie epoksydów. Tak więc zastosowanie procesów HIPEF oraz pasteryzacji wpływa na ogólną zawartość karotenoidów w sokach, w szczególności proces HIPEF. W wyniku zastosowania tej techniki nie tylko można zwiększyć TC, ale również zwiększyć możliwości antyoksydacyjne przetworów (12).

Natomiast Fratianni i wsp. (4) przeprowadzili podobne badania do Odriozola-Serrano i wsp. (12) na soku pomarańczowym. Skład poszczególnych części owocu (skórka, miąższ) różni się profilem karotenoidowym. Za barwę skórki i miąższu owoców odpowiada liczna grupa karotenoidów; wiołaksantyna, anteraksantyna, zeaksantyna, mutatoksaantyna i β -kryptoksaantyna, które zidentyfikowano w pomarańczach odmiany Valencia. Hydroksylowe pochodne karotenoidów występują często w soku pod postacią estrów. Otrzymany sok z pomarańczy poddano pasteryzacji, która miała na celu inaktywację pektynometyloesterazy (PME) odpowiedzialnej za hydrolizę pektyn. PME jest odporna na działanie wysokiej temperatury, ale nie na działanie mikroorganizmów. Ogrzewanie mikrofalowe (MW) zapewnia szybkie, efektywne i ekonomiczne zwiększenie temperatury cieczy w porównaniu z innymi technikami grzewczy-

mi. Doniesienia naukowe wskazują na degradacyjny wpływ ogrzewania mikrofalowego na PME. W eksperymencie wykorzystano świeży sok (próba odniesienia) oraz soki poddane pasteryzacji przez 1 min w temperaturze 70, 75 i 85°C. W próbach analizowano zawartość 12 znanych karotenoidów: wiołaksantyny, luteoksaantyny, anteroksaantyny, 2 izomerów mutatoksaantyny, luteiny, zeaksantyny, zeinoksaantyny, β -kryptoksaantyny, α - i β -karotenu, oraz *cis*- β -karotenu.

Stwierdzono, że świeży sok zawierał łącznie $25,60 \pm 2,68 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ karotenoidów. Głównym karotenoidem była antereoksaantyna (44%). Poza tym w większych ilościach występowały: β -kryptoksaantyna (10%), zeaksantyna i luteina (8%), wiołaksantyna (7%) i β -karoten (2%), natomiast ilość pozostałych karotenoidów nie przekraczała 1% ogólnej ich zawartości. MW w 70°C spowodowało statystycznie istotny spadek ogólnej zawartości karotenoidów w porównaniu ze świeżym sokiem. Odnotowano spadek zawartości o 10% w 70°C, 40% w 75°C i o 59% w 85°C (4). Zestawienie składu poszczególnych karotenoidów zamieszczono w tabeli 4.

Z tabeli 4 wynika, że zawartość wiołaksantyny nie zmieniała się w temperaturze 70°C i 75°C, natomiast w 85°C zanotowano spadek jej zawartości o 50%. Temperatura istotnie wpłynęła na zawartość anteroksaantyny odpowiednio o 30, 45 i 50%. Ogrzewanie w temp. 70°C nie wpłynęło istotnie na ilość β -karotenu, jednakże podniesienie temp. do 75 i 85°C zmniejszyło jego ilość odpowiednio o 44 i 65%. Podobny spadek zawartości luteiny zaobserwowano dla 75 i 85°C, odpowiednio o 40 i 55%. Patrząc od strony kinetycznej na rozpad karotenoidów, po 10 min. ogrzewaniu w temp. 60 i 70°C zawartość wiołaksantyny zmniejsza się odpowiednio o ok. 65 i 90%, a w przypadku anteroksaantyny odpowiednio o ok. 50 i 90%. Ogrzewanie soku przez 10 min w temp. 60°C nie wpływa istotnie na zawartość α - i β -karotenu. Natomiast podwyższenie temp. do 70°C zmniejsza ich zawartość odpowiednio o 70 i 56%. Poziom luteiny w temp. 60°C zmniejszył się o 15%, a w 70°C o 60%. Tak więc widać istotny wpływ czasu i temperatury ogrzewania mikrofalowego na profil karotenoidowy soku z pomarańczy (4).

