

**Oddział Nauki o Żywności  
Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności  
Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie**

**Wydział Nauki o Żywności  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie**

**XIII KONFERENCJA NAUKOWA  
MŁODYCH BADACZY**

**Bezpieczeństwo i jakość żywności**

**Olsztyn, 30 marzec 2016**

## **WYDANIE POD REDAKCJĄ**

Joanny Fotschki

### **KOMITET NAUKOWY**

dr hab. Barbara Wróblewska, prof. nadzw.

Oddział Nauk o Żywności, Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk  
w Olsztynie

prof. dr hab. inż. Małgorzata Darewicz

Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

dr Lidia Markiewicz

Oddział Nauk o Żywności, Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk  
w Olsztynie

dr hab. inż. Anna Iwaniak, prof. UWM

Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

### **KOMITET ORGANIZACYJNY**

mgr Joanna Fotschki

mgr inż. Damir Mogut

dr inż. Justyna Bucholska

dr Anna Szyć

### **OKŁADKA**

Joanna Fotschki

(projekt okładki)

Ewa Wasilewska

(zdjęcie)

### **DRUK I OPRAWA**

*Sowa – druk na życzenie®*

*www.sowadruk.pl tel. 022 431-81-40*

**ISBN: 978-83-939121-9-3**

*Wydano z materiałów powierzonych*

Szanowni Państwo,

Z wielką przyjemnością zapraszamy Państwa do udziału w **XIII Konferencji Naukowej Młodych Badaczy**, która została zaplanowana na dzień 30 marca 2016r. z inicjatywy Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego i Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie.

Jest nam niezmiernie miło, że rozpoczęta w 2004 roku inicjatywa cieszy się tak ogromnym zainteresowaniem młodych pracowników nauki. W tym roku wiodącymi tematami będą zagadnienia dotyczące nowych źródeł białek pokarmowych, jakości żywności, aktywnych biologicznie peptydów, wpływu procesów technologicznych na otrzymywane produkty i nowoczesnych metod analizy żywności.

Gorąco zapraszamy do pogłębiania wiedzy, wzajemnej wymiany doświadczeń i nawiązywania kontaktów inicjujących wspólne przedsięwzięcia naukowe.

Życzymy owocnych obrad!

Z wyrazami szacunku,



dr hab. Barbara Wróblewska, prof. nadzw.



prof. dr hab. Małgorzata Darewicz



Oddział Nauk o Żywności  
Instytutu Rozrodu Zwierząt  
i Badań Żywności Polskiej  
Akademii Nauk w Olsztynie



Wydział Nauk o Żywności  
Uniwersytetu  
Warmińsko-Mazurskiego  
w Olsztynie



## SPIS TREŚCI

### **ZMIANY STANU FIZJOLOGICZNEGO KOMÓREK *LACTOBACILLUS* SPP. W ZALEŻNOŚCI OD WYBRANYCH CZYNNIKÓW ŚRODOWISKOWYCH**

Aleksandra Kocot, Magdalena Olszewska, Anna Nynca, Łucja Łaniewska-Trokenheim ..... 7

### **BADANIE PROFILU BETALAIN W MOCZU KONSUMENTÓW PO DŁUGOTRWAŁYM SPOŻYCIU SOKU Z FERMENTOWANEGO BURAKA ĆWIKŁOWEGO**

Tomasz Sawicki, Joanna Topolska, Wiesław Wiczkowski ..... 9

### **WZORY ŻYWIENIA A RYZYKO NIEPŁODNOŚCI WSRÓD MĘŻCZYZN**

Anna Danielewicz, Katarzyna Przybyłowicz ..... 11

### **WPŁYW MLEKA KLACZY JAKO DODATKU DO DIETY NA MARKERY PROZAPALNE W BADANIACH NA MODELU MYSZY BALB/C**

Joanna Fotschki, Anna Maria Szyk, J. Moisés Laparra, Barbara Wróblewska ... 13

### **FODMAP W DIECIE DZIECI – CIENIE I BLASKI**

Katarzyna Mirosława Boradyn, Katarzyna Eufemia Przybyłowicz, Elżbieta Jarocka-Cyrta ..... 15

### **WPŁYW OBRÓBKII WYSOKIM CIŚNIENIEM HYDROSTATYCZNYM NA ROZKŁAD MAS CZĄSTECZKOWYCH, PARAMETRY HYDRODYNAMICZNE ORAZ WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE SKROBI KUKURYDZIANYCH O ODMIENNEJ ZAWARTOŚCI AMYLOZY**

Adrian Górecki, Artur Szwengiel, Jacek Lewandowicz, Wioletta Błaszczak ..... 17

**ZASTOSOWANIE METOD ANALIZY *IN SILICO* I *IN VITRO* W BADANIU  
PEPTYDÓW GORZKICH POCHODZĄCYCH Z BIAŁEK ŻYWNOŚCI**

Monika Hryniewicz, Anna Iwaniak, Justyna Bucholska..... 19

**ELEKTROCHEMICZNY IMMUNOCZUJNIK DO WYKRYWANIA PRZECIWCIAŁ  
POLIKLONALNYCH IGY SKIEROWANYCH PRZECIW WIRUSOWI PTASIEJ GRYPY**

Robert Kiewisz, Katarzyna Kurzątkowska, Hanna Radecka, Jerzy Radecki..... 21

**SYMULACJA PROTEOLIZY BIAŁEK JĘCZMIENIA POD KĄTEM OTRZYMYWANIA  
PEPTYDÓW O AKTYWNOŚCI HAMUJĄCEJ WOBEC DIPEPTYDYLOPEPTYDAZY IV**

