

Zaleski S., Flik A., Daczkowska E., Koronkiewicz A., Stopikowska I. — **Влияние энтеротоксических стафилококков на возникновение нитрозаминов в мышечной ткани рыб в процессе засолки.**

Исследовали возможность возникновения нитрозаминов в сильно засаливаемой сельди и скумбрии, засаливаемой на „anchovies”, в которые ввели энтеротоксические штаммы стафилококка. Для засолки употребили столовую, рыбацкую и морскую соль. После недельного созревания в соленой рыбе не обнаружили возможных для определения количеств нитрозаминов. Редукция исходного количества стафилококка в рассоле сельди через три недели созревания в темп. +6°C составляла 2—3 D, а скумбрии через 55 дней созревания в темп. +22—+28°C была на уровне 4 D или выше.

В импортированных презервах типа „anchovies” не обнаружили присутствия стафилококков и нитрозаминов.

Zaleski S., Flik A., Daczkowska E., Koronkiewicz A., Stopikowska I. — **The influence of enterotoxinogenic staphylococci on nitrosamines formation in fish meat tissue in salting process.**

There was studied the possibility of nitrosamines formation in a heavily salted herring and a salted mackerel form „anchovies” contaminated by enterotoxinogenic strains of staphylococci. Common salt, marine salt and piscatorial salt were used for a salting process.

Nitrosamines were not found in the salted fish after one week ripening. Reduction of an initial number of staphylococci in herring saline after 3 weeks ripening at 6°C was 2—3 D, in mackerel saline after 55 days of ripening at 22—28°C 4 D or higher.

In an imported preserves of an „anchovies” type staphylococci and nitrosamines were not found.

TADEUSZ WITAS

Biogenne i abiogenne oddziaływanie malonianów w paszach, żywności i w organizmach żywych

Z Instytutu Rybołówstwa Morskiego WSM w Szczecinie

Międzyreakcje malonianów i utlenionych tłuszczowców ze związkami biogennymi przed wprowadzeniem ich do organizmów w paszach, w żywności i w organizmach żywych stanowią rozległe i wciąż współcześnie największe problemy naukowe. W ostatnich latach stwierdzono, że kwasy tłuszczowe tłuszczowców, glicerol, cukry proste i złożone, niektóre aminokwasy, węglowodory, np. skwalen i inne związki w określonych warunkach *in vitro* i *in vivo* uwalniają dwualdehyd malonowy, dwufunkcyjny związek o bardzo dużej aktywności i rozległym oddziaływaniu toksycznym. Reakcje produktów rozpadu związków malonalogennych z enzymami, z innymi białkami i z kwasami nukleinowymi wskazują, że malonal oddziałuje z biologicznie ważnymi związkami chemicznymi w organizmach żywych w większym stopniu niż dotychczas sądzono.

Biogenne oddziaływanie pochodnych malonylowych

W organizmach żywych biogenne pochodne malonylowe spełniają szczególnie ważne role w syntezach biochemicznych. Warto zwrócić uwagę na niektóre znane przemiany. Lynen (65) wykazał, że w reakcjach syntezy kwasów tłuszczowych bierze udział grupa malonylowa przy współdziałaniu wieloenzymatycznego kompleksu syntetazy kwasów tłuszczowych. W mitochondriach mózgu zwierząt i synaptosomach stwierdzono udział syntetazy malonylo-CoA i dekarboksylazy malonylo-CoA w metabolizmie malonianów. Dekarboksylacja malonylo-CoA towarzyszy cytoplazmatycznej biosyntezie kwasów tłuszczowych w subcelularnych organellach komórek mózgu (51, 54). Biosynteza kwasów tłuszczowych obejmuje również bardzo istotne reakcje izomeryzacji, katalizowane przez enzymy ko-bamidowe, przekształcając bursztynylo-CoA w metylomalonylo-CoA (54). Kwas metylomalonowy podczas

niedoboru wit. B₁₂ u ludzi i zwierząt jest wydalany z moczem w znacznych ilościach (5—8, 18, 128). Wzrost w wydalaniu kwasu metylomalonowego jest zależny od aktywności izomerazy metylomalonylo-CoA, enzymu wymagającego obecności wit. B₁₂, katalizującego przemianę metylomalonylo-CoA do bursztynylo-CoA. Obecność w moczu kwasu metylomalonowego dowodzi uszkodzenia reakcji transmetylacji w układzie metyloczterohydrofoliany — homocysteina a także świadczy o niedoborze wit. B₁₂ w organizmie, która reguluje dostępność kwasu czterohydrofoliowego (13, 16, 30, 32, 35, 40, 50, 64, 92, 104, 106, 107, 126).

Układy te wchodzi do reakcji syntez białek i kwasów nukleinowych. W degradacji kwasów tłuszczowych metylomalonylo-CoA pod wpływem mutazy metylomalonylo-CoA przekształca się w cząsteczkę bursztynylo-CoA i włącza do cyklu kwasów trójkarboksylowych Krebsa (74).

W biosyntezie kwasu pantotenowego bierze udział β-alanina, która powstaje z alaniny przy udziale aminotransferazy β-alaninowej, reagując z półaldehydem malonowym (kwasem 2-formylooctowym) (74).