Meléndez-Martínez i wsp. (8) prowadzili badania nad wpływem składu soków pomarańczowych zakupionych w Hiszpanii na ich zabarwienie. Poddano testom 72 próby. Próby podzielono na 3 grupy w zależności od rodzaju ich przetworzenia, przy czym 31 z nich nie poddano obróbce termicznej (UFOJ), przechowywano je w temp. -18°C. Kolejne 29 prób to koncentraty soku uzyskane na drodze obróbki termicznej (OJFC), które charakteryzują się dużą trwałością w temperaturze pokojowej. Dodatkowo przeanalizowano

Tabela 4. Zestawienie zawartości poszczególnych karotenoidów w próbach soku pomarańczowego poddanych 1 min. ogrzewaniu mikrofalowemu (wg 4).

Związek	Świeży sok (µg/100 ml)	MW w 70°C (µg/100 ml)	MW w 75°C (µg/100 ml)	MW w 85°C (µg/100 ml)
Wiolaksantyna	1,69 ± 0,23	1,35 ± 0,06	1,30 ± 0,15	0,78 ± 0,10
Luteoksantyna	2,22 ± 0,13	1,97 ± 0,16	2,20 ± 0,12	1,86 ± 0,12
Anteroksantyna	11,17 ± 0,88	8,13 ± 0,40	6,21 ± 0,92	5,36 ± 0,90
Związek 4	0,89 ± 0,19	1,65 ± 0,17	0,27 ± 0,01	0,41 ± 0,04
Izomer mutatokasantyny	0,76 ± 0,10	1,18 ± 0,14	0,44 ± 0,02	0,37 ± 0,02
Izomer mutatokasantyny	0,66 ± 0,04	0,70 ± 0,12	0,40 ± 0,02	0,27 ± 0,01
Luteina	1,94 ± 0,14	2,10 ± 0,32	1,17 ± 0,11	0,89 ± 0,20
Związek 8	0,65 ± 0,07	0,70 ± 0,01	0,40 ± 0,05	0,27 ± 0,02
Zeaksantyna	2,18 ± 0,25	1,62 ± 0,32	1,06 ± 0,12	0,92 ± 0,12
Zeinoksantyna	0,37 ± 0,08	0,41 ± 0,06	0,35 ± 0,06	0,18 ± 0,08
β-kryptokantyna	2,48 ± 0,27	2,14 ± 0,17	1,41 ± 0,06	1,26 ± 0,05
α-karoten	0,09 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,06 ± 0,00	0,03 ± 0,00
β-karoten	0,44 ± 0,08	0,40 ± 0,02	0,24 ± 0,01	0,15 ± 0,00
cis-β-Karoten	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,04 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Ogólna zawartość karotenoidów (TC)	25,60 ± 2,69	22,49 ± 1,92	15,55 ± 1,24	12,76 ± 1,84

16 prób soku świeżo wyciskanego (SOJ). Wszystkie soki do przeprowadzenia analizy przechowywano zgodnie z zaleceniami producenta, a UFOJ rozmrożono w temperaturze pokojowej.

Sok pomarańczowy ma skomplikowany profil karotenoidowy. Występują w nim bowiem karotenoidy różniące się ilością wiązań podwójnych (7-11), ich lokalizacją (w łańcuchu, czy też w pierścieniu), co dodatkowo wpływa na możliwość wystąpienia licznych izomerów geometrycznych. Badania wskazują, że w sokach mrożonych najpowszechniej występują 5,6-epoksykarotenoidy (wiołaksantyna i anteroksantyna). Soki, które podczas produkcji poddawane były termicznej obróbce, celem wydłużenia ich przydatności do spożycia, zawierały mniejszą ilość 5,6-epoksykarotenoidów, natomiast głównymi składnikami były ich odpowiedniki 5,8-epoksykarotenoidy (luteoksantyna, auroksantyna i mutatokasantyna). Koncentrując się na barwie soków stwierdzono, że różnią się one między sobą intensywnością zabarwienia. Badania wykazały, że karotenoidy mające 10 wiązań podwójnych odpowiadają za intensywność i jakość barwy soku. Prawdopodobnie karotenoidy z 11 wiązaniami odpowiadają za odcień, a te z 9 wiązaniami za kolor. Karotenoidy odpowiedzialne za odcień absorbują promieniowanie przy ok. 445 i 450 nm, a za jaskrawość i intensywność barwy – przy 400, 425 i 435 nm. Tak więc wyniki tych badań mogą mieć istotne znaczenie dla przemysłu i rynku spożywczego (8).