Piotr Starowicz, Piotr Minkiewicz, Justyna Bucholska, Małgorzata Darewicz... 23

**WPŁYW PREPARATU BŁONNIKA WIŚNIOWEGO NA ZABURZENIA  
INDUKOWANE DIETĄ WYSOKOTŁUSZCZOWĄ U SZCZURÓW**

Karolina Szczęch, Adam Jurgoński, Jerzy Juśkiewicz, Zenon Zduńczyk..... 25

**KARNOZYNA I ANSERYNA JAKO PROZDROWOTNE SUBSTANCJE  
POCHODZENIA ZWIERZĘCEGO**

Sylwester Rybaczek, Wioletta Krzynowek, Waclaw Mozolewski ..... 27

**EKSPRESJA GENÓW ODPOWIEDZIALNYCH ZA EKSPANSJĘ TKANKI  
TŁUSZCZOWEJ NIE ZALEŻY OD WIEKU**

Magdalena Jura, Marika Ziętak, Leslie P. Kozak ..... 29

## ZMIANY STANU FIZJOLOGICZNEGO KOMÓREK *LACTOBACILLUS* SPP. W ZALEŻNOŚCI OD WYBRANYCH CZYNNIKÓW ŚRODOWISKOWYCH

Aleksandra Kocot<sup>1</sup>, Magdalena Olszewska<sup>1</sup>, Anna Nynca<sup>2</sup>, Łucja Łaniewska-Trokenheim<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności, Wydział Nauki o Żywności, UWM, Olsztyn

<sup>2</sup>Laboratorium Diagnostyki Molekularnej Wydział Biologii i Biotechnologii, UWM, Olsztyn

Pałeczki z rodzaju *Lactobacillus* są powszechnie kojarzone z probiotykami. Istotnie, wiele spośród tych szczepów posiada naukowo udowodniony status probiotyczności, a nad kolejnymi trwają badania z tego zakresu. Aby szczep uznać za probiotyczny, musi on spełnić szereg kryteriów [1]. W niniejszych badaniach analizowano stan fizjologiczny pałeczek *Lactobacillus* spp. wyizolowanych z żywności w odpowiedzi na zmiany pH. Krytyczne warunki dla żywotności drobnoustrojów w przewodzie pokarmowym stwarza silnie kwasowe środowisko żołądka [2]. Wartości pH zastosowane w badaniach były zbliżone do tych, które występują w przewodzie pokarmowym.

Materiał badawczy stanowiły szczepy *Lactobacillus* spp. wyizolowane z warzywnych kiszzonek spożywczych. Do izolacji użyto podłoża MRS-agar. Posiewy inkubowano w warunkach beztlenowych przez 48 h w 30 °C. Po tym czasie charakterystyczne kolonie zawieszono w płynnym podłożu MRS i namnażano przez 24 h. Następnie dokonano identyfikacji pałeczek z zastosowaniem fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH – ang. *fluorescence in situ hybridization*). Zastosowano sondę specyficzną dla domeny Eubacteria (Eub 338) oraz nonsensowną (Non 338) do detekcji sygnału pozytywnego i negatywnego, sondę Lab 158 dla bakterii fermentacji mlekowej oraz 11 sond specyficznych dla wybranych gatunków z rodzaju *Lactobacillus*. W kolejnym etapie badań drobnoustroje poddano oddziaływaniu różnych wartości pH (8.1, 7.6, 2.5), odpowiadającym warunkom panującym w jelicie, jamie ustnej i żołądka, po czym zastosowano kolejny wariant z wartościami pH od 7.0 do 2.0. Osad bakteryjny zawieszono w 1 mL płynnej pożywki MRS o zadanym pH i inkubowano przez 1.5 h w 30 °C. Następnie wykonano szereg rozcieńczeń 10-krotnych i posiano powierzchniowo na podłożu MRS w celu oceny przeżywalności pałeczek *Lactobacillus* z zastosowaniem metody konwencjonalnej. Aby ocenić stan fizjologiczny komórek z zastosowaniem technik alternatywnych, próbki odwirowano, zawieszono w buforze PBS

i barwiono z zastosowaniem barwników fluorescencyjnych CFDA/PI (diocetankarboksyfluoresceiny/jodek propidyny). Użycie tych barwników pozwoliło stwierdzić, czy pod wpływem zmian pH dezaktywacji ulegają wewnątrzkomórkowe enzymy – esterazy (CFDA) oraz czy dochodzi do uszkodzenia błon cytoplazmatycznych (PI). Tak zabarwione próbki stanowiły gotowy materiał do analizy cytometrycznej, natomiast próbki do obserwacji mikroskopowej poddano dodatkowo filtracji (Millipore) przez filtry poliwęglanowe i sporządzono preparaty, które oglądano pod mikroskopem epifluorescencyjnym (Olympus BX51).

Identyfikacja na podstawie FISH pozwoliła zakwalifikować badane szczepy do dwóch gatunków – *Lactobacillus plantarum* i *Lactobacillus brevis*. W oparciu o wyniki przedstawiające zmiany stanu fizjologicznego populacji *Lactobacillus* spp. wykazano, że przeżywalność i aktywność szczepów *Lactobacillus* spp. różniła się w zależności od pH środowiska. Zaobserwowano większą przeżywalność szczepów w pH 8.1 i 7.4 niż w pH 2.5. Część populacji w środowisku o pH 2.5 nie wykazała wzrostu na podłożu MRS, natomiast zaobserwowano komórki żywe (udział komórek aktywnych esterolitycznie) z zastosowaniem technik fluorescencyjnych. Wskazuje to na stan uśpienia (ang. VBNC, *viable but nonculturable*), zwany aktywnym, ale niehodowalnym, w który przechodzą komórki drobnoustrojów pod wpływem niekorzystnych warunków środowiskowych. W środowisku o pH 2.5 z zastosowaniem narzędzi alternatywnych zaobserwowano także znaczny udział komórek wybarwionych na czerwono (PI), czyli z uszkodzeniami w błonach cytoplazmatycznych. Rozszerzona analiza w zakresie pH 7 i 2 pozwoliła stwierdzić, że pałeczki *Lactobacillus* spp. zachowują aktywność esterolityczną do pH 4. W niższych wartościach pH zaobserwowano różnice międzygatunkowe w żywotności komórek. Znaczne obniżenie żywotności *L. brevis* zaobserwowano w środowisku o pH 3 i 2, a w przypadku *L. plantarum* w pH 2.