Kwas aminomalonowy, NH₂CH(COOH)₂ i jego pochodne są ważnymi związkami, tak ze względu chemicznych jak i biochemicznych. Kwas aminomalonowy, jako związek pośredni, odgrywa dużą rolę w przemianach metabolicznych zwierząt (72). Już stosunkowo dawno przypisywano temu aminokwasowi możliwości biochemicznej roli intermediatu w przemianach seryny do glicyny (72, 84, 102, 115). Pochodne aminomalonianowe są niezwykle reaktywnymi cząsteczkami. Według Ogstena (81) kwas aminomalonowy bierze udział w reakcjach enzymatycznych. Dekarboksylacja aminomalonianów, w przeciwieństwie do kwasu malonowego lub innych aminokwasów, występuje w stanach zbliżonych do warunków *in vivo* (116—118). Dwuetyloaminomalonian i aminomalononitryle uznano za związki prekursorowe w syntezie puryn i pirymidyn. Aminomaloniany, kwas aminomalonowy i kwas α-metyloaminomalonowy w układach chemicznych zawierających pirydoksal lub jego analogi, wykazują graniczną czułość w katalizowanych reakcjach przemiany wit. B₆ (1, 115—118). α-Fenylaminomalonian jest bardzo czułym związkiem ulegającym spontanicznej dekarboks-

sylacji z czasem półtrwania kilku minut w zakresie pH 1,5.

Aminomaloniany katalizują syntezę 5-dezoksyperydoksalu. Stwierdzono ich wpływ przestrzenny i elektro-nowy. Dekarboksylacja amfoterycznej postaci kwasu α -fenyloaminomalonowego, $+\text{NH}_3\text{C}_6\text{H}_5(\text{COOH})\text{COO}^-$, jest o około 5×10^6 razy szybsza niż monoanionu kwasu malonowego, $\text{CH}_2(\text{COOH})\text{COO}^-$. Stała szybkości reakcji dekarboksylacji α -fenyloaminomalonianu jest ponad dwukrotnie większa niż stała szybkości aminomalonianu (119). Dwunitryle kwasu aminomalonowego, $\text{NH}_2\text{CH}(\text{CN})_2$ są włączone jako intermediały w przemianach chemicznych biologicznie ważnych cząsteczek (28, 94). Aminomalononitryle reagując ze związkami elektrofilowymi, takimi jak aldehydy, przy umiarkowanych stanach temperatury i pH, wytwarzają intermediały, które po hydrolizie kwaśnej dają ilościowo aminokwasy: glicynę, kwasy D, L-erytro- i D, L-treo β -hydroksoasparaginy, kwas D, L-glutaminowy oraz D, L-treoninę i allo-treoninę (120). Thanassi i wsp. (120) przedstawiają mechanizm ich powstawania w reakcjach syntez prebiotycznych. Badacze ci (120) uważają, że związki elektrofilowe jak aldehyd glioksalowy, acetoaldehyd lub związki z nienasyconymi wiązaniami C=C mogą atakować aminomalononitryle w reakcjach, które są kinetycznie i termodynamicznie nieodwracalne. Aminomalononitryle mogą być brane pod uwagę jako bardzo reaktywne analogi glicyny i jako substancje prekursorowe aminokwasów. Aminomalononitryle z kwasem glioksalowym wytwarzają zasady Schiffa, a następnie reagując z drugą cząsteczką glioksalanu wytwarzają pochodne, które po hydrolizie dają kwas β -hydroksoasparaginy. Aminomalononitrylom przypisuje się udział w syntezie aminokwasów w układach prebiotycznych na ziemi, lecz także w syntezach biologicznie ważnych cząsteczek w obecnie żyjących organizmach (28, 94, 120).

Intermediatyczne położenie malonianów w wielu przemianach biochemicznych wskazuje na ich doniosłą rolę w organizmach żywych ludzi i zwierząt. Uszkodzenia strukturalne i funkcjonalne pośredniego ogniwa malonianów muszą obciążać wiele dróg metabolicznych ładunkiem toksyczności o głębokich konsekwencjach abio-gennych.

Abiogenne oddziaływanie pochodnych malonylowych

Bardziej intensywne badania pozwoliły nagromadzić więcej informacji o związkach malonylowych jako substancjach abiogennych, o malonianach pochodzących z utlenionych tłuszczowców, węglowodorów, cukrowców i innych utlenionych związków, z którymi współcześnie żyjące zwierzęta i ludzie mają praktycznie nieograniczoną styczność. Zmiany tłuszczowców, kompleksów lipidobiałkowych i polisacharydów oraz ich interakcje mogą mieć miejsce w żywych organizmach. Zmiany te powszechnie występują w różnych fazach procesu przechowywania, transportu i przetwarzania pasz oraz żywności. Ponieważ właściwości bio- i fizykochemiczne kompleksów tłuszczowcowych i lipidobiałkowych ulegają istotnym zmianom w procesach patologicznych, przebiegających w wielu tkankach żywych organizmów, jak się przypuszcza, mają one związek z patogenezą wielu zespołów chorobowych u roślin (37, 66), zwierząt (2, 4, 11, 25, 34, 41—46, 55, 56, 78, 98, 103, 108, 122) i lu-

dzi (31, 47, 71, 79, 109, 121, 124). W pracy tej uznano za konieczne zaprezentowanie konsekwencji biochemicznych abiogennych interakcji pochodnych malonylowych oraz dokonanie próby wyjaśnienia przyczyn i skutków ich powstawania.