Mimo tak wielu badań epidemiologicznych prowadzonych w ostatnich latach, mających na celu wykazanie zależności między stężeniem karotenoidów we krwi pacjentek, a ryzykiem wystąpienia raka piersi, nie uzyskano jednoznacznych wyników. Badania prowadzone przez Nkondjock i wsp. (22, 23) oraz zespół badawczy Mignone (22, 24) wskazały na odwrotną zależność między wybranymi karotenoidami dostarczonymi do organizmu wraz z pożywieniem, a ryzykiem wystąpienia raka piersi. Inni badacze wykazali taką zależność, ale tylko w grupie palaczy (22, 25), u kobiet bezpośrednio przed menopauzą (22, 26) oraz w grupie kobiet po okresie menopauzy przyjmujących leki hormonalne (22, 27).

Badania prowadzone przez Larsson i wsp. (22) miały na celu ocenę wpływu karotenoidów dostarczanych do organizmu wraz z pożywieniem na obniżenie ryzyka wystąpienia złośliwego raka piersi. Badaniom poddano 36 664 kobiet mieszkających w Szwecji. W czasie prowadzenia eksperymentu (ok. 9 lat), u 1008 kobiet zdiagnozowano raka piersi. Nie wykazano jednoznacznego związku między spożywaniem karotenoidów, a obniżeniem wystąpienia raka piersi. Jednakże wykazano odwrotną zależność pomiędzy spożywanym α- i β-karotenem, a ryzykiem wystąpienia podtypów raka zależnych od statusu receptora estrogenu oraz statusu receptora progesteronu (*oestrogen and progesterone receptor positive tumours*) w grupie kobiet palących oraz tych, które nie spożywały suplementów diety. Jeśli zdolność karotenoidów do obniżania ryzyka wy-

stąpienia raka piersi związana jest z ich aktywnością przeciwutleniającą, to wydaje się zasadne, iż aktywność ta może być obniżona lub spotęgowana u kobiet nie spożywających suplementów diety. Aktywność ta może również wzrastać u osób palących papierosy, które indukują i potęgują stres oksydacyjny.

Naukowcy sugerują, że nie tylko α - i β -karoten, ale również inne związki obecne w marchwi, mogą być odpowiedzialne za obniżenie ryzyka wystąpienia raka piersi. Rozbieżność uzyskanych wyników oceniających wpływ karotenoidów na ryzyko wystąpienia raka piersi, a także trudność w ich interpretacji, wynika przede wszystkim z tego, że projekty badawcze prowadzone są przez wiele lat i często oparte są na ankietach. Wydaje się również, iż stężenia poszczególnych karotenoidów w pożywieniu, a także zdolność ich przyswajania przez organizm może mieć tu ogromne znaczenie (22).

W ostatnich latach na całym świecie można zaobserwować wzrost zainteresowania i spożycia organicznej ekologicznej żywności. Należy wspomnieć, że sprzedaż takiej żywności w Wielkiej Brytanii wzrosła 10-krotnie w ostatnich dziesięciu latach, natomiast w Irlandii o 82% począwszy od 2006 roku (28, 29). Wielu konsumentów twierdzi, iż żywność ta jest o wiele bardziej odżywcza niż ta tradycyjna. Natomiast wyniki badań naukowych nie są tak jednoznaczne. Jiwan i wsp. (29) badali zawartość karotenoidów oraz oceniali ich bioprzyswajalność z żywności organicznej i tradycyjnej stosowanej w diecie dla dzieci (29). Ocenie poddano luteinę, β -karoten, likopen, zeaksantynę oraz β -kryptoksantynę. Produkty warzywne dla dzieci są dobrym źródłem α - i β -karotenu oraz β -kryptoksantyny, luteiny i likopenu. Są one prekursorami witaminy A (α - i β -karoten), ale także wykazują aktywność przeciwutleniającą (29, 30). Należy pamiętać, że u dzieci w wieku 4-6 miesięcy dochodzi do wzrostu zapotrzebowania na produkty odżywcze, związanego ze wzmocnionym wzrostem i rozwojem, co w konsekwencji wymaga podawania im także innych produktów żywnościowych oprócz mleka (29, 31).

