

Vliv stravy na antioxidační aktivitu lidské moče

Souhrn

Práce se zabývá využitím průtokové injekční analýzy (FIA) ve spojení s multikanálovým elektrochemickým detektorem (ECD) k hodnocení antioxidační aktivity sbíraných dvaceti čtyř hodinové močí dvaceti dvou leté dobrovolnice (BMI 22,5) v průběhu 40 dní. Antioxidační aktivita byla sledována v souvislosti s objemem močí, menstruačním cyklem, s celodenní stravou, a také jednodenním hladověním, kdy dobrovolnice pila jen vodu. Ve zvolených třech dnech byla sledována antioxidační aktivita močí po každém odběru během dne a byla porovnána s průměrnou 24- hodinovou močí. FIA-ECD se ukázala jako rychlý a spolehlivý nástroj pro sledování antioxidační aktivity lidské moče.

Úvod

Od roku 2018 se na našem pracovišti RADANAL s.r.o. zabýváme průtokovou injekční analýzou ve spojení s multikanálovou elektrochemickou detekcí (FIA-ECD) s využitím detektoru CoulArray pro výzkum elektro aktivních látek s antioxidačními vlastnostmi. K této originální metodě jsme dospěli po více než 20 letech zkušeností s elektrochemickou detekcí ve spojení s vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC). Z hlediska produktivity práce se FIA-ECD ukazuje jako jediné možné řešení pro hodnocení antioxidačních látek ve stovkách vzorků extraktů z ovoce, listů, kůry stromů a bylin. Zajímavým zjištěním byla i možnost využití FIA-ECD pro sledování antioxidační aktivity močí v souvislosti s výživou a lidským zdravím.

Experimentální část

Metoda FIA (flow injection analysis) je založená na nástřiku kapalného vzorku do nosného proudu mobilní fáze. Ve spojení s elektrochemickým detektorem (CoulArray) je měřena změna elektrického proudu v čase na 4 kanálové elektrochemické cele se sériově zapojenými pracovními elektrodami z porézního grafitu s vloženým potenciálem 200, 400, 600 a 800 mV oproti referentním hydrogen-paládiovým elektrodám. Díky velkému povrchu poréznímu grafitu pracovních elektrod dochází k přenosu náboje s coulometrické účinností. Náboj je tedy úměrný množství antioxidačních látek. Velikost měřeného náboje na pracovních elektrodách byla využita pro hodnocení antioxidačních látek v moči.

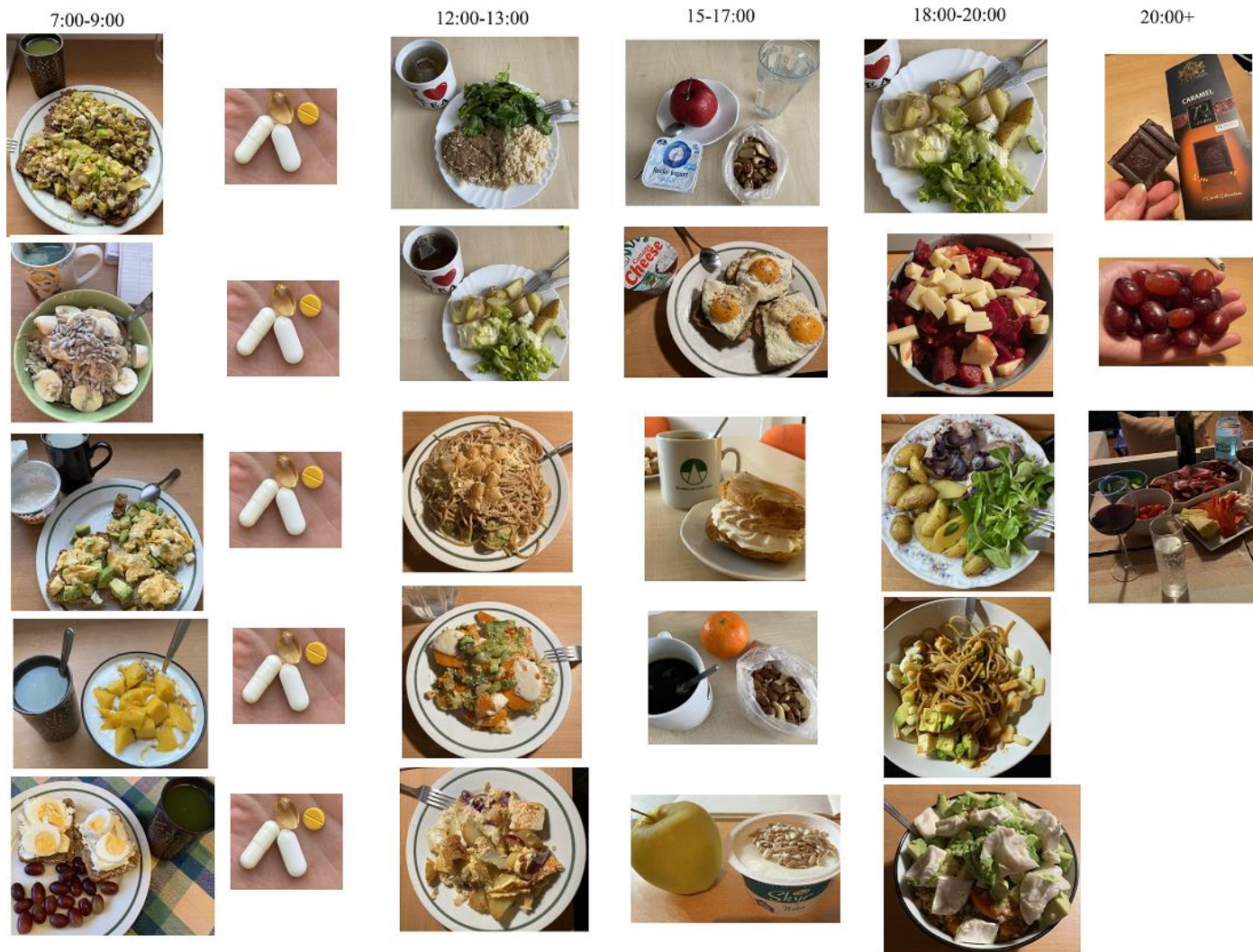
Dobrovolnice v období od 1. 1. 2021 do 9. 2. 2021 sbírala své celodenní moče do skleněné nádoby a následně slévala do 5 litrového plastového kanystru, který byl v průběhu dne

uchováván při venkovní teplotě, která se v lednu 2021 pohybovala okolo 0°C (Obr. 1). Z kanystru byl odebrán 50 ml vzorek moči reprezentující určitý den a před analýzou byl uchováván při -18°C. Každý 24- hodinový sběr byl vždy ukončen první ranní močí následujícího dne. Po celé sledované období si dobrovolnice vedla záznamy o stravování, pitném režimu, fyzických aktivitách, spánku a menstruačním cyklu.