Wyniki badań świadczą o złożoności zachowania komórek *Lactobacillus* sp. w zależności od pH środowiska.

1. Jach M., Łoś R., Maj M., Malm A. 2013. Probiotyki – aspekty funkcjonalne i technologiczne. Post. Mikrobiol. 52: 161-170.
2. Pitino I., Randazzo C.L., Mandalari G., Lo Curto A., Faulks R.M., Le Marc Y., Bisignano C., Caggia C., Wickham M.S.J. 2010. Survival of *Lactobacillus rhamnosus* strains in the upper gastrointestinal tract. Food Microbiol. 27:1121-1127.
3. Joux F., Lebaron P. 2002. Use of fluorescent probes to assess physiological functions of bacteria at single-cell level. Microbes Infect 2: 1523-1535.



## **BADANIE PROFILU BETALAIN W MOCZU KONSUMENTÓW PO DŁUGOTRWAŁYM SPOŻYCIU SOKU Z FERMENTOWANEGO BURAKA ĆWIKŁOWEGO**

Tomasz Sawicki, Joanna Topolska, Wiesław Wiczkowski

Zakład Chemii i Biodynamiki Żywności, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN,  
Olsztyn

W ostatnich latach można zauważyć wzrost zainteresowania obecnymi w żywności, naturalnymi substancjami wykazującymi aktywność biologiczną. Cieszą się one coraz większym zainteresowaniem nie tylko ze strony naukowców ale również ze strony konsumentów oraz producentów żywności. Tak jest również w przypadku związków betalainowych, którym bardzo dobrym źródłem jest burak ćwikłowy. Oprócz szeregu aktywności biologicznych (przeciwbakteryjnych, przeciwzapalnych i antywirusowych) betalainy cechuje duża stabilność [1,2] i dlatego z sukcesem są stosowane w przemyśle spożywczym do barwienia wielu produktów żywnościowych, między innymi: jogurtów, dżemów, lodów i marmolad itp. Niestety, pomimo szerokiego zastosowania związków betalainowych jak do tej pory nie zostały jeszcze w pełni scharakteryzowany los tych substancji po spożyciu.

Celem niniejszych badań była analiza moczu pod kątem obecności egzogennych substancji markerowych rozróżniających dietę bogatą i ubogą w betalainy buraka ćwikłowego.

Badaniem objęto 24 osobową grupę ochotników (5 mężczyzn i 19 kobiet) w wieku 25 – 40 lat. Doświadczenie trwało 13 tygodni i zostało podzielone na dwa 6-tygodniowe okresy badawcze. W pierwszym okresie ochotnicy przebywali na swojej codziennej diecie z wykluczeniem produktów zawierających związki betalainowe (tj.: lody truskawkowe, jogurty o smaku truskawkowym i poziomkowym, wina, surimi, pitaje, soki wieloowocowe oraz produkty zawierające barwnik E162). W drugim okresie doświadczenia, jako źródło betalain, ochotnikom włączono do diety sok z fermentowanych buraków ćwikłowych (200 mL/60 kg masy ciała). W trakcie trwania doświadczenia, co 7 dni, od każdego ochotnika zbierano próby moczu, które następnie poddawano analizie chromatograficznej sprzężonej z spektrometrią mas.

Analizę związków betalainowych dokonano metodą HPLC-MS/MS (LC-200/QTRAP 5500, AB SCIEX, USA). W podawanym ochotnikom soku z fermentowanych buraków ćwikłowych dominowały betanidina i isobetanidina, których nie zidentyfikowano w moczu ochotników. Ponadto, w zastosowanym soku w mniejszych ilościach występowała betanina i isobetanina oraz śladowe ilości dekarboksylowanych pochodnych tych związków. Zupełnie odmienny profil związków betalainowych oznaczono w moczu ochotników, którzy spożywali sok z fermentowanych buraków. W zebranym moczu zidentyfikowano osiem związków betalainowych (betanina, 17-decarboxy-betanina/ isobetanina, 2,17-bidecarboxy-betanina/ isobetanina, 2,15,17-tridecarboxy-betanina/ isobetanina, 2-decarboxy-neobetanina, 2,17-bidecarboxy-neobetanina, 2,15,17-tridecarboxy-neobetanina oraz 6'-*O*-feruloyl-betanina/ isobetanina). Dominującymi były betanina oraz 2,17-bidecarboxy-neobetanina. Co ciekawe po pierwszym tygodniu suplementacji związkami betalainowymi w moczu ochotników nie zidentyfikowano betaniny, którą oznaczono dopiero po drugim tygodniu spożywania soku z buraka a jej średnia zawartość wynosiła  $0,27 \pm 0,01$   $\mu\text{mola}$ . W kolejnych tygodniach zawartość betaniny w moczu ustabilizowała się i mieściła się w zakresie od  $0,22 \pm 0,01$   $\mu\text{mola}$  do  $0,24 \pm 0,01$   $\mu\text{mola}$ . Natomiast zawartość 2,17-bidecarboxy-neobetaniny zawierała się w zakresie  $0,20 \pm 0,01$  –  $0,29 \pm 0,01$   $\mu\text{mol}$ . Pozostałe związki zostały zidentyfikowane tylko w pierwszych tygodniach spożycia soku z fermentowanych buraków ćwikłowych. Obserwacje te wskazują, że w moczu ochotników po długotrwałym spożyciu soku z fermentowanych buraków ćwikłowych oprócz form niezmetylizowanych występują również betalainy, które uległy procesom odwodornienia i dekarboksylacji.

Podsumowując, uzyskane wyniki wykazują, że długotrwałe spożycie diety bogatej w związki betalainowe wpływa na profil metaboliczny konsumenta oraz umożliwia śledzenie szlaków metabolicznych tych związków. W konsekwencji może przyczynić się do rozwoju nauk związanych z wpływem składników diety na stan organizmu ludzi i zwierząt.