Wykazano, że organiczne desery jagodowe zawierają mniej karotenoidów w porównaniu z tradycyjnymi deserami jagodowymi przeznaczonymi dla dzieci w wieku powyżej 4 miesięcy, z wyjątkiem likopenu. Podobną zależność uzyskano dla gotowych obiadków zawierających mięso z kurczaka i warzywa. W tym przypadku wykazano wyższe stężenia zeaksantyny w obiadkach tradycyjnych w porównaniu z obiadkami organicznymi. W żywności organicznej stwierdzono natomiast wyższe stężenie likopenu w porównaniu z tradycyjnym pożywieniem. Różnicę w zawartości tych związków należy wytłumaczyć tym, że tylko jeden tradycyjny obiódek zawierał pomidory. Natomiast w przy-

padku organicznych obiadków wchodziły one w skład aż dwóch z trzech przebadanych posiłków. Mimo, że skład obu rodzajów produktów żywnościowych nie jest bez znaczenia, to jednak autorzy sugerują, iż ekologiczna żywność organiczna nie charakteryzuje się wyższą wartością odżywczą w porównaniu z żywnością tradycyjną.

Zastosowany przez autorów model *in vitro*, opracowany przez Garetta (29, 32), pozwolił na ocenę bioprzyswajalności karotenoidów z badanych deserów i obiadków. Wykazano, że bioprzyswajalność karotenoidów, w szczególności prowitaminy A, z obiadków była wyższa w porównaniu z deserami. Biodostępność β -karotenu z obiadków tradycyjnych była wyższa niż z produktów organicznych. Bioprzyswajalność likopenu była zbliżona dla wszystkich rodzajów produktów, co odpowiada wynikom uzyskanym przez Caris-Veyrat i wsp. (29, 33), wskazującym na brak różnic istotnych statystycznie w stężeniu likopenu we krwi u ludzi spożywających pomidory pochodzące z tradycyjnych plantacji i z ekologicznych. Wydaje się więc, że konsumenci powinni zwracać większą uwagę na skład posiłków przeznaczonych dla dzieci, a w mniejszym stopniu na to, czy jest ona produkowana tradycyjnie, czy ekologicznie.

Scarmo i wsp. (10) przeprowadzili badania z udziałem dorosłych zdrowych osób, mające na celu poznanie korelacji zawartości karotenoidów w osoczu i skórze. Badanie przeprowadzono na 27 osobach, głównie rasy kaukaskiej (88,9%), o prawidłowej masie ciała (70,4%), niepalących (88,9%), kobietach (63%) w średnim wieku 33,3 (\pm 10,6) lat. Analizowano zawartość następujących karotenoidów: likopenu, β -karotenu, β -kryptoksantyny, luteiny, zeaksantyny oraz ogólnej zawartości karotenoidów (TC) (10). Wyniki zamieszczono w tabeli 5.

Tabela 5. Średnie zawartości karotenoidów w osoczu i skórze (wg 10).

Związek	Średnia zawartość w osoczu (nmol/l)	Średnia zawartość w skórze (pmol/biopsję)
Likopen	640	6,1
β -Karoten	530	3,9
β -Kryptoksantyna	225	1,4
Luteina	220	0,2
Zeaksantyna	155	0,2
Ogólna zawartość karotenoidów (TC)	1828	13,1

Najpowszechniejszym karotenoidem w osoczu był likopen (średnio 640 nmol/l), ten sam związek był również najpowszechniejszy w skórze (6,1 pmol/biopsję).