Její jídelníček se obvykle skládal ze tří hlavních jídel a jedné odpolední svačiny, která většinou obsahovala mléčný výrobek s ořechy a jedním kusem ovoce (Obr. 2). Ráno snídala ovesnou kaši nebo 3 vejce a vypila hrnek japonského čaje Matcha. Po snídani brala GS vitamín C (1000mg se šípky), GreenFood vitamín D3 (25µg), MedPharma vitamín B2 (10mg) a Lýsi rybí olej omega 3 (620mg, EPA 310mg, DHA 205mg). K obědům a k večějším jedla maso, luštěniny, sýr se zeleninou, bramborem, rýží nebo těstovinami. Občas měla i čtvrté jídlo po 20 hodině se dvěma skleničkami vína. V průběhu dne pravidelně pila kohoutkovou vodu (2-3 l), bylinné čaje a jednu kávu denně.



Obrázek 1: *Plastový kanystr s močí nasbíranou za 24 hodin a jeho uchování během dne při lednové venkovní teplotě.*

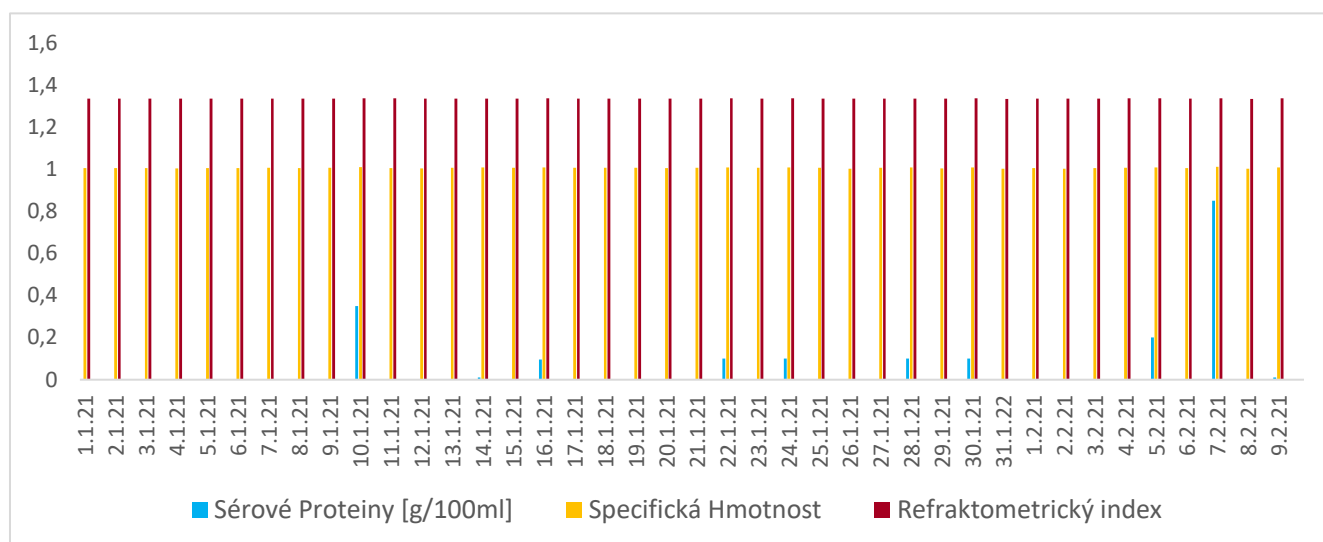


Obrázek 2: Ukázky typických jídel konzumovaných dobrovolnicí v průběhu experimentu

Výsledky a diskuse.

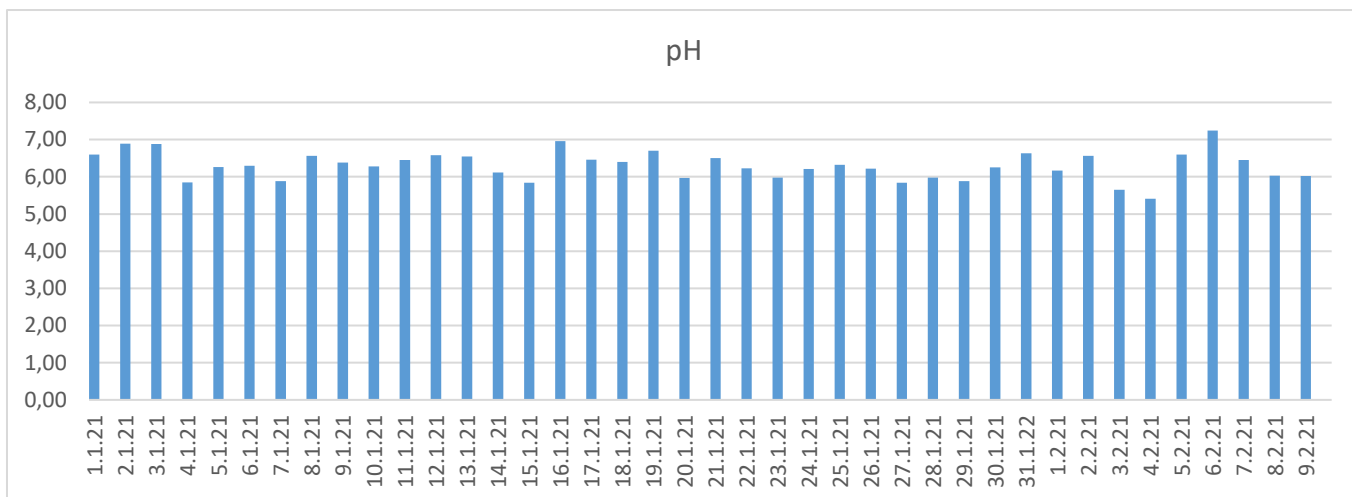
Na (Obr. 3) jsou uvedeny výsledky refraktometrických měření (proteiny, specifická hmotnost a refraktometrický index) vzorků 24 hodinové moči. Specifická hmotnost se pohybovala v rozmezí hodnot $1,0001 \text{ g/cm}^3$ (8. 2. 2021) a $1,0110 \text{ g/cm}^3$ (7. 2. 2021). Refraktometrický index se pohyboval mezi hodnotami 1,3331 (8. 2. 2021) a 1,3369 (7. 2. 2021). Dne 3. 2. 21, kdy dobrovolnice hladověla a pila jen vodu, byla specifická hmotnost moče $1,004 \text{ g/cm}^3$ a refraktometrický index byl 1,3342.