Powstawanie dwualdehydu malonowego i innych produktów rozpadu z utlenionych tłuszczowców, cukrowców, aminokwasów oraz z innych związków malonalogen-nych

W procesach reakcji chemicznych w zakresie temperatur od ca -30°C do ca 200°C z udziałem tlenu atmosferycznego, odpowiedzialnym za reakcje tłuszczowców wyróżniono autooksydację, polimeryzację i kopolimeryzację oksydacyjną (9, 23, 24, 38, 70, 110—112). Zapoczątkowanie aktywnej autooksydacji nienasyconych tłuszczów charakteryzuje się wyczuwalnym i narastającym, nieprzyjemnym zapachem zjełczenia. Powstają wówczas duże ilości nadtlenków, hydronadtlenków oraz ich rodniki, a z nich tworzą się wtórne produkty utlenienia. Okres ten odznacza się dużym zużyciem tlenu. Ilość tlenu, którą pobiera tłuszcz zanim wystąpią cechy zjełczenia waha się w szerokich granicach 10 do 50% objętości tłuszczu. Nadtlenki i hydronadtlenki nie nagromadzają się w większych ilościach, a ilość ich nie jest proporcjonalna do ilości absorbowanego tlenu. Teoria o prostej addycji tlenu do podwójnych wiązań w łańcuchu kwasów tłuszczowych i wytwarzanie nadtlenków okazała się niewystarczająca do wyjaśnienia mechanizmu autooksydacji tłuszczów, ponieważ otrzymano jeszcze inne początkowe produkty utlenienia bez naruszenia wiązań podwójnych. Farmer i Sutton (cyt. 123) wyizolowali monohydronadtlenki przez podstawienie grupy $-\text{OOH}$ do jednej z grup metylenowych oleina-nu, przyległej do podwójnego wiązania. W czasie wytwarzania monomerowych produktów oksydacji tlen przyłącza się z łatwością do wiązań podwójnych blisko grup karboksylowych, podczas gdy wiązania podwójne oddalone od grup karboksylowych z trudnością reagują z tlenem. Teoria ta przypisuje szczególną odpowiedzialność za oksydację układu węgla w jednostkach $(-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_n$ i przyjmuje, że hydronadtlenki są wytwarzane w reakcji łańcuchowej, zapoczątkowanej przez usunięcie atomu wodoru z grupy α -metylenowej od fazy wstępnej wzbudzenia do fazy rozszerzenia reakcji.

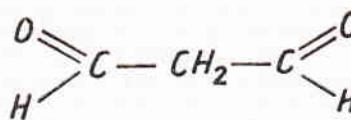
Ważniejszym typem biologicznych katalizatorów, które pobudzają utlenianie tłuszczów są lipooksygenazy (113). O'Brien i Rahimtula (80) stwierdzili, że termolabilnym katalizatorem peroksydacji intracelularnych, mikrosomalnych lipidów wątroby jest cytochrom P-450. Kinetyka reakcji, liczba obrotów i inne właściwości wska-

zują, że cytochrom P-450 jest zwierzęcym odpowiednikiem lipooksygenazy roślinnej. W układach tych zaobserwowano szybkie wiązanie tlenu i wytwarzanie się dwualdehydu malonowego (DAM). Powstawanie DAM następowało bez fazy indukcji, ściśle uzależnione od stopnia wiązania tlenu, tj. 3,4% tlenu na mol substratu, temperatury i czasu. Uzyskane wartości są proporcjonalne do ilości mikrosomów i zależne od stężenia hydronadtlenków. Fuhami, Holmsen i Bauer (31) otrzymali DAM jako produkt rozpadu endotlenków peroksydowanych lipidów w płytkach krwi ludzi po dostarczeniu tlenu i działaniu trombiną. Do wytworzenia DAM konieczne było pochłonięcie 7 części O_2 na 1 część wytworzonego DAM. W peroksydowanych lipidach archaidonian ulega przemianie do pochodnych hydronadtlenkowych pod wpływem lipooksygenazy i do cyklicznego nadtlenu w prostaglandynie G_2 przez cyklooksygenazę. DAM wytworzył się również jako produkt rozpadu prostaglandyny G_2 (36). Högberg i wsp. (41, 42) stwierdzają, że DAM wytwarza się w peroksydowanych lipidach w izolowanych mikrosomach endoplazmatycznego retikulum hepatocytów.

Na podstawie analiz związków lotnych tłuszczowców stwierdzono, że wytwarzają się w nich bardzo złożone mieszaniny substancji. Powszecnie izolowano DAM (129). Badacze ci (129) stwierdzają, że największym źródłem powstawania malonalu w tych substratach były fosfolipidy. Niepolarne fosfo- i glikolipidy w mięsie owiec przechowywanych w temp. $4^\circ C$ dawały niskie wartości zależne od zawartości i stopnia oksydacji kwasów arachidonowego i linolenowego (61). Wzrost w zawartości DAM w mięsie wołowym po rozdrobieniu następuje w wyniku rozerwania struktur celularnych, uwolnienia nienasyconych kwasów tłuszczowych błon z katalitycznym udziałem reagentów tkanki oraz po ekspozycji cząsteczek mięsa na atak O_2 atm. (33). Yu, Day i Sinnhuber (134) z autooksydowanego oleju łososi izolowali DAM. Wytwarzanie się znacznych ilości DAM z utlenionych lipidów w mrożonych śledziach bałtyckich stwierdzili Kuusi i wsp. (56), zaś w mrożonych ostrygach inni badacze (91). Przyjmuje się, że największe przyrosty DAM powstają w fazie zamrażania i defrostacji, mniejsze natomiast w ciągu okresu przedłużonego przechowywania ryb i to w tych substratach, w których ocena sensometryczna nie wykazywała zmian (100).