Drugim, co do powszechności związkiem był β -karoten zarówno w osoczu, jak i w skórze (odpowiednio 530 nmol/l, 3,9 pmol/ biopsję). Likopen i β -karoten stanowiły 64% wszystkich karotenoidów zawartych w osoczu, a w skórze 76%, w nieco większym stosunku zawartości likopenu do β -karotenu. Natomiast β -kryptoksantyna stanowiła jedynie 12% TC w osoczu i 11% TC w skórze. Bardziej polarne związki, luteina i zeaksantyna, występują w niewielkich ilościach w skórze (jedynie 3% TC), natomiast w wyższym stężeniu w osoczu 21% TC. Badania wykazały istotną korelację pomiędzy zawartością likopenu i β -karotenu w osoczu i w skórze. Natomiast w przypadku ksantofili (zeaksantyny, luteiny, β -kryptoksantyny) obserwuje się mniejszą korelację, co potwierdza brak istotnie statystycznej zawartości poszczególnych ksantofili w osoczu i w skórze (10).

Karotenoidy pochodzenia zwierzęcego

Juola i wsp. (5) prowadzili badania, których celem było poznanie barwników z grupy karotenoidów odpowiedzialnych za zabarwienie upierzenia fregaty średniej (*Fregata minor*). Poziom tych związków badano zarówno we krwi, jak i w niektórych tkankach tego ptaka. Do badań wykorzystano 112 dorosłych ptaków, w tym 82 samce i 30 samic. W grupach tych znalazło się: 61 okazałych samców, 10 hodowlanych samców, 11 niehodowlanych samców, 10 samic w okresie godowym, 10 hodowlanych samic oraz 10 niehodowlanych samic. Analiza HPLC pozwoliła na potwierdzenie astaksantyny (w postaci licznych izomerów), tunaksantyny oraz zeaksantyny. Spośród tych związków astaksantyna charakteryzowała się najwyższym stężeniem, zarówno u samic, jak i u samców. Porównując dane liczbowe, u samców stężenie tego ksantofilu było prawie 2-krotnie wyższe niż u samic (odpowiednio 0,97 $\mu\text{g/ml}$ i 0,59 $\mu\text{g/ml}$). Pozostałe związki występowały u obydwu płci na tym samym poziomie. Z badań wynika również, że samce, których zabarwienie było intensywnie czerwone, były bardziej atrakcyjne dla samic, co jest wyznacznikiem ich stanu zdrowia. Wysoka zawartość astaksantyny odpowiedzialna jest za ogólny stan zdrowia, a obniżenie jej zawartości we krwi ma wpływ na zmianę masy ciała, czego konsekwencją jest pogorszenie ogólnego stanu zdrowia danego osobnika (5).

Do zwierząt, które w swym ciele posiadają różnego rodzaju karotenoidy i ksantofile należą mięczaki jadalne, małże, ostrygi i przegrzebki (15). Mięczaki kumulują w swoim organizmie karotenoidy pochodzące z alg, a następnie poddają je licznym procesom metabolicznym. Większość obecnych w ich organizmie karotenoidów to produkty przemiany fukoksantyny,

perydyny i diatoksantyny. W 1992 roku zespół Mataka (15) odkrył krassesstreaksantynę A i B w japońskich ostrygach. Substancje te mają nietypowe końce łańcucha, a mianowicie przy jednym podstawionym pierścieniu β -jononu występuje wiązanie potrójne, natomiast substancje te nie mają drugiego pierścienia β -jononu. Związki te są metabolitami halocyntiaksantyny. Niektóre jadalne mięczaki wykazują intensywne pomarańczowe, bądź czerwone zabarwienie, które zawdzięczają obecności estrów w pozycji 3 (acylowych lub acetylowych) fukoksantyny oraz (acylowych) fukoksantynolu.