U zdravého člověka by se v moči bílkoviny vyskytovat neměly. V moči dobrovolnice se bílkoviny objevily výjimečně s výraznými hodnotami zejména ve dnech 10. 1 a 7. 2. 2021. Oba tyto dny snědla oproti ostatním dnům větší množství potravin obsahující bílkoviny (10. 1. - 4 vejce, 150 g hovězí roštěnka, 200 g sýrů; 7. 2. - 4 vejce, 2 kachní prsa, 200 g sýrů).



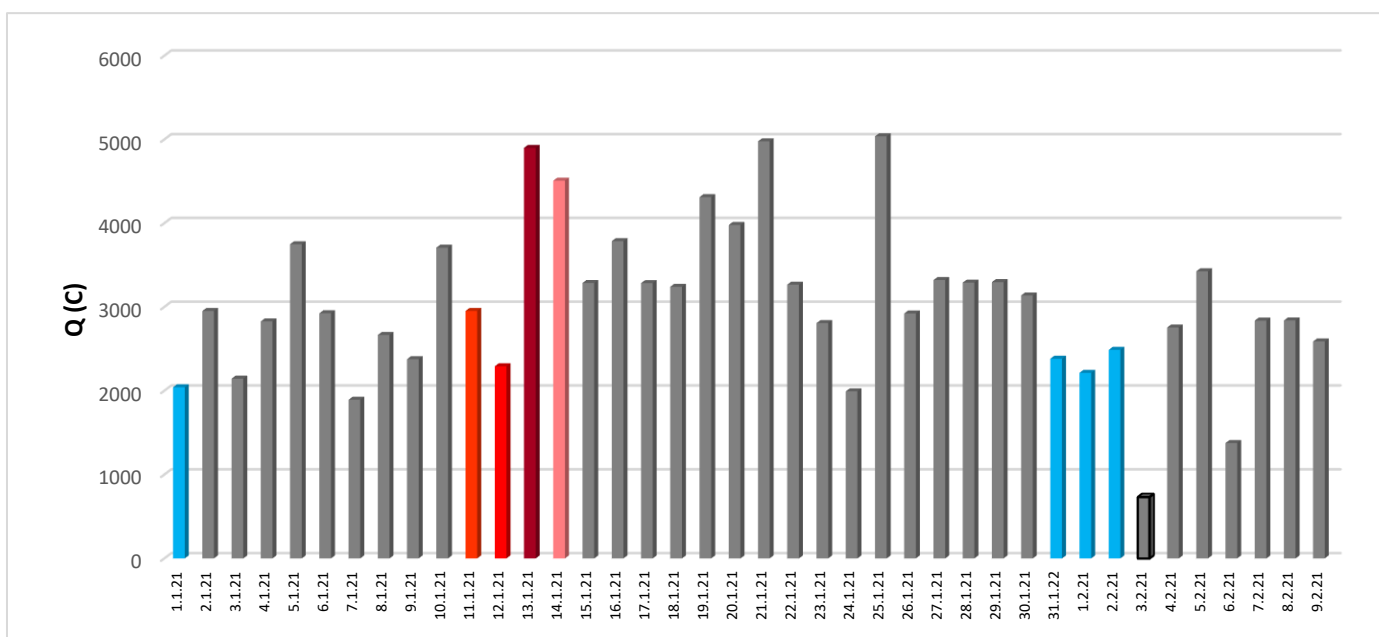
Obrázek 3. Grafické znázornění refraktometrického měření hodnot proteinů, specifické hmotnosti a refraktometrického indexu sbíraných 24 hodinových močí v období 40 dnů.

Na (Obr. 4) je vidět, že hodnoty pH v průběhu 40 dnů se pohybovaly v rozmezí 5,41 (4. 2. 2021) a 7,24 (6. 2. 2021). Pro doplnění můžeme uvést, že průměrná hodnota pH byla 6,22. Nejnižší hodnota 5,41 by mohla souviset s celodenním půstem dne 3. 2. 21 (pouze 3l vody). Dále byla zkoumána souvislost mezi objemem moči za 24 hodin a její antioxidační aktivitou, změnami antioxidační aktivity během 24 hodin a celkové ztráty náboje antioxidačních látek v souvislosti s močením.



Obrázek 4. Grafické znázornění úrovně pH 24 hodinových moči sbírané v období 40 dnů