Dox i Plaisance (26, 27) zaobserwowali selektywne wytwarzanie się DAM ze sprzężonych aldehydów a także w innych układach z aldehydów alifatycznych, aromatycznych i heterocyklicznych (101). DAM jest głównie wytwarzany z utlenionych związków 2-enolowych i 2,4-dwuenolowych, które są produktami rozpadu hydronadtlenków (15, 73). Schmidt (99) widzi powstawanie DAM lub jego form tautomerycznych, w wyniku autooksydacji nienasyconych kwasów tłuszczowych w obecności tlenu. Niektórzy autorzy przyjmują istnienie DAM w równowadze dynamicznej w formie tautomerycznej z β -hydroksyakroleiną (cyt. 127). Schmidt (99) przyjmuje, że postać enolowa DAM hydroksyakroleina jest formą tautomeryczną aldehydu epihydrinowego.

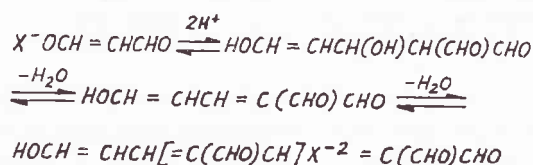
Reakcje charakterystyczne daje tylko związek trójwęglowy z grupą metylową, graniczącą z grupami karbonyłowymi o wzorze:



Ryc. 1. Dwualdehyd malonowy (aldehid malonowy, malonal, metanodwualdehyd, DAM)

Mechanizm tworzenia się DAM nie jest całkowicie poznany, jednakże może pochodzić z pięciocząłowego pierścienia nadtlenukowego, wytwarzającego się przez cyklizację β , γ -nienasyconych rodników nadtlenukowych (21). Mashio i Kimura (69) oraz inni badacze (58, 94) twierdzą, że DAM w roztworach wodnych istnieje głównie jako tautomer enolowy, a poniżej pH 4,5 stopniowo staje się cyklicznym enolem chelatowym oraz występuje w postaci trwałych soli enolowych. Typową reakcją DAM, jak dla większości aldehydów, jest addycja nukleofilowa (68). Dążność do ulegania reakcji nukleofilowej jest potęgowana przez istnienie układu sprzężonego, który pozwala na stabilizację rezonansową anionu spowodowaną 1,4-addycją do końcowej części α , β -nienasyconego układu karbonyłowego. Grupa hydroksylowa enolu 1,3-dwukarboonyli jest zwykle podstawiana w stanie stabilizacji przejściowego anionu jako intermediatu (20).

Stwierdzono, że główną substancją uwalniającą się z utlenionego tlenu powietrza linolenianu metylowego jest rzeczwiście DAM. Stanowi on około 90% eluowanego z kolumny z sefadeksem substratu (59). Kwon i Olcott (59) uważają, że w każdym procesie oksydacji tłuszczowców DAM wydaje się być pojedynczym lub najbardziej ważnym związkiem, który występuje w stosunkowo dużych ilościach. Tak też uważa wielu badaczy (10, 57, 86, 95, 99, 105, 133). Aldehydy ulegają bardzo łatwo aldolowej kondensacji, która może być katalizowana przez kwasy, zasady lub przez aminy (14, 52, 76). Sól enolowa DAM β -oksyakroleinian potasu przechodzi reakcję półkondensacji i polimeryzacji w pH 7–8 do postaci związków fluorozujących, posiadających otwarty pierścień z układem wiązań sprzężonych.

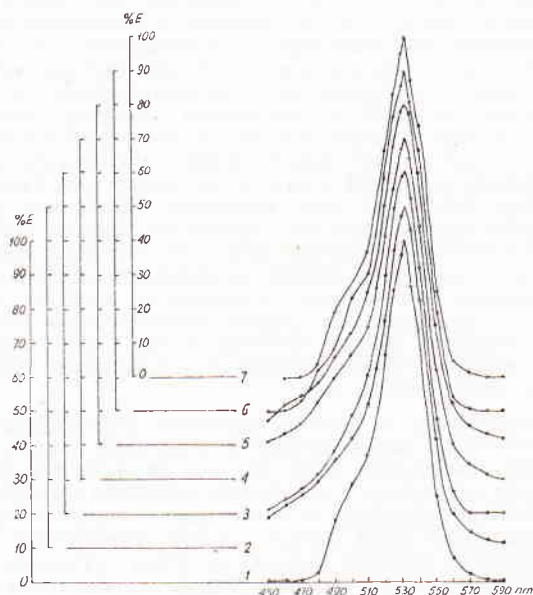


Ryc. 2. Kondensacja soli enolowej dwualdehydu malonowego

Aldolowa kondensacja może prawdopodobnie przebiegać także poprzez wytwarzanie monomerów, dimerów i trimerów z wytworzeniem długołańcuchowych układów polienowych, zawierających 6 do 10 lub więcej sprzężonych wiązań podwójnych (14, 52).