1. Moreno, D A., Garcia-Viguera, C., Gil, J.I., & Gil-Izquierdo, A. 2008. Betalains in the era of global agric-food science, technology and nutritional health. *Phytochemistry Reviews*, 7: 261-280.
2. Ravichandran K., Saw Thaw Min Min N., Mohdaly A. A. A., Gabr M. M. A., Kastell A., Riedel H., Cai Z., Knorr D., Smetanska I. 2013. Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. *Food Research International*, 50: 670-675.

## WZORY ŻYWIENIA A RYZYKO NIEPŁODNOŚCI WSRÓD MĘŻCZYŹN

Anna Danielewicz, Katarzyna Przybyłowicz

Katedra Żywienia Człowieka, Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Kliniczna definicja niepłodności Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) opisuje ją, jako chorobę układu rozrodczego, uniemożliwiającą wystąpienie ciąży klinicznej po 12 miesiącach lub więcej utrzymywania regularnych, niezabezpieczonych stosunków płciowych [1]. Szacuje się, że niepłodność dotyczy 48.5 miliona, czyli 15% par w skali świata, lecz zapadalność i etiologia są różne w poszczególnych krajach. W Europie centralnej i wschodniej 8-12% mężczyzn jest niepłodnych, co w przypadku 20% niepłodnych par w tym regionie wskazuje na 56% udział czynnika męskiego w wystąpieniu niepłodności [2]. Liczne badania dowodzą, że prozdrowotne wzory żywienia, charakteryzujące się wysokim spożyciem ryb i owoców morza, drobiu, warzyw, owoców, roślin strączkowych, poprzez wysoką zawartość antyoksydantów związane są z lepszymi parametrami jakości nasienia i zmniejszonym ryzykiem wystąpienia asthenozoospermii [3,4,5].

Celem badań była ocena współzależności pomiędzy wzorami żywienia a niepłodnością męską. Badaniem objęto 33 mężczyzn w wieku 20-29 lat, będących pacjentami kliniki leczenia niepłodności. Wielkość spożycia żywności (g/dzień) określono z wykorzystaniem walidowanego kwestionariusza FFQ. Wzory żywienia zostały wyłonione metodą analizy głównych składowych z rotacją varimax. Analizę nasienia przeprowadzono metodą Sperm Class Analyser. Klasyfikacja nasienia została wykonana zgodnie z wartościami referencyjnymi WHO.

Zidentyfikowano dwa wzory żywienia: „*zdrowy*” oraz „*tradycyjny polski*”. „*Zdrowy*” wzór żywienia charakteryzował się spożyciem ryb i owoców morza, roślin strączkowych, warzyw, owoców oraz zup. „*Tradycyjny polski*” wzór żywienia charakteryzował się spożyciem kiełbas i wędlin wysokogatunkowych, mięsa narządowego i wyrobów wędliniarskich, tłuszczów roślinnych margaryny i napojów alkoholowych. Odnotowano istotnie wyższy ( $p=0,038$ ) ruch postępowy plemników między pierwszym ( $28,35\% \pm 11,42\%$ ) a trzecim ( $44,74\% \pm 15,46$ ) tercylem „*zdego*” wzoru żywienia. W obu

wzorach żywienia nie stwierdzono istotnych różnic dla liczby oraz morfologii plemników.

Wysokie spożycie antyoksydantów znajdujących się w rybach i owocach morza, warzywach oraz owocach, może wiązać się z utrzymaniem lub poprawą jakości biologicznej nasienia oraz przyczyniać się do zmniejszenia występowania niepłodności wśród mężczyzn.

1. Mascarenhas M.N., Flaxman S.R., Boerma T., Vanderpoel S., Stevens G.A. 2012. National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys, *PLOS Medicine*, Published: December 18, 2012, DOI: 10.1371/journal.pmed.1001356
2. Agarwal A., Mulgund A., Hamada A., Chyatte M. R. 2015. A unique view on male infertility around the Globe, *Reproductive Biology and Endocrinology*, 13:37
3. Eslamian G., Amirjannati N., Rashidkhani B., Sadeghi M.R., Baghestani A.R., Hekmatdoost A. 2016. Adherence to the Western Pattern Is Potentially an Unfavorable Indicator of Asthenozoospermia Risk: A Case-Control Study. *J Am Coll Nutr.* 35(1):50-8
4. Gaskins A.J., Colaci D.S., Mendiola J., Swan S.H., Chavarro J.E. 2012. Dietary patterns and semen quality in young men. *Hum Reprod.*, 27(10):2899-907
5. Liu C.Y., Chou Y.C., Chao J.C., Hsu C.Y., Cha T.L., Tsao C.W. 2015. The Association between Dietary Patterns and Semen Quality in a General Asian Population of 7282 Males., *PLoS One.*, 28;10(7):e0134224.

## WPŁYW MLEKA KLACZY JAKO DODATKU DO DIETY NA MARKERY PROZAPALNE W BADANIACH NA MODELU MYSZY BALB/C

Joanna Fotschki<sup>1</sup>, Anna Maria Szyc<sup>1</sup>, J. Moisés Laparra<sup>2</sup>, Barbara Wróblewska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Immunologii i Mikrobiologii Żywności, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, Olsztyn

<sup>2</sup>University of Valencia. Immunonutrition and Health Group. C/Gorgos, Valencia, Spain

Alergia pokarmowa jest ciągle aktualnym problemem szczególnie w krajach wysokorozwiniętych. Częstość występowania alergii pokarmowej określono na 1-17,5% u dzieci w wieku przedszkolnym, 1-13,5% u dzieci od 5-16 roku życia i 1-4% u dorosłych [1]. Jednym z głównych i najbardziej problematycznych surowców alergennych jest mleko krowie [2]. Rozwój dzieci i niemowląt z alergią na mleko krowie, które nie mogą być karmione mlekiem matki, ani hydrolizatami białek mleka krowiego z powodu uczulenia na składniki mleka krowiego, może być nieprawidłowy, z klinicznymi konsekwencjami w przyszłości. Dlatego też podejmowane są badania w kierunku wskazania niewykorzystywanych dotychczas surowców o właściwościach hipoałergicznych. Takich cech upatruje się w mleku klaczy, które ma zbliżony skład chemiczny do mleka kobiecego [3].