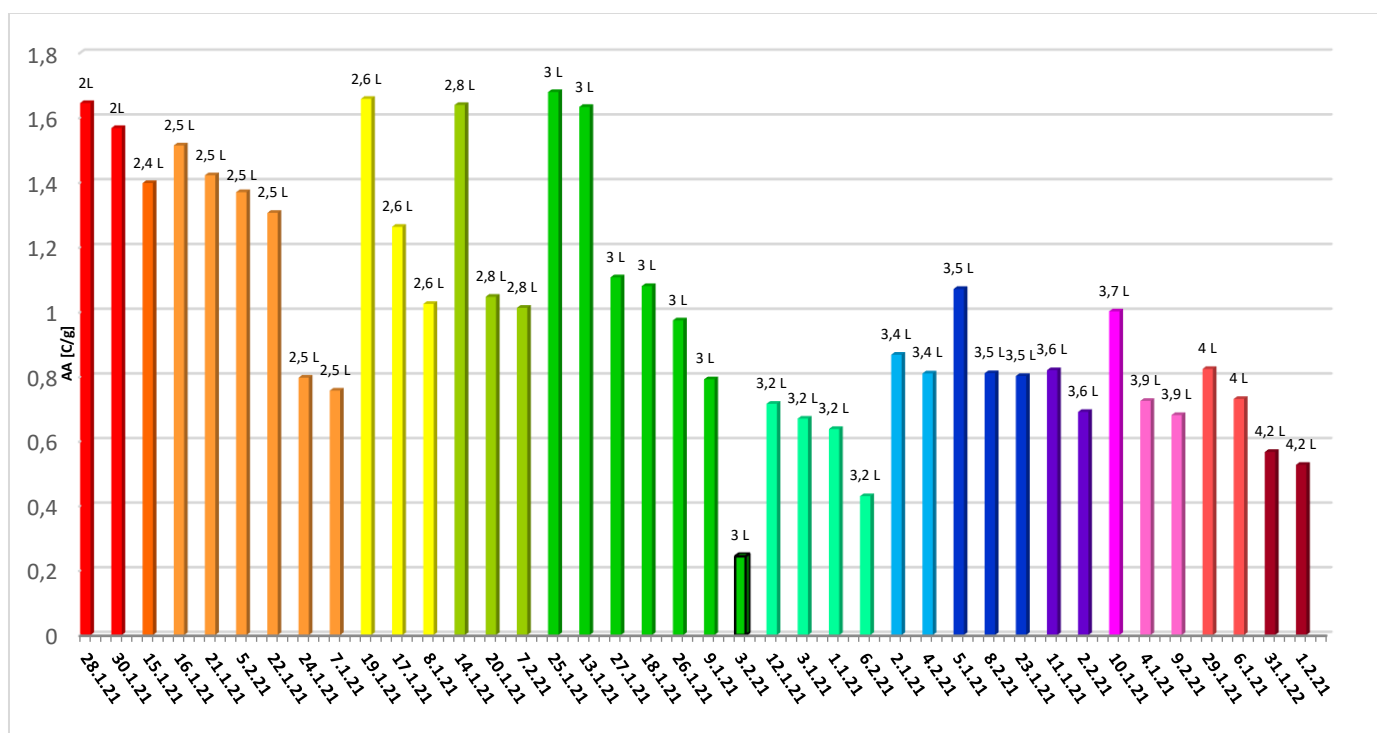
Na (Obr. 5) můžeme pozorovat velikost ztráty náboje antioxidačních látek vylučovanou močí v jednotlivých dnech. Zajímavé je, že v době půstu 3. 2. 21. byla ztráta antioxidačních látek v moči nejmenší a to 732 C, přičemž v den s nejsilnější menstruací (13. 1. 21) byla ztráta náboje 4899 C (třetí nejvyšší). Nejvyšší hodnota náboje vyloučené močí z těla za 24 h byla 5037 C (25. 1. 2021).



Obrázek 5. Závislost náboje Q (C) celkového objemu sbírané 24 hodinové moče na dnech v období od 1. 1. do 9. 2. 21. s červeně vyznačenými dny menstruace, modře ovulace a dne bez jídla 3. 2. 2021

Na (Obr. 6) je vidět závislost antioxidační aktivity na objemu moči sesbírané za 24 hodin v období 40 dnů. Sloupce jsou seřazeny podle objemu od nejmenšího ředění (2 l) 1,645 C/g po největší (4,2 l) 0,527 C/g a antioxidační aktivita je v každém zředění seřazena od nejvyšší po nejnižší. Je vidět, že antioxidační aktivita roste s klesajícím objemem moče. To by mohlo znamenat, že čím více pijeme, tím větší máme objem moči a tím v důsledku zředění její antioxidační aktivita klesá.

Antioxidační aktivita je také výrazně ovlivněna příjmem potravy. Černě orámovaný sloupec s nejnižší antioxidační aktivitou 0,244 C/g značí den 3. 2. 2021, kdy dobrovolnice vypila během celodenního půstu jen 3 l vody a také vymočila 3 l moče+.

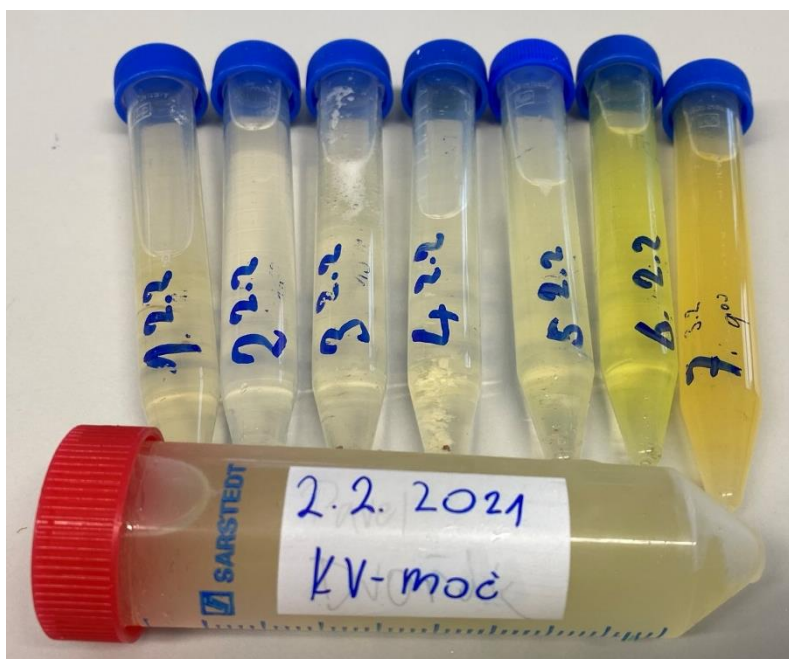


Obrázek 6. Závislost antioxidační aktivity moči na objemu za 24 hodin.