Szczególne i rozległe znaczenie w autooksydacji tłuszczowców przypisuje się fosfolipidom, które według wielu autorów ulegają 15-krotnie szybciej procesom utlenienia, dają reakcję na aldehydy i wydzielają DAM *in vitro* i w układach biologicznych (17, 39, 44, 49, 53, 63, 67, 78, 82–90, 98, 109, 114, 129–132). Związki bez udziału tlenu w cząsteczce nie dają reakcji charakterystycznej na obecność DAM.

Glicerol ogrzewany ze środkami odwadniającymi przechodzi w nienasycony aldehyd — akroleinę, która ma wyjątkowo duże zdolności do kondensacji. Zakwaszony roztwór 1% glicerolu pod wpływem dawki 10 MeV strumienia elektronów z akceleratora liniowego po 2 godz. dawał DAM (97). Różne próbki cholesterolu dają odmienne zawartości nadlenków, związków karbonylowych i karboksylowych. Napromienianie UV i podgrzewanie pobudza oksydację cholesterolu (29). Czy utleniony cholesterol w określonych warunkach uwalnia DAM i czy spektrum absorpcji roztworu barwnego jest identyczne jak dla kwasów tłuszczowych, glicerydów, fosfolipidów, cukrowców, skwalenu i innych związków malonalogenych? — zakres ten jest przedmiotem naszych badań — ryc. 3.



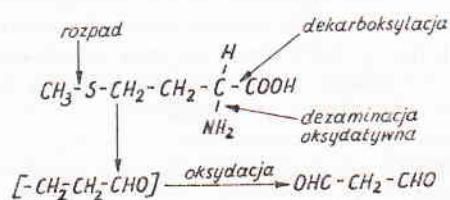
Ryc. 3. Spektra absorpcja roztworów barwnych utlenionych substratów po reakcji z kwasem 2-tiobarbiturowym: 1 — kwas linolenowy, 2 — skwalen, 3 — laktoza, 4 — lecytyna, 5 — masło, 6 — olej sojowy, 7 — olej rybny techniczny

Być może cholesterol w układach biologicznych ulega interakcjom (2, 4, 6, 11, 22, 48, 77, 108) z egzo- lub endogennym malonalem, np. z kwasu siałowego (43, 127) lub skwalenu (60), związanych z procesami syntezy cholesterolu w organizmie.

Plaisance (cyt. 130) zaobserwował, że niektóre cukry po hydrolizie kwasowej dają charakterystyczną reakcję, w wyniku której z cukrów uwalnia się DAM. Reakcję tę daje laktoza (125), sacharoza i arabinoza (cyt. 130). Po napromienianiu 1% wodnych roztworów glukozy promieniowaniem gamma otrzymano różne wartości DAM w zależności od dawki promieniowania i pH roztworu (96). Roztwory wodne galaktozy w pH 9,5 po napromienianiu Co^{60} zawierają znaczne ilości DAM (75). Cukrowce po hydrolizie alkalicznej dają charakterystyczną powtarzalną reakcję na obecność czystego DAM — ryc. 3.

Radiacja promieniowaniem jonizującym aminokwasów prowadzi do wytworzenia aldehydów krótkołańcuchowych, głównie związków zbliżonych strukturą do DAM (3). Z wielu aminokwa-

sów arginina, kwas glutaminowy, metionina i homocystyna dają najwyższe wydajności DAM. Mechanizm wytwarzania DAM w rozpadzie metioniny obejmuje następujące reakcje (3):



Ryc. 4. Mechanizm powstawania dwualdehydu malonowego z metioniny

Napromienianie homocystyny w wyniku rozpadu wiązania —S—S, dekarboksylacji i deaminacji oksydatywnej prowadzi do uzyskania porównywalnych ilości DAM i potwierdza przedstawiony mechanizm rozpadu metioniny. Znanym jest również mechanizm radiacyjnego rozpadu kwasu glutaminowego z wytworzeniem DAM (3, 12). W wyniku radiacyjnego rozpadu aminokwasów powstają różne tautomery DAM oraz inne krótkołańcuchowe związki karbonylowe.

Glutation przy wyższych natężeniach promieniowania i dostępie tlenu wytwarza DAM oraz inne związki. Jeszcze bardziej złożony obraz uzyskuje się po napromienianiu czystych białek, hemoglobiny oraz cytochromu C, które cechuje znaczna różnorodność karbonylogenna.

Wytwarzanie DAM i innych niskocząsteczkowych związków karbonylowych przebiega na różnych drogach z wielu związków i jest powszechne. Idealnymi warunkami, w których DAM może wytwarzać się, uwalniać i reagować z biologicznie ważnymi związkami nukleofilowymi są pasze, środki żywnościowe, przewody pokarmowe zwierząt i ludzi oraz układy komórkowe różnych tkanek żywych organizmów (4, 19, 41, 42, 55, 56, 62, 124).