Mleko klaczy pozyskano od klaczy rasy Wielkopolskiej (Genactiv, Polska). Eksperyment przeprowadzono z wykorzystaniem myszy Balb/c. Poziom surowiczego IgE został oznaczony metodą ELISA. W celu oceny ekspresji mRNA markerów prozapalnych wyizolowano całkowite RNA z komórek jelita cienkiego. Otrzymane wyniki zostały znormalizowane w odniesieniu do GAPDH (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase), jako genu referencyjnego. Metodą odwrotnej transkrypcji otrzymano cDNA. Produkty RT-PCR oceniono metodą elektroforetyczną oraz poddano analizie przy użyciu programu Image Lab version 4.1 (Bio-Rad, Poland).

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono obniżenie poziomu IgE w grupie myszy, które żywiono dietą z dodatkiem mleka klaczy. Stwierdzono, że podczas trwającego procesu immunizacji myszy silnymi alergenami, wzmagająca się odpowiedź immunologiczna organizmu w kierunku prozapalnym. Wykazano, że dodatek mleka klaczy do diety obniżył istotnie

statystycznie poziom mRNA IL-4 a jednocześnie nie zaobserwowano zmian w poziomie mRNA MCP-1 i TNF- $\alpha$ .

Uzyskane wyniki świadczą o pozytywnym wpływie mleka klaczy na obniżenie poziomu przeciwciał IgE, które są głównym markerem oceny w diagnostyce alergii pokarmowej. Może to świadczyć o potencjalnym wyciszeniu reakcji alergicznej. Zaobserwowano także korelację pomiędzy poziomem przeciwciał IgE a obniżeniem ilości mRNA prozapalnej IL-4. Cytokina ta ma kluczowe znaczenie podczas różnicowania komórek B do plazmacytów oraz stymulacji produkcji przeciwciał IgE.

1. Fiocchi A, Brozek J, Schünemann H, Bahna SL, von Berg A, Beyer K, Bozzola M, Bradsher J, Compalati E, Ebisawa M, Guzman MA, Li H, Heine RG, Keith P, Lack G, Landi M, Martelli A, Rancé F, Sampson H, Stein A, Terracciano L & Vieths S. 2010. World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) Guidelines. *Pediatric Allergy and Immunology*. 21: 1–125.
2. Wróblewska B, Karamać M & Szymkiewicz A. 2003. Immunometric methods of analysis as a tool for determining the antigenic properties of cow milk proteins and its hydrolysates. *Polish Journal of Food and Nutrition Science*. 2: 106–110.
3. Potočnik, K., Gantner, V., Kuterovac, K., & Cividini, A. 2011. Mare's milk: composition and protein fraction in comparison with different milk species. *Mljekarstvo*. 61: 107–113.

## FODMAP W DIECIE DZIECI – CIENIE I BLASKI

Katarzyna Mirosława Boradyn<sup>1</sup>, Katarzyna Eufemia Przybyłowicz<sup>1</sup>, Elżbieta Jaročka-Cyrta<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Katedra Żywienia Człowieka, Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko – Mazurski w Olsztynie

<sup>2</sup>Katedra Pediatrii Klinicznej, Wydział Nauk Medycznych, Uniwersytet Warmińsko – Mazurski w Olsztynie

Czynnościowe zaburzenia przewodu pokarmowego są grupą przewlekłych lub nawracających objawów ze strony przewodu pokarmowego, bez podłoża zapalnego, wad anatomicznych, metabolicznych lub procesu nowotworowego [1,2]. Dane epidemiologiczne wskazują, że cierpi na nie od 10% do 20% dzieci [3]. Stanowią wyzwanie diagnostyczne i terapeutyczne ze względu na różnorodność obrazu klinicznego, dynamikę objawów i złożoność etiopatogenezy [4]. W ostatnich latach potencjalnej przyczyny występowania objawów choroby dopatruje się w słabo wchłanialnych, osmotycznie aktywnych, krótkołańcuchowych węglowodanach określanych mianem FODMAP (Fermentable Oligo-, Di-, Monosaccharides and Polyols) [5,6]. Nowatorską terapią żywieniową, która wzbudza coraz większe zainteresowanie badaczy, jest dieta z ograniczeniem FODMAP. Należy jednak pamiętać, że związki te nie determinują powstawania choroby, a jedynie nasilają jej objawy. Ponadto wykazują korzystny wpływ na organizm zdrowych osób [7].

Badania przeprowadzono w latach 2014-2016. Badaną próbę stanowiło 50 dzieci w wieku od 4 do 17 lat, ze zdiagnozowanymi czynnościowymi zaburzeniami przewodu pokarmowego (zaparcia, czynnościowy ból brzucha) i chorobą trzewną. Respondenci byli pacjentami Poradni Gastroenterologicznej Wojewódzkiego Specjalistycznego Szpitala Dziecięcego im. Prof. Stanisława Popowskiego w Olsztynie. Decyzje dotyczącą włączenia pacjentów do badań, w oparciu o kryteria włączenia i wyłączenia, podejmował lekarz gastroenterolog. Kwestionariusz częstotliwości spożycia żywności (FFQ-6) został wykorzystany do zebrania informacji na temat obecności w diecie chorych źródeł FODMAP sklasyfikowanych w 6 grupach: słodycze i przekąski, produkty mleczne, produkty zbożowe, owoce, warzywa i napoje. Wyniki badań surowicy poziomów białka C-reaktywnego (CRP), aminotransferazy alaninowej (ALT), aminotransferazy asparaginianowej (AST) otrzymano z wywiadu lekarskiego.

Wyniki analizy częstotliwości spożycia wybranych produktów stanowiących bogate źródło FODMAP wykazały, że w diecie dzieci z czynnościowymi zaburzeniami przewodu pokarmowego i chorobą trzewną głównym źródłem FODMAP są produkty mleczne (średnia  $\pm$  odchylenie standardowe:  $2,70 \pm 1,20$  razy/dzień), a także słodycze i przekąski ( $1,90 \pm 1,43$  razy/dzień). Średnie dzienne spożycie ( $\pm$ odchylenie standardowe) wynosiło dla produktów zbożowych  $1,63 \pm 1,06$  razy/dzień, napojów  $1,09 \pm 0,85$  razy/dzień, owoców  $1,22 \pm 0,72$  razy/dzień i warzyw  $0,65 \pm 0,57$  razy/dzień. Ocena związku między częstotliwością spożywania produktów będących źródłem FODMAP a stężeniem CRP, ALT i AST we krwi nie wykazała istotnych statystycznie korelacji.