Innym charakterystycznym dla morskich muszli oraz ostryg karotenoidem jest mytiloksantyna. W 3 gatunkach *Corbicula* zidentyfikowano 43 karotenoidy, z czego 6 wcześniej nieznanymi. Luteinę i loroksantynę potwierdzono jedynie w *C. sandai* oraz *C. leana*, perydynę jedynie w *C. japonica*, a fukoksantynę i diatoksantynę we wszystkich trzech gatunkach. Odkryto również 2 nowe metabolity perydyny: cyklopyroksantynę i hydratopyridynę. Poznane nowe karotenoidy nie tylko są kluczem do wyjaśnienia szlaku metabolicznego, ale również kluczem do wyjaśnienia łańcucha żywieniowego (15).

Prowadzi się wiele badań nad wyjaśnieniem korelacji zawartości karotenoidów we krwi zwierząt i ogólnym zdrowiem danych osobników (7). W badaniach prowadzonych na amadynach zebrowatych (*Taenipygia guttata*) zauważono, że wyższa zawartość karotenoidów w osoczu ma pozytywny wpływ na zabarwienie dzioba oraz odporność czerwonych krwinek na stres oksydacyjny. Jednakże badania nad sikorkami bogatkami (*Parus major*) nie potwierdziły wpływu pigmentacji upierzenia na nieenzymatyczną aktywność przeciwutleniającą karotenoidów u piskląt i dorosłych osobników. Obecność niektórych metali, np. kadmu, ołowiu (metali o nieznannej funkcji biologicznej), miedzi, żelaza, cynku, może być toksyczna dla organizmu, gdy zostanie przekroczona maksymalna dopuszczalna dawka. Konsekwencją takiego stanu jest generowanie dużej ilości wolnych rodników, którym naturalne procesy ochronne nie są w stanie przeciwdziałać. Badania prowadzone przez Eava i wsp. oraz Dauwe i wsp. (cyt. za 7) nad wpływem zanieczyszczeń metalami na zabarwienie upierzenia sikorki bogatki wskazują na zależność pomiędzy zanieczyszczeniami a intensywnością barwy piór. Zanieczyszczenie metalami może mieć nie tylko bezpośredni wpływ na intensywność barwy piór, ale przede wszystkim na jakość pożywienia, która jest źródłem karotenoidów dla ptaków. Hipoteza ta może być potwierdzona licznymi badaniami produktów spożywczych z zanieczyszczonych obszarów, co ma istotny wpływ na dietę ptaków.

Geens i wsp. (7) przeprowadzili więc badania nad wpływem zanieczyszczeń metalami na zabarwienie piór, jak również określeniem stresu oksydacyjnego u piskląt i dorosłych osobników sikorki bogatki. Możliwe jest więc, że ptaki „przyswyczajone” do zanieczyszczeń, kosztem zabarwienia piór uwalniają część karotenoidów do procesów antyoksydacyjnych. Osobniki poddano również podstawowym badaniom krwi na zawartość albuminy, cholesterolu, triglicerydów, kwasu moczowego, celem określenia jakości spożywanego przez nie pożywienia. W eksperymencie prowadzono badania nad 45 dorosłymi i 328 pisklętami sikorki bogatki, z 45 różnych gniazd. Sprawdzono zawartość pigmentów u osobników z terenów zanieczyszczonych, jak również czystych.

Zarówno pisklęta, jak i dorosłe osobniki z zanieczyszczonych terenów, miały mniej zabarwione pióra. Wyniki poziomu stresu oksydacyjnego nie potwierdziły wpływu zanieczyszczeń metalami na zwiększenie ilości wolnych rodników u sikorek. Innym sposobem wyjaśnienia tej sytuacji może być fakt silnej odpowiedzi enzymatycznego układu antyoksydacyjnego niż nieenzymatycznego w neutralizacji wolnych rodników. Badania osocza wskazują na podwyższony poziom kwasu moczowego i albuminy u piskląt i dorosłych osobników z zanieczyszczonego terenu. Przypuszcza się, że podwyższony poziom kwasu moczowego wskazuje na niewydolność nerek, zły stan zdrowia i stres oksydacyjny. Jednakże bez wyznaczonych markerów stresu oksydacyjnego trudno jest interpretować uzyskane wyniki. Stężenie albuminy, całkowitego białka i kwasu moczowego u piskląt z terenu zanieczyszczonego może wskazywać na dietę bogatszą w białko. Porównując skład osocza piskląt i osobników dorosłych, pisklęta miały wyższe zawartości albuminy, ogólnego białka i triglicerydów niż dorosłe ptaki. Wskazuje to na nadmierne karmienie piskląt kosztem osobników dorosłych. W badaniach nie wykazano więc zależności pomiędzy stresem oksydacyjnym, a jaśniejszym zabarwieniem osobników dorosłych. W celu wyjaśnienia procesów zachodzących w organizmach dorosłych sikorek należy przeprowadzić dalsze badania (7).