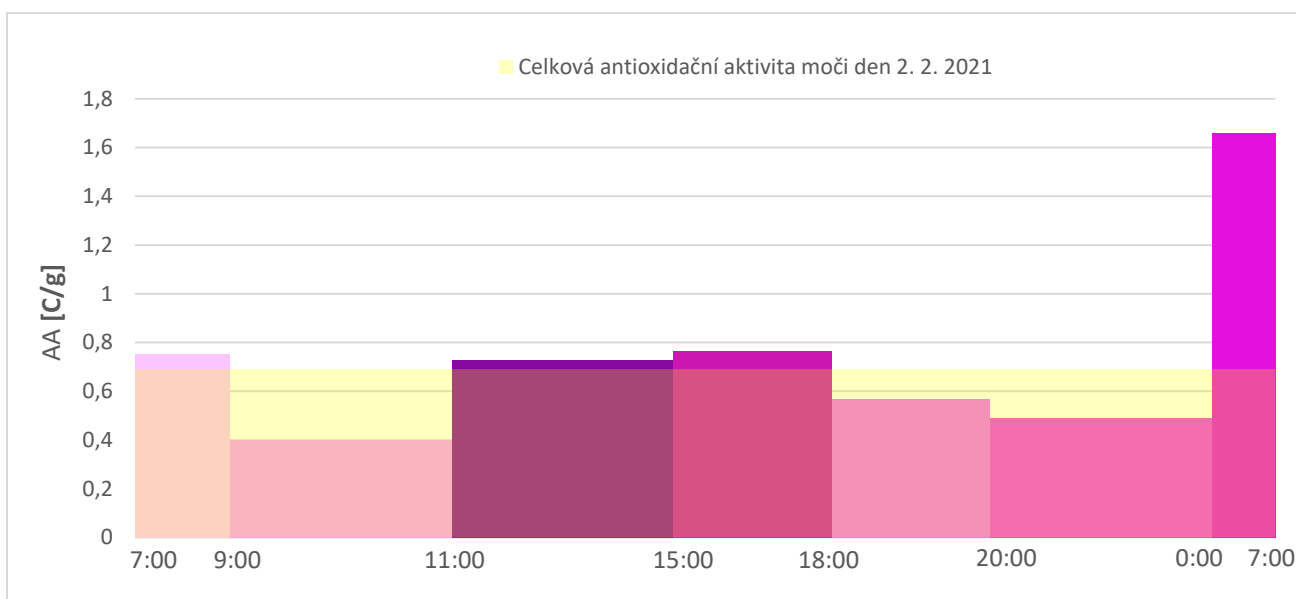
Na (Obr. 7, 10 a 13) jsou vyfoceny vzorky močí jednotlivých frakcí odebíraných v průběhu jednoho dne a vzorkem směsné 24 hodinové moče ze sedmi frakcí (Obr. 7) dne 2. 2. 21, z šesti frakcí (Obr. 10) dne 8. 2. 21 a ze sedmi frakcí (Obr. 13) dne 9. 2. 21.

Na (Obr. 8, 11 a 14) je grafické znázornění, změny sledovaných parametrů močí. Výška každého sloupce značí antioxidační aktivitu a šířka značí objem. Plocha každého sloupce tedy značí množství náboje vyloučeného při každém močení. Celý graf je proložen žlutým obdélníkem, jehož plocha odpovídá celkovému náboji vyloučeného močí toho dne.

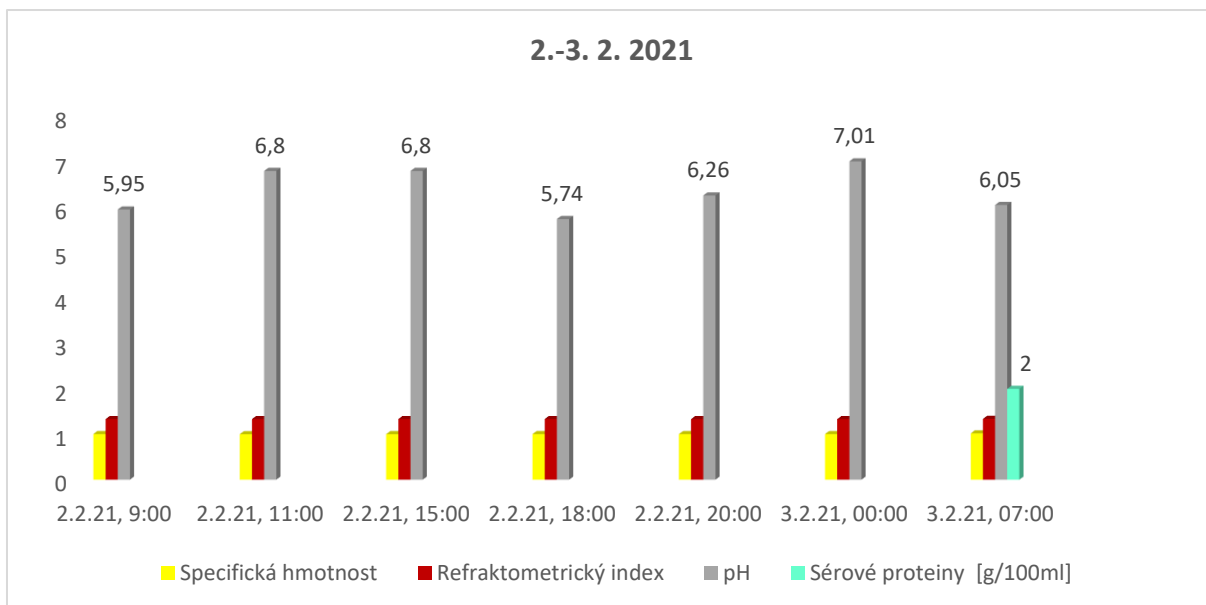
Lze vidět (Obr. 7, 10 a 13), že barva močí nemusí souviset s antioxidační aktivitou. Dne 2. 2. 2021 (Obr. 7) dobrovolnice v 19:00 brala tabletu vitamínu B2, což se již za hodinu projevilo obarvením moče až do fosforově žluté. Totéž bylo pozorováno i v dalších dnech pokusu. Na antioxidační aktivitě se ale výrazné zbarvení neprojevilo. Ve všech sledovaných dnech byla nalezena nejvyšší antioxidační aktivita močí ráno po probuzení.



Obrázek 7 : Vzorky sedmi frakcí moči v průběhu dne 2. 2. 2021 a denní směsný vzorek



Obrázek 8. Znáznornění antioxidační aktivity jednotlivých frakcí moči během dne 2. 2. 2021 a proložení antioxidační aktivitou denního směsného vzorku (žlutě).



Obrázek 9. Hodnoty refraktometrického měření a pH sedmi frakcí moči v průběhu 24 hodin od 7.00 2. 2. 21 až po 7.00 3. 2. 21

Na (Obr. 9) můžeme pozorovat změny pH, refraktometrického indexu, specifické hmotnosti moči a přítomnost sérových proteinů v průběhu 24 hodin od 7.00 2. 2. 21 až po 7.00 3. 2. 21. Hodnota pH se pohybuje od 5.74 do 7.1 a tyto hodnoty nepřekónávají hodnoty pH sbíraných 24 hodinových moči (Obr. 4). Sérové proteiny byly pozorovány pouze v ranní moči. V 24 hodinové sbírané moči sérové proteiny nebyly pozorovány (Obr. 3).