Badania wykazały wysokie spożycie składników FODMAP w diecie dzieci z czynnościowymi zaburzeniami przewodu pokarmowego i chorobą trzewną. Aktualny stan wiedzy dotyczący efektywności diety o niskiej zawartości FODMAP jest niewystarczający. Dotychczas nie zostały także opracowane oficjalne zalecenia dotyczące stosowania diety. Istnieje konieczność przeprowadzenia bardziej zaawansowanych badań, potwierdzających długoterminowe bezpieczeństwo i skuteczność jej stosowania.

1. Carlson M.J., Moore C.E., Tsai C.M., Shulman R.J., Chumpitazi B.P. 2014. Child and Parent Perceived Food-Induced Gastrointestinal Symptoms and Quality of Life in Children with Functional Gastrointestinal Disorders. *J Acad Nutr Diet.* 114(3): 403-413.
2. Wilson K., Hill R.J. 2014. The role of food intolerance in functional gastrointestinal disorders in children. *Aust Fam Physician.* 43(10): 686-689.
3. Korterink J.J., Devanarayana N.M., Rajindrajith S., Vlieger A., Benninga M.A. 2015. Childhood functional abdominal pain: mechanisms and management. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 12(3): 159–171.
4. Szafrńska-Komarowska I., Stawińska-Witoszyńska B., Krzyżaniak A., Michalak M., Hus M. 2013. Dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego u młodzieży. *Probl Hig Epidemiol.* 94(2): 393-397.
5. Marcason W. 2012. What is the FODMAP Diet? *Journal of the academy of nutrition and dietetics.* 112(12): 2075.
6. Talley N.J. 2012. Dietary Modification as a Treatment for Irritable Bowel Syndrome. *Gastroenterology & Hepatology.* 8: 552-554.
7. Jarocka-Cyrta E., Przybyłowicz K.E., Nosek H. 2014. Rola FODMAP w czynnościowych zaburzeniach przewodu pokarmowego. Część 1. Nietolerancja FODMAP. Patomechanizmy I obraz kliniczny. *Standardy Medyczne Pediatria.* T.11: 659-668.



## **WPŁYW OBRÓBKI WYSOKIM CIŚNIENIEM HYDROSTATYCZNYM NA ROZKŁAD MAS CZĄSTECZKOWYCH, PARAMETRY HYDRODYNAMICZNE ORAZ WŁAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE SKROBI KUKURYDZIANYCH O ODMIENNEJ ZAWARTOŚCI AMYLOZY**

Adrian Górecki<sup>1</sup>, Artur Szwegiel<sup>2</sup>, Jacek Lewandowicz<sup>3</sup>, Wioletta Błaszczak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Chemicznych i Fizycznych Właściwości Żywności, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności, Polska Akademia Nauk w Olsztynie

<sup>2</sup>Zakład Fermentacji i Biosyntezy, Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

<sup>3</sup>Katedra Przyrodniczych Podstaw Jakości, Wydział Towaroznawstwa, Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu

Skrobia jest naturalnym biopolimerem złożonym z liniowej amylozy i rozgałęzionej amylopektyny. Zawartość tych polimerów w ziarenku skrobiowym oraz ich właściwości fizykochemiczne determinują między innymi takie właściwości technologiczne skrobi jak lepkość. Badania prowadzono w kierunku określenia zmian w rozkładzie mas cząsteczkowych, parametrach hydrodynamicznych i właściwościach reologicznych, zachodzących w skrobi w warunkach wysokiego ciśnienia hydrostatycznego (HHP).

Materiał badawczy stanowiły następujące skrobie o odmiennej zawartości amylozy: kukurydziana (21%), Hylon VII (69%) i kukurydziana woskowa (>1%). Zawiesiny skrobia-woda (30g/ 100 mL) poddano obróbce HHP w warunkach 650 MPa/ 9 min, w temperaturze pokojowej.

Oznaczenie masy cząsteczkowej i parametrów hydrodynamicznych przeprowadzono stosując zestaw trzech kolumn SEC oraz kolumnę SB-G, gdzie fazą ruchomą był 0,1M wodny roztwór azotanu sodu, a próbkę rozpuszczono w układzie DMSO/ H<sub>2</sub>O (90:10) w temperaturze 100° C. Rozdziały chromatograficzne wykonano na urządzeniu HPSEC, stosując potrójną detekcję (LS, VIS, RI).

Oznaczenia właściwości reologicznych przeprowadzono dla 5% pasteryzowanych (80° C/45 min) i sterylizowanych (121° C/ 20 min) kleików skrobiowych. Pomiar wykonano na reometrze RheoStress1, w trybie CR ( $\dot{\gamma}$ = 0,01~600~0,01 s<sup>-1</sup>; 25°C), wyposażonym w układ pomiarowy Z20 DIN Ti. Krzywą otrzymaną przy rosnącej szybkości ścinania opisano modelem Ostwald de Waele'a i wyznaczono stałe  $K$  i  $n$ .

Wykazano, że zawartość amylozy w ziarenku i pochodzenie botaniczne skrobi determinowały jej właściwości chemiczne i hydrodynamiczne (HPSEC) oraz reologiczne, a także wpływały na podatność skrobi na obróbkę HHP.