Podsumowanie

Wiele doniesień naukowych wskazuje na to, że karotenoidy charakteryzują się korzystnym oddziaływaniem na organizm człowieka. Niektóre badania muszą jeszcze zostać potwierdzone większą ilością eksperymentów, by móc wyjaśnić dokładnie procesy wpływające na ochronne działanie karotenoidów. Nie zmienia to jednak bardzo ważnego faktu, że stosowanie w codziennej diecie zarówno owoców, jak i warzyw, przyczynia się do polepszenia ogólnego

stanu zdrowia, a także chroni organizm przed wieloma poważnymi chorobami.

Piśmiennictwo

1. Tobias AV, Arnold FH. Biosynthesis of novel carotenoid families based on unnatural carbon backbones: A model for diversification of natural product pathways. *BBA* 2006; 1761:235-46.
2. Andersson SC. Carotenoids, tocopherols and chlorophylls in sea buckthorn berries (*Hippophae rhamnoides*) and rose hips (*Rosa* sp.). Doctoral Thesis Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp 2009; 15-20.
3. Grajek W. Przeciwnutleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne. Wyd Nauk-Techn, Warszawa 2007; 97:172-176,344,431.
4. Fratianni A, Cinquanta L, Panfil G. Degradation of carotenoids in orange juice during microwave heating. *LWT-Food Sci Technol* 2010; 43:867-71.
5. Juola FA, McGraw K, Dearborn DC. Carotenoids and throat pouch coloration in the great frigatebird (*Fregata minor*). *Comp Biochem Physiol* 2008; 149:370-7.
6. Graça-Dias M, Camões MFGFC, Oliveria L. Carotenoids in traditional Portuguese fruits and vegetables. *Food Chem* 2009; 113:808-15.
7. Geens A, Dauwe T, Eens M. Does anthropogenic metal pollution affect carotenoid colouration, antioxidative capacity and physiological condition of great tits (*Parus major*)? *Comp Biochem Physiol Pt C* 2009; 150:155-63.
8. Meléndez-Martínez AJ, Escudero-Gilete ML, Vicario IM i wsp. Study of the influence of carotenoid structure and individual carotenoids in the qualitative and quantitative attributes of orange juice color. *Food Res Int* 2010; 43:1289-96.
9. Liang J, Tian YX, Yang F i wsp. Antioxidant synergism between carotenoids in membranes. Astaxanthin as a radical transfer bridge. *Food Chem* 2009; 115:1437-42.
10. Scarno S, Cartmel B, Lin H i wsp. Significant correlations of dermal total carotenoids and dermal lycopene with their respective plasma levels in healthy adults. *Arch Biochem Biophys* 2010; 504:34-9.
11. Widomska J, Kostecka-Gugała A, Latowski D i wsp. Calorimetric studies of the effect of cis-carotenoids on the thermotropic phase behavior of phosphatidylcholine bilayers. *Biophys Chem* 2009; 140:108-14.
12. Odriozola-Serrano I, Soliva-Fortuny R, Hernández-Jover T i wsp. Carotenoid and phenolic profile of tomato juices processed by high intensity pulsed electric fields compared with conventional thermal treatments. *Food Chem* 2009; 112:258-66.
13. Rodríguez-Bernaldo, de Quirós A, Costa HS. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: a review. *J Food Compos Anal* 2006; 19:97-111.
14. Simkin AJ, Moreau H, Kuntz M i wsp. An investigation of carotenoids biosynthesis in *Coffea canephora* and *Coffea arabica*. *J Plant Physiol* 2008; 165:1087-106.
15. Maoka T. Recent progress in structural studies of carotenoids in animals and plants. *Arch Biochem Biophys* 2009; 483:191-5.
16. Ziemiański Ś. Normy żywienia człowieka. Fizjologiczne podstawy. Wyd Lek PZWL, Warszawa 2001; 141-6, 301-2.
17. Luo M, Estívariz CF, Schleicher RL i wsp. Prospective analysis of serum carotenoids, vitamin A and tocopherols in adults with short bowel syndrome undergoing intestinal rehabilitation. *Nutr J* 2009; 25:400-7.
18. Kiokias S, Dimakou C, Oreopoulou V. Activity of natural carotenoid preparations against the autoxidative deterioration of sunflower oil-in-water emulsions. *Food Chem* 2009; 114:1278-84.
19. Ren D, Zhang S. Separation and identification of the yellow carotenoids in *Potamogeton crispus* L. *Food Chem* 2008; 106:410-14.
20. Murray RK, Granner DK, Mayes PA i wsp. *Biochemia Harpera*. Wyd Lek PZWL, Warszawa 1994; 928.
21. Mendes-Pinto MM. Carotenoid breakdown products the – norisoprenoids – in wine aroma. *Arch Biochem Biophys* 2009; 483:236-45.
22. Larsson SC, Bergkvist L, Wolk A. Dietary carotenoids and risk of hormone receptor-defined breast cancer in a prospective cohort of Swedish women. *Eur J Cancer* 2010; 46:1079-85.
23. Nkodyock A, Ghadrian P. Intake of specific caro-