Jídelníček ze dne 2. 2. 2021

7:30 Ovesné vločky, syrovátkový protein, chia semínka, slunečnicová semínka, skořice, 1ks mandarinka, ½ polévkové lžíce arašídové máslo

- 0,25 l Matcha zelený čaj
- 0,3 l Čaj Šalvěj

12:00 Zapečené brambory, tofu, gouda sýr, česnek, cibule, řepková olej

- 0,3 l Čaj Rakytník

16:00 Červené jablko, mléčný kefir

- 0,3 l Kafe

19:00 2ks Vejce, mozzarella, quinoa, čerstvý špenát, olivový olej, okurek

- o Vitamín D (25µg), B2 (10mg), Vitamín C (1000mg)

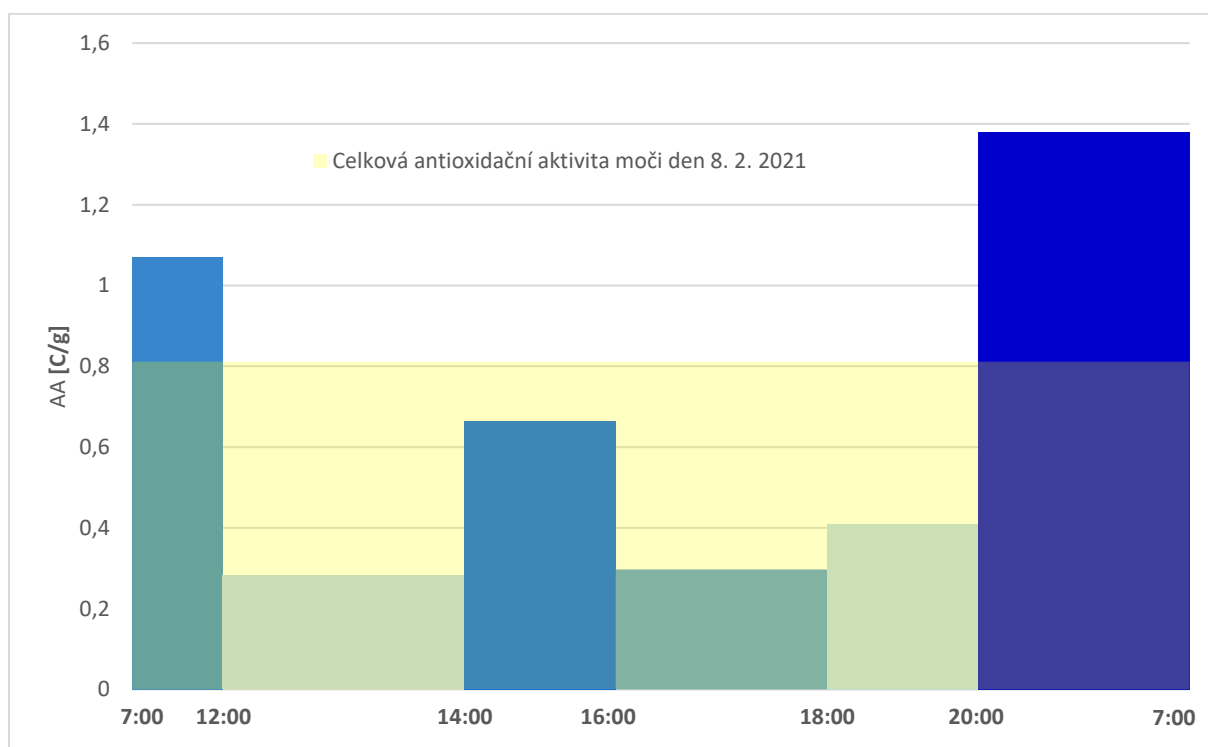
- 0,5 l Ajurvédský čaj triphala

21:00 Kozí sýr, směs ořechů

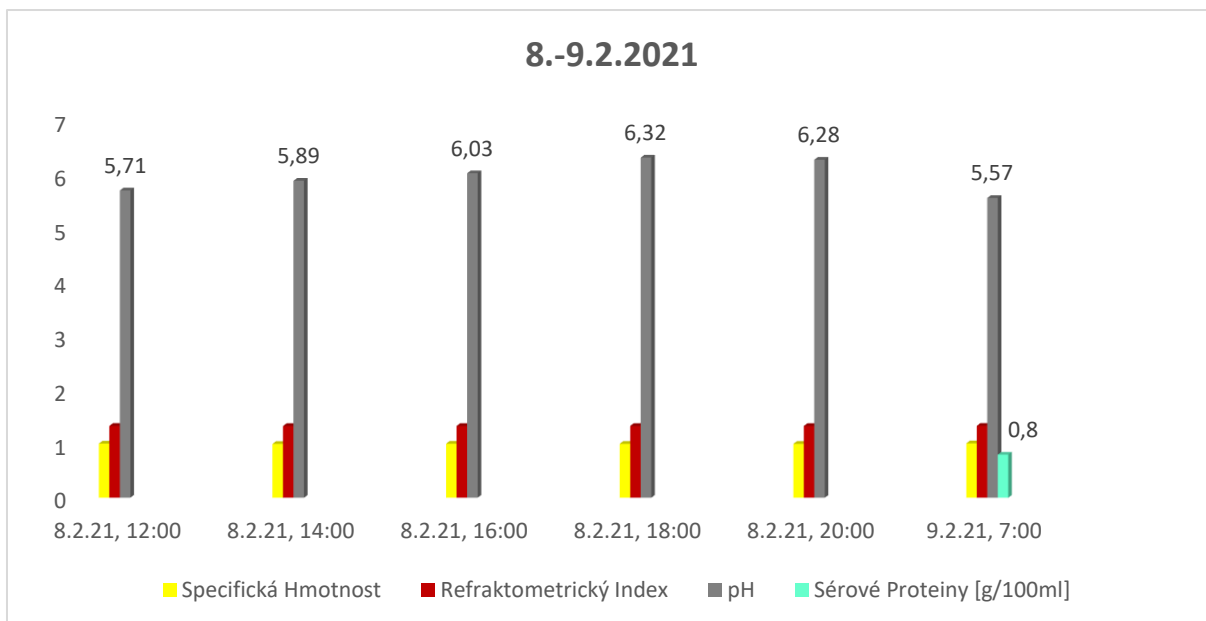
- o AMIX: Ca (666,6 mg), Mg (266,6 mg), Zn (16,6 mg)



Obrázek 10 : Vzorky šesti frakcí moči v průběhu dne 8. 2. 2021 a denní směsný vzorek



Obrázek 11. Znázornění antioxidační aktivity jednotlivých frakcí moči během dne 8. 2. 2021 a proložení antioxidační aktivitou denního směsného vzorku (žlutě).