Na profilach chromatograficznych HPSEC, otrzymanych dla skrobi kukurydzianej i Hylon VII, zaobserwowano dwa piki. Pierwszy z nich przypisano frakcji wysokocząsteczkowej, tj. amylopektynie (RV=20-22,5 mL), drugi zaś – amylozie (RV=24-25 mL). W przypadku skrobi kukurydzianej woskowej zarejestrowano pojedynczy pik (RV=20,5 mL) odpowiadający amylopektynie. Skrobia Hylon VII charakteryzowała się najniższą masą cząsteczkową amylopektyny ( $2,986 \times 10^7$  Da), lepkością graniczną (0,9348 dL/g) i liczbą rozgałęzień (287). W porównaniu do niej, masa cząsteczkowa skrobi kukurydzianej i kukurydzianej woskowej była niemal dwukrotnie wyższa (ok.  $5,5 \times 10^7$  Da). Najwyższą lepkość graniczną zaobserwowano w przypadku skrobi kukurydzianej (1,7923 dL/g), natomiast skrobię kukurydzianą woskową cechowała największa liczba rozgałęzień (5168).

Zastosowana obróbka HHP w każdym przypadku prowadziła do wzrostu liczby rozgałęzień i zmiany parametrów hydrodynamicznych badanych skrobi. Jedynie w przypadku skrobi kukurydzianej woskowej, pod wpływem wysokiego ciśnienia, nastąpiła depolimeryzacja amylopektyny, prowadząca do powstania frakcji niskocząsteczkowej.

Pomiary reologiczne kleików otrzymanych ze skrobi natywnych i HHP wykazały, że wszystkie badane kleiki charakteryzował przepływ nienewtonowski, pseudoplastyczny z granicą płynięcia oraz zjawisko tiksotropii. Nieproporcjonalny, obniżający się (wraz ze wzrostem szybkości sił ścinających) wzrost naprężeń stycznych świadczył o rozrzedzanym ścinaniem charakterze przepływu kleików badanych skrobi. Najwyższą lepkością pozorną przy maksymalnej szybkości ścinania charakteryzowały się kleiki skrobi kukurydzianej woskowej. Najniższe wartości lepkości pozornej zaobserwowano w przypadku kleików natywnej i HHP skrobi Hylon VII, co może sugerować, że udział lipidów i wysoka zawartość amylozy ograniczają podatność tej skrobi na obróbkę hydrotermiczną oraz wysokociśnieniową. Sterylizowane kleiki skrobi natywnych jak i HHP cechowała wyższa lepkość pozorna, w porównaniu do kleików pasteryzowanych. Z kolei obróbka HHP powodowała obniżenie lepkości pozornej w każdym badanym przypadku, z wyjątkiem pasteryzowanego kleiku skrobi Hylon VII.

## ZASTOSOWANIE METOD ANALIZY *IN SILICO* I *IN VITRO* W BADANIU PEPTYDÓW GORZKICH POCHODZĄCYCH Z BIAŁEK ŻYWNOCI

Monika Hrynkiewicz, Anna Iwaniak, Justyna Bucholska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Nauki o Żywności, Katedra Biochemii Żywności, Pl. Cieszyński 1, 10-719 Olsztyn

Techniki analizy bioinformatycznej należą do najbardziej dynamicznie rozwijających się na świecie. Coraz więcej naukowców reprezentujących różne dyscypliny naukowe posługuje się metodami komputerowymi (*in silico*) w celu rozwiązania wielu problemów z dziedziny medycyny, biologii, chemii, toksykologii oraz nauki o żywności. Efektem tych działań są liczne doniesienia naukowe prezentujące wyniki badań *in silico* cząsteczek ważnych z żywieniowego punktu widzenia.

Celem badań było zastosowanie wybranych metod bioinformatycznych do badania peptydów o smaku gorzkim pochodzących z białek żywności.

Badania *in silico* obejmowały m. in. analizę zależności między strukturą a funkcją peptydów gorzkich, symulację hydrolizy białek żywności w kontekście uwalniania peptydów gorzkich, wytypowanie tzw. indykatorów goryczki. Badania prowadzone w układzie *in vitro* dotyczyły hydrolizy enzymatycznej wytypowanych substratów (białek mleka oraz soi) za pomocą wybranych enzymów proteolitycznych, analizę chromatograficzną (RP-HPLC) oraz identyfikację peptydów w hydrolizatach białek za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MS).

Na podstawie uzyskanych wyników w badanych hydrolizatach białek mleka oraz soi zidentyfikowano di-, tri- oraz tetrapeptydy o smaku gorzkim. Wśród nich znajdowały się peptydy wytypowane jako indykatory goryczki.

Otrzymane wyniki wskazują, że zastosowane metody *in silico* oraz *in vitro* mogą być użyteczne w projektowaniu składników żywności o określonej jakości sensorycznej.

1. Iwaniak A., Minkiewicz P., Darewicz M., Protasiewicz M., Mogut D. 2015. Chemometrics and chemoinformatics in the analysis of biologically active peptides from food source. *Journal of Functional Foods*, 16: 334-351.

2. Kim H., Li-Chan E. C. Y. 2006. Application of Fourier Transform Raman Spectroscopy for Prediction of Bitterness of Peptides. *Applied Spectroscopy* 60 (11): 1297-1306.
3. Martinez-Mayorga K., Medina-Franco J. L. 2009. Chemoinformatics – application in food chemistry. Chapter 2. *Adv. Food Nutr. Res.*, 58: 33-56.

## **ELEKTROCHEMICZNY IMMUNOCZUJNIK DO WYKRYWANIA PRZECIWCIAŁ POLIKLONALNYCH IGY SKIEROWANYCH PRZECIW WIRUSOWI PTASIEJ GRYPY**

Robert Kiewisz<sup>1,2</sup>, Katarzyna Kurzątkowska<sup>2</sup>, Hanna Radecka<sup>2</sup>, Jerzy Radecki<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn

<sup>2</sup>Zakład Biosensorów, Pracownia Bioelektroanalizy, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności, Polska Akademia Nauk, Olsztyn

Wirus ptasiej grypy (AIV), to choroba wirusowa ptaków. Wirus ten przenosi się z dziko żyjących ptaków na hodowlane, przyczyniając się do rozprzestrzeniania się wirusa. Dodatkowo wirus ten może ulec mutacji zagrażając ludziom. Możemy wyróżnić trzy typy wirusa: A, B oraz C, z których tylko typ A charakteryzuje się wiralnością. AIV typu A dzieli się na dwie grupy w zależności od patogenności: wysoce patogenny (HPAI) oraz nisko patogeny (LPAI). Wirusy typu LPAI powodują jedynie niegroźne infekcje, natomiast, wirusy typu HPAI w niektórych przypadkach może doprowadzić w ciągu 48h do 100% śmiertelności populacji [1-2]. Wczesne wykrywanie AIV, w szczególności jego wysoce patogennych odmian H5N1 i H7N7 może przyczynić się do poprawy bezpieczeństwa hodowli jak i człowieka.