- tenoids and essential fatty acids and breast cancer risk in Montreal, Canada. *Am J Clin Nutr* 2004; 79:857-64. **24.** Mignone LI, Giovannuci E, Newcomb PA i wsp. Dietary carotenoids and risk of invasive breast cancer. *Int J Cancer* 2009; 124:2929-37. **25.** Cho E, Spiegelman D, Hunter DJ i wsp. Premenopausal intakes of vitamins A, C, and E, folate, and carotenoids, and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12:713-20. **26.** Zhang S, Hunter DJ, Forman MR i wsp. Dietary carotenoids and vitamins A, C and E and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91:547-56. **27.** Nagel G, Linseisen J, van Gils CH i wsp. Dietary beta-carotene, vitamin C and E intake and breast cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Breast Canc Res Treat* 2010; 119:753-65. **28.** Bord B. Organic sales in Ireland exceed €100 million. <http://www.bordbia.ie/eventsnews/press/2008/Pages/OrganicsalesinIrelandexceed-100million.aspx>. **29.** Jiwan MA, Duane P, O'Sullivan L i wsp. Content and bioaccessibility of carotenoids from organic and non-organic baby foods. *J Food Comp Anal* 2010; 23:346-52. **30.** Rao AV, Rao LG. Carotenoids and human health. *Pharm Res* 2007; 55:207-16. **31.** Majchrzak D, Frank U, Elmadfa I. Carotenoid profile and retinol content of baby food products. *Eur Food Res Technol* 2000; 210:407-13. **32.** Garrett DA, Failla MI, Sarama RJ. Development of an *in vitro* digestion method to assess carotenoid bioavailability from meals. *J Agr Food Chem* 1999; 47:4301-9. **33.** Caris-Veyrat C, Amiot MJ, Tyssandier V i wsp. Influence of organic versus conventional agricultural practice on the antioxidant microconstituent content of tomatoes and derived purees; consequences on antioxidant plasma status in human. *J Agr Food Chem* 2004; 52:6503-9.

otrzymano/received: 27.05.2011
zaakceptowano/accepted: 15.06.2011

Adres/address:
*mgr chem. Agnieszka Gryszczynska
Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich
Zakład Badania Jakości Produktów Leczniczych i Suplementów Diety
ul. Libelta 27, 61-707 Poznań
tel.: (61) 665-95-50, fax: (61) 665-95-51
e-mail: agnieszka.gryszczynska@iwnirz.pl