Obrázek 12. Hodnoty refraktometrického měření a pH šesti frakcí moči v průběhu 24 hodin od 7.00 8. 2. 21 až po 7.00 9. 2. 21

Na (Obr. 12) můžeme pozorovat změny pH, refraktometrického indexu, specifické hmotnosti moči a přítomnost sérových proteinů v močích v průběhu 24 hodin od 7.00 8. 2. 21 až po 7.00 9. 2. 21. Hodnota pH se pohybuje od 5.57 do 6.32 a tyto hodnoty nepřekonávají hodnoty pH sbíraných 24 hodinových močí (Obr. 4). Sérové proteiny byly pozorovány pouze v ranní moči. V 24 hodinové sbírané moči sérové proteiny nebyly pozorovány (Obr. 3).

Jídelníček ze dne 8. 2. 2021

7:30 Ovesné vločky, syrovátkový protein, chia semínka, slunečnicová semínka, skořice, 1ks banán, ½ polévkové lžice arašídové máslo

- Vitamín D (25µg), B2 (10mg), Vitamín C (1000mg)

- 0,3 l Matcha čaj

- 0,5 l Ovocný čaj

12:00 Vepřové maso, bílá rýže, čerstvý špenát

- 0,5 l Ovocný čaj

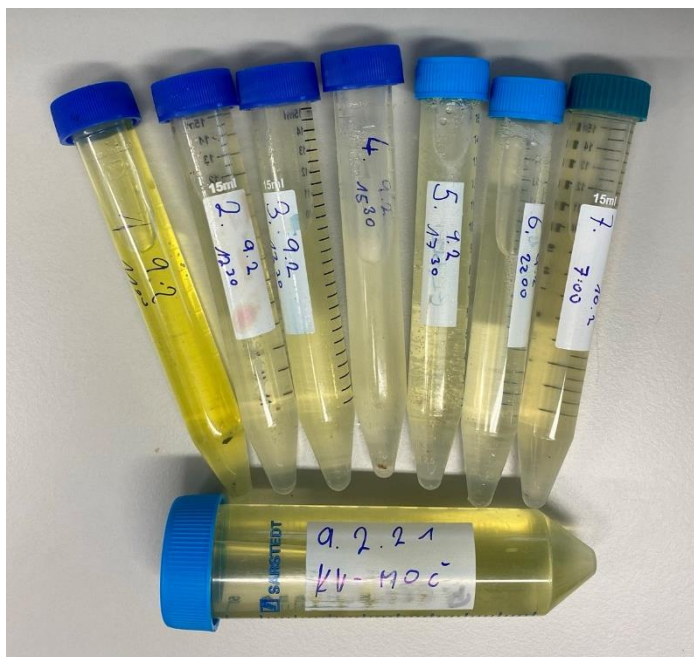
15:00 Řecký jogurt, červené jablko, mix ořechů

19:00 Celozrnný žitný chléb, olivový olej, 3ks vejce, pepř, sušený česnek, cottage sýr