Piśmiennictwo

- Abbatt E. H., Bobrik M. A.: Biochem. 12, 846, 1973.
- Adams C., Bayliss O.: Atherosclerosis 22, 629, 1975.
- Ambe K. S., Tappel A. L.: J. Food Sci. 26, 448, 1961.
- Anonim: Nutr. Revs. 34, 50, 1976.
- Armstrong B. K.: Brit. J. Nutr. 21, 309, 1967.
- Arthur C. R., Blair H. A. P., Boyd G. S., Hattersley N. G., Suckling K. E.: Biochem. Soc. Trans. 3, 963, 1975.
- Barness L. A., Young B. S., Mellman W. J., Kahn S. B., Williams W. J.: New. Engl. J. Med., 268, 144, 1963.
- Barness L. A., Young D. G., Nocho R.: Science, 140, 76, 1963.
- Bernheim F., Wilbur K. M., Kemastron G. B.: Arch. Biochem. Biophys. 38, 177, 1952.
- Braddock R. J., Petrus D. R.: J. Food Sci. 36, 1095, 1971.
- Brecher P., Kessler M., Chobanian A.: Atheroscler. 22, 485, 1975.
- Brooks B. R., Klammer O. L.: Eur. J. Biochem. 5, 178, 1968.
- Buchanan J. M.: Medicine, Baltimore, 43, 697, 1964.
- Butkus H. A.: J. Agric. Food Chem. 23, 823, 1975.
- Castell C. H., Boyce G. A.: J. Fish. Res. Bd. Canada 23, 1387, 1966.
- Chanarin I., Bennett M. C., Berry V.: J. Clin. Path. 15, 269, 1962.
- Ching-Hsien Huang: Nature 259, 242, 1976.
- Cox E. V., White A. V.: Lancet 2, 853, 1962.
- Crawford D. L., Yy T. C., Sinnhuber R. O.: J. Agr. Food Chem. 14, 182, 1966.
- Cromwell N. H.: Chem. Revs. 38, 83, 1946.
- Dahle L. K., Hill E. G., Holman R. T.: Arch. Biochem. Biophys. 98, 253, 1962.
- Dao T. L., Morreal C., Nemoto T.: N. Engl. J. Med. 289, 136, 1973.
- Davis C. L., Gorham J. R.: J. Vet. Res. 15, 55, 1954.