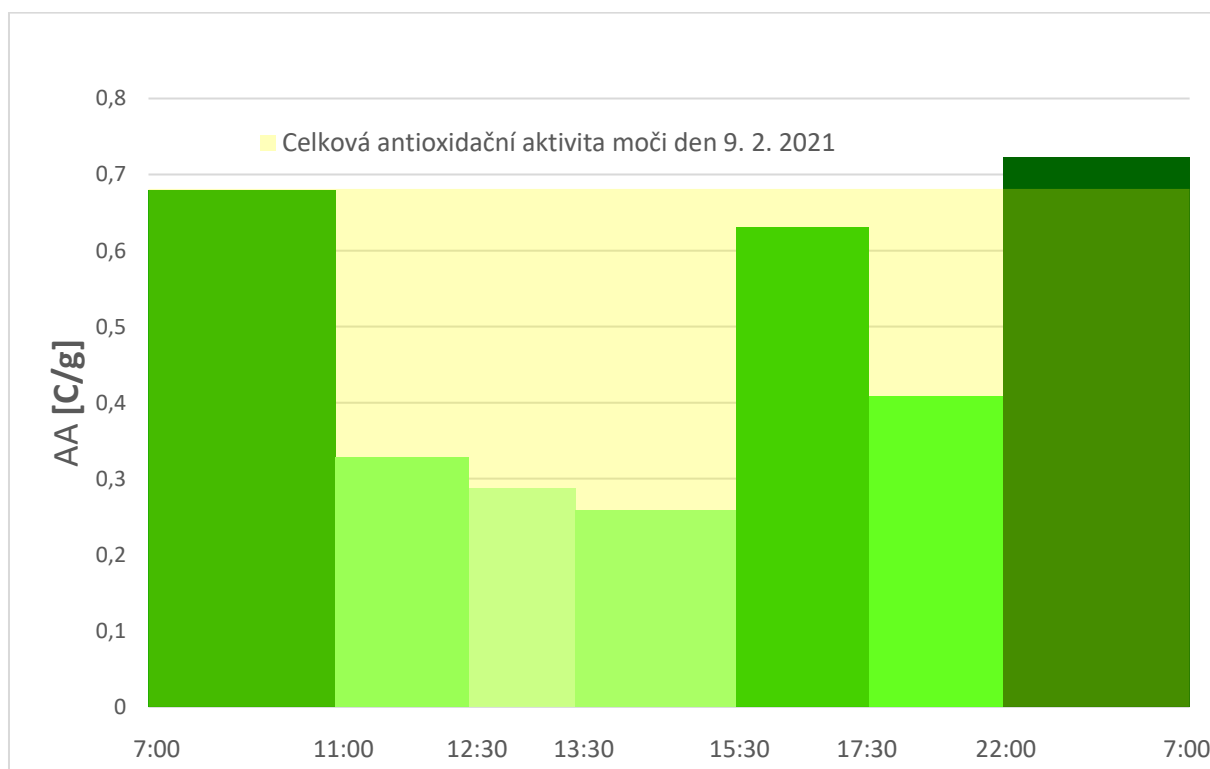
1 čtverec hořká čokoláda s karamellem

- 0,3 l ajurvédský triphala čaj

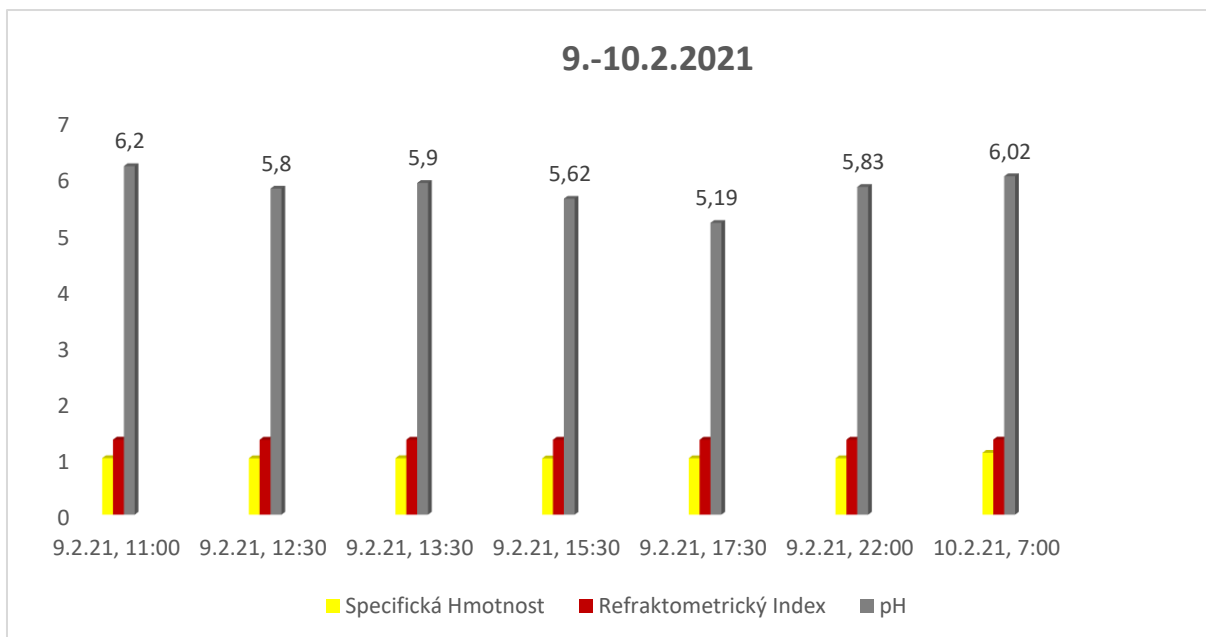
- AMIX: Ca (666,6 mg), Mg (266,6 mg), Zn (16,6 mg)



Obrázek 13 : Vzorky sedmi frakcí moči v průběhu dne 9. 2. 2021 a denní směsný vzorek



Obrázek 14. Znázornění antioxidační aktivity jednotlivých frakcí moči během dne 9. 2. 2021 a proložení antioxidační aktivitou denního směsného vzorku (žlutě).



Obrázek 15. Hodnoty refraktometrického měření a pH sedmi frakcí močí v průběhu 24 hodin od 7.00 9. 2. 21 až po 7.00 10. 2. 21

Na (Obr. 15) můžeme pozorovat změny pH, refraktometrického indexu, specifické hmotnosti močí a přítomnost sérových proteinů v močích v průběhu 24 hodin od 7.00 9. 2. 21 až po 7.00 10. 2. 21. Hodnota pH se pohybuje od 5.19 do 6.2 a tyto hodnoty nepřekonávají hodnoty pH sbíraných 24 hodinových močí (Obr. 4). Sérové proteiny byly pozorovány pouze v ranní moči. V 24 hodinové sbírané moči sérové proteiny nebyly pozorovány (Obr. 3).

Jídelníček ze dne 9. 2. 2021

- 7:30 3 ks vejce, 1/2 avokádo, 2 ks žitný celozrnný chléb, Cottage
 ○ Vitamín D (25 μ g), B2 (10mg), Vitamín C (1000mg)
 - 0,3 l Matcha zelený čaj
- 12:00 gulášová polévka, brambor, hlíva
 - 0,3 l bylinkový čaj
- 15:00 větrníkové kuličky, štrúdl, řecký jogurt, mix ořechů
 - 0,3 l bylinkový čaj
- 19:00 Celozrnné špagety, 1/2 avokádo, sýr gouda, olivový olej, česnek, tvarůžky, pepř
 Hroznové víno
 - 0,5 l ajurvédský čaj triphala
 ○ AMIX: Ca (666,6 mg), Mg (266,6 mg), Zn (16,6 mg)

Závěr

Z naší 40 denní studie vyplývá, že antioxidační aktivita močí dobrovolnice byla výrazně ovlivňována objemem vyloučené moči, do které se promítalo vše, co za daný den snědla a vypila. Objem močí během sledovaných dnů se měnil od 2 l do 4.2 l a antioxidační aktivita močí se měnila od 1.65 C/g do 0.53 C/g. Ukazuje se, že antioxidační aktivita klesá s objemem moče. Neznamena to, že by s nárůstem objemu moče zcela úměrně tomu klesala antioxidační aktivita (Obr. 6).

Zajímavé je pozorování ztráty celkového náboje vyloučeného s celodenní močí. V rozmezí 40 dnů se náboj pohyboval okolo průměru 3037 C/den s maximální hodnotou 5037 C/den a minimální hodnotou 732 C/den ve dne hladovění (3. 2. 21), kdy dobrovolnice vypila během dne 3 l vody a současně i 3 l vymočila. To ukazuje, že většinový podíl antioxidantů v moči souvisí s příjmem potravy, ale není to výlučný faktor. Močí ze dne, kdy dobrovolnice držela půst, byl vyloučen 4x menší náboj, než je průměr ze všech 40 dnů.

Zajímavým zjištěním je, že nejvyšší antioxidační aktivita v průběhu dne byla pozorována u ranní moče. Zabarvení a intenzita barvy moče nemusí automaticky znamenat zvýšenou antioxidační aktivitu.

Na závěr, ačkoliv to může být úsměvné, na základě našich dlouhodobých experimentů s antioxidanty z různých přírodních zdrojů, můžeme konstatovat, že lidská moč z hlediska antioxidační aktivity je srovnatelná s dobrým červeným vínem.