24. Desai I. D., Tappel A. L.: J. Lipid Res. 4, 204, 1963.
 25. Dillard C. J., Tappel A. L.: J. Agric. Food Chem. 24, 74, 1976.
 26. Dorr A. W., Plaisance G. P.: J. Am. Chem. Soc. 38, 2156, 1916.
 27. Dorr A. W., Plaisance G. P.: J. Am. Chem. Soc. 38, 2172, 1916.
 28. Ferris J. P., Orgel L. E.: J. Amer. Chem. Soc. 87, 4976, 1965.
 29. Fioriti J. A., Sims R. J.: Food Tech. 44, 221, 1967.
 30. Flavin M., Ochoa S.: J. Biol. Chem. 229, 965, 1957.
 31. Fuhami M. H., Holmsen H., Bauer J.: Biochim. Biophys. Acta 428, 252, 1976.
 32. Gawthorne J. M.: Aust. J. Biol. Sci. 21, 789, 1968.
 33. Govindarajan S., Hultin H. O.: J. Food Sci. 42, 571, 1977.
 34. Gudbjarnson S., Hallgrímsson J.: Acta Med. Scand. 587, 17, 1976.
 35. Gurani S., Mistry S. P., Johnson B. C.: Biochem. Biophys. Acta, 33, 187, 1960.
 36. Hamberg M., Svensson J., Samuëlsson B.: Proc. Natl. Acad. Sci. 72, 2994, 1975.
 37. Harman G. E., Mattick L. R.: Nature 260, 323, 1976.
 38. Hartroff W. S.: Science 113, 673, 1951.
 39. Hauser H.: FEBS Letters 60, 71, 1975.
 40. Herbert V., Zalusky R.: J. Clin. Invest. 41, 1263, 1962.
 41. Högborg J., Moldeus P., Arborgh B., O'Brien P. J., Orrenius S.: Eur. J. Biochem. 59, 457, 1975.
 42. Högborg J., Orrenius S., O'Brien P. J.: J. Biochem. 59, 449, 1975.
 43. Järnefelt J.: Biochim. Biophys. Acta, 428, 711, 1976.
 44. Kagan W. E., Szwiedowa A. A., Nowikow K. N., Kozłow J. P.: Biofiz. 20, 1043, 1975.
 45. Kajihara H., Totović V., Gedik P.: Virchows Arch. B. Cell Path. 19, 221, 1975.
 46. Kajihara H., Totović V., Gedik P.: Virchows Arch. B. Cell Path. 19, 239, 1975.
 47. Karel M.: J. Food Sci. 38, 756, 1973.
 48. Kleemann W., Mc Conwell H. M.: Biochim. Biophys. Acta 419, 206, 1976.
 49. Kiita S.: Post. Biochem. 17, 225, 1971.
 50. Knowless J. P., Pranker T. A.: J. Clin. Sci. 22, 233, 1962.
 51. Koepfen A. H., Mützen E. J., Ammoumi A. A.: Biochem. 13, 3589, 1974.
 52. Kohn H. J., Liveredge M.: J. Pharmacol. 32, 292, 1944.
 53. Korzeniowski W.: Zesz. Nauk WSR Olsztyn, Seria E. Sup. 4, 1971.
 54. Kretowicz W. L.: Wstep do enzymologii. PWRiL, 1971.
 55. Kriczewskaja A. A., Lukaszcz A. I., Kesielman N. A.: Ukrainiskij Biochim. Z. 48, 190, 1976.
 56. Kuusi T., Nikkila O. E., Savolainen K.: Z. Lebensm. Unters.-Forsch. 159, 285, 1975.
 57. Kwon T. W., Watts B. M.: J. Food Sci. 28, 627, 1963.
 58. Kwon T. W., Watts B. M.: J. Food Sci. 29, 294, 1964.
 59. Kwon T. W., Olcott H. S.: Nature 210, 214, 1966.
 60. Kwon T. W., Olcott H. S.: J. Food Sci. 31, 552, 1966.
 61. Lazarus C. R., Deng J. C., Watson C. M.: J. Food Sci. 42, 102, 1977.
 62. Lindelov F.: Bull. Inter. Inst. Refrig. 1, 181, 1976.
 63. Lovern J. A.: Biochem. J. 54, 126, 1953.
 64. Lubby A. L., Cooperman J. M., Teller D. N.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 101, 350, 1959.
 65. Lynen F.: Der Weg von der „Aktivierten Essigsäure zu den Terpenen und den Fettsäuren. Les Prix Nobel en 1964. Stockholm, 1965.
 66. Maguire Y. P., Haard N. F.: Nature, 258, 599, 1975.
 67. Malec J.: Post. Biochem. 17, 195, 1971.
 68. Mashio F., Kimura J.: Yuki Gosei Kagaku 19, 647, 1961.
 69. Mashio F., Kimura J.: Nippon Kagaku Zasshi 81, 434, 1960.
 70. Mason K. E., Hartsough G. R.: J. Am. Vet. Med. 114, 72, 1951.
 71. Mattilä H. A.: Nutri. Revs. 10, 225, 1952.
 72. Meister A.: Biochemistry of Amino Acids. Acad. Press, N. York, 1965.
 73. Mericather W. D., Mengel C. E.: Nature, 210, 91, 1966.
 74. Minakowski W.: Biochemia kregowców w zarysie. PWN, 1973.
 75. Morre M. J., Morazzani-Pelletier S., Duclaux M. J.: C. R. Acad. Sci., Paryż, 262, 1729, 1966.
 76. Nielsen A. T., Houlihan W. J.: Org. React. 16, 1, 1968.
 77. Norcia L. N., Janusz W. P.: J. Am. Oil. Chem. Soc. 42, 547, 1965.
 78. Nowikow K. N., Kagan W. E., Szwiedowa A. A., Kozłow J. P.: Biofiz. 20, 1039, 1975.
 79. O'Brien P. J., Frazer A. C.: Proc. Nutr. Soc. 25, 9, 1966.
 80. O'Brien P. J., Rahimula A.: J. Agr. Food Chem. 23, 154, 1975.
 81. Ogsten A. G.: Nature, 162, 693, 1948.
 82. Olcott H. J., Mattilä H. A.: Oil a. Soap. 13, 98, 1936.
 83. Olley J., Farmer J., Stephen E.: J. Food Tech. 4, 27, 1969.
 84. Palekar A. G., Tate S. S., Meitter A.: J. Biol. Chem. 248, 1158, 1973.
 85. Patric H., Morgan C. L.: Poult. Sci. 23, 525, 1944.
 86. Patton S., Kurtz G. W.: J. Dairy Sci. 34, 669, 1951.
 87. Pokorny J., Rzepa J., Janicek G.: Die Nahrung 20, 1, 1976.
 88. Pokorny J., Phan-Trong Tai, Janicek G.: Die Nahrung 20, 149, 1976.
 89. Powis G., Drummond A. H., Maciutyre D. E., Jondorf W. R.: Xenobiotica 6, 69, 1976.
 90. Pries C., Amount A., Böttcher A.: Biochim. Biophys. Acta 125, 277, 1966.
 91. Qadri R. B., Buckle K. A., Edwards R. A.: Bul. Intern. Inst. Refrig. 1, 205, 1976.
 92. Rabinowitz J. C., Tabor N., Smith R. M.: J. Biol. Chem. 233, 252, 1961.
 93. Sanchez R. A., Ferris J. P., Orgel L. E.: J. Mol. Biol. 30, 223, 1967.
 94. Sanders J., May J. R. K.: Chem. a. Ind. 1355, 1963.
 95. Sastaw L. D., Waravdekar V. S.: Rad. Res. 24, 375, 1965.
 96. Scherz H., Stehlik G.: Monatschef. f. Chem., 99, 1143, 1968.
 97. Scherz H.: Experientia 24, 420, 1968.
 98. Scherz T., Halangk W., Hiebsch Ch., Rapoport S. M.: FEBS Letters, 60, 149, 1975.
 99. Schmidt H.: Fette Seifen. Anstrichmitt. 61, 127, 1959.
 100. Shaw D. H., Botta J. R.: J. Fish. Res. Bd. Canada 34, 209, 1977.
 101. Shepherd R. G.: Anal. Chem. 20, 1150, 1948.
 102. Shimura K., Nagayama H., Kikuchi A.: Nature 177, 935, 1956.
 103. Shires T. K.: Arch. Biochim. Biophys. 171, 695, 1975.
 104. Silverman M., Pitney A. J.: J. Biol. Chem. 233, 1179, 1958.
 105. Sinnhuber R. O., Yu T. C.: Food Tech. 12, 9, 1958.
 106. Spivey Fox M., Ludwig W.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 108, 703, 1961.
 107. Stokstad E. L. R., Webb R. E., Shah E.: J. Nutr. 88, 225, 1966.
 108. Stroupe D. S., Westphal U.: J. Biol. Chem. 250, 8735, 1975.
 109. Tali A. R., Small D. M., Shipley G. G., Lees R. S.: Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 72, 4940, 1975.
 110. Tappel A. L.: Food Res. 18, 104, 1953.
 111. Tappel A. L.: Arch. Biochim. Biophys. 54, 266, 1955.
 112. Tappel A. L., Knapp F. W., Urs K.: Food Res. 22, 287, 1957.
 113. Tappel A. L., Brown W. D., Zalkin H., Maier U. P.: J. Amer. Oil Chem. Soc. 38, 5, 1961.
 114. Tarladgis B. G., Watts B. M., Younathan M. T., Ducan L. Jr.: J. Amer. Oil Chem. Soc. 37, 44, 1960.
 115. Thanassi J. W., Fruton J. S.: Biochem. 1, 975, 1963.
 116. Thanassi J. W.: Biochem. 9, 525, 1970.
 117. Thanassi J. W.: J. Org. Chem. 36, 3019, 1971.
 118. Thanassi J. W.: Biochem. 11, 2909, 1972.
 119. Thanassi J. W.: Biochem. 12, 51, 1973.
 120. Thanassi J. W.: J. Mol. Evol. 7, 65, 1975.
 121. Thompson E. B., Perlin E., Torney D.: Amer. J. Clin. Path. 65, 360, 1976.
 122. Tiepły D. L., Sawin W. F.: Cytologia 18, 296, 1976.
 123. Tomotaro Tsuchiya: Biochemistry of fish oils. Fish as Food. Wyd. Borgström, vol. I, 1964.
 124. Torsten Tuvermo, Kjell Stranberg: Upsala J. Med. Sci. 80, 131, 1975.
 125. Turner E. W., Paynter W. P., Montie E. J., Bessert M. W., Struck G. M., Olson F. C.: Food Tech. 8, 326, 1954.
 126. Vadrja Murthy V., Jones E., Cole T. W., Johnson J. Jr.: Biochim. Biophys. Acta 483, 487, 1977.
 127. Waravdekar V., Sastaw L. D.: J. Biol. Chem. 234, 1945, 1959.
 128. White A. M.: Biochem. J. 84, 41 P, 1962.
 129. Wilson B. R., Pearson A. M., Shortland F. B.: J. Agr. Food Chem. 24, 7, 1976.
 130. Wilbur K. M., Bernheim F., Shapiro O. W.: Arch. Biochem. 24, 305, 1949.
 131. Witas T.: Zesz. Nauk. WSM, Szczecin 4, 58, 1973.
 132. Younathan T. M., Watts B. M.: Food Res. 25, 538, 1960.
 133. Yu T. C., Sinnhuber R. O.: Food Tech. 11, 104, 1957.
 134. Yu T. C., Sinnhuber R. O.: J. Food Sci. 26, 192, 1961.

Adres autora: doc. dr inż. Tadeusz Witas, ul. Podhalańska 3 m. 5, 70-452 Szczecin.

GOUDSWAARD J., BAKKER DE KOFF E. C., VAN RAVENSWAAIJKRAAN H. P. M.: Lizozym i jego występowanie w mleku i surowicy krów. (Lysozyme its presence in bovine milk and serum). Tijdschr. Diergeneesk. 103, 445—450, 1978 (8).

Poziom lizozymu w surowicy krwi i w mleku krów określono wg metody Osserana i Lawlorsa. Badaniem poddano również mleko i surowicę krów z klinicznymi objawami zapalenia gruczołu mlekowego. W surowicy lizozym występował w śladowych ilościach. Jedynie w 2 na 11 badanych surowic poziom lizozymu wyniósł 1,2 µg/ml. W siarze poziom lizozymu wahał się od śladow do 3,6 µg/ml. Spośród 33 próbek mleka pochodzących od krów z zapaleniem wymienia w 3 próbkach nie stwierdzono lizozymu, w 25 poziom lizozymu wahał się od wartości śladowych do 3,6 µg/ml, w czterech od 3,6 do 10 µg/ml, zaś w jednej przewyższał 10 µg/ml.

TRUEMAN K. F., BLIGHT G. W.: Wpływ wieku na odporność krów na zakażenie Babesia bovis. (The effect of age on resistance of cattle to Babesia bovis). Aust. vet. J. 54, 301—305, 1978 (6).

Cielęta, jałowki i krowy w różnym wieku zakażono dożylnie 2×10^8 Babesia bovis, szczep C. Część zakażonych zwierząt poddano leczeniu (grupa I), część nie leczono. W grupie leczonej padła jedna krowa w następstwie peknięcia powiększonej śledziony, zaś dwie jałowki i jedna krowa padły wśród typowych klinicznych objawów babeszjozy. W grupie drugiej padło 5 z 12 krów. U cieląt i jałówek nieleczonych zakażenie B. bovis przebiegało łagodnie. Challenge wykonywany po 6 i 8 miesiącach po zakażeniu wykazał istnienie solidnej odporności u uprzednio zakażonych sztuk.

G.