Do tych badań posłużono się opracowanym już immunoczuJNIKIEM elektrochemicznym przeznaczonym do wykrywania przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciw wirusowi ptasiej grypy [3-4]. Do konstrukcji czujnika wykorzystano elektrody złote, których powierzchnię zmodyfikowano warstwą redoks aktywną zawierającą kompleks dipirometenu (DPM) z jonami Cu(II) (DPM-Cu(II)). Kompleks ten wykorzystano do zorientowanego osadzenia hemaglutyniny (HA) wirusa ptasiej grypy typu H5N1 posiadającą złączkę histydynową (His-tag).

W prezentowanych badaniach wykorzystano powyższą strategię do wykrywania przeciwciał poliklonalnych IgY skierowanych przeciw wysoce patogennym odmianom wirusa ptasiej grypy typu H5N1 i H7N7. Do konstrukcji immunoczuJNIKA użyto również kompleksu dipirometenu z jonami Co(II) (DPM-Co(II)). Do immobilizacji histagowanych fragmentów wirusa na powierzchni elektrod zastosowano kompleksy DPM-Co(II) oraz DPM-Cu(II). Ich przydatność kontrolowano przy pomocy powierzchniowego rezonansu plazmonow (SPR). Przeciwciała poliklonalne IgY wykrywano w 0.01 M buforze PBS z wykorzystaniem takich technik jak: wolatamperometria fali prostokątnej wg

Ostoryounga (OSWV) oraz woltamperometria cykliczna (CV). Uzyskane wyniki pozwalają na rozróżnienie przeciwciał poliklonalnych IgY w zakresie stężeń od 0.2 do 1.0 pg/ml.

1. Shojaei TR, Tabatabaei M, Shawky S, Salleh MA, Bald D. 2015. A review on emerging diagnostic assay for viral detection: the case of avian influenza virus. *Mol. Biol. Rep.*, 42: 187-199.
2. The Writing Committee of the World Health Organization (WHO) Consultation on Human Influenza A/H5, (2005). *New England Journal of Medicine*, 2005, 353:1374-1385.
3. Grabowska I., Malecka K., Jarocka U., Radecki J., Radecka H., 2014. Electrochemical biosensors for detection of avian influenza virus - current status and future trends. *Acta Biochim. Pol.*, 61: 471-478.

---

Badania zostały wykonane w ramach projektu PBS2/A7/14/2014 „Szczepionka przeciw grypie – innowacyjne otrzymywanie antygenów podjednostkowych”.

## **SYMULACJA PROTEOLIZY BIAŁEK JĘCZMIENIA POD KĄTEM OTRZYMYWANIA PEPTYDÓW O AKTYWNOŚCI HAMUJĄCEJ WOBEC DIPEPTYDYLOPEPTYDAZY IV**

Piotr Starowicz, Piotr Minkiewicz, Justyna Bucholska, Małgorzata Darewicz

Katedra Biochemii Żywności, Wydział Nauki o Żywności UWM, Olsztyn

Symulacja proteolizy jest analizą przydatną przy planowaniu eksperymentu laboratoryjnego. Pozwala ona na oszacowanie szans znalezienia pożądaných peptydów uwalnianych przez dany enzym z określonego białka. W przypadku niniejszej analizy symulacja ta wykonana została pod kątem uwalniania peptydów o aktywności hamującej wobec enzymu dipeptydylopeptydazy IV (DPP4).

Analizie poddano sekwencje białek jęczmienia wyszukane w bazie UniProt.<sup>1</sup> Z wyszukanych sekwencji odrzucono te o podobieństwie wyższym niż 95%. Podobieństwo sekwencji określono za pomocą narzędzia BLAST.<sup>2</sup> Po selekcji do analizy *in silico* pozostało 173 sekwencje białek.

Symulacji proteolizy dokonano za pomocą bazy danych BIOPEP<sup>3</sup> z użyciem następujących enzymów: chymotrypsyna, trypsyna, pepsyna, proteinaza K, bromelaina, ficyna oraz kombinacja 3 enzymów trawiennych (pepsyna, trypsyna, chymotrypsyna).

Stopień uwalniania peptydów o pożądanej aktywności biologicznej opisano za pomocą parametrów  $A_E$  oraz  $W$ . Parametr  $A_E$  opisuje stosunek ilości uwalnianych peptydów o pożądanej aktywności do łącznej ilości reszt aminokwasowych w białku, zaś parametr  $W$  to stosunek parametru  $A_E$  do parametru  $A$ .

Średnie wartości obu parametrów okazały się najniższe dla trypsyny i były równe odpowiednio 0,0054 i 0,0080. Najwyższymi wartościami tych parametrów charakteryzowały się enzymy pochodzenia roślinnego: proteinaza K ( $A_E = 0,0609$ ;  $W = 0,0917$ ) oraz ficyna ( $A_E = 0,0688$ ;  $W = 0,1051$ ). Wartości obu parametrów były też znacząco wyższe dla każdego z enzymów roślinnych niż dla enzymów trawiennych pochodzących z układu pokarmowego. Dopiero kombinacja 3 enzymów trawiennych pozwoliła na otrzymanie wartości porównywalnych z tymi otrzymanymi dla bromelainy.

1. Baza danych UniProt: [www.uniprot.org/help/uniprotkb](http://www.uniprot.org/help/uniprotkb) - 12.2015

2. Program BLAST: <http://www.uniprot.org/blast/> - 12.2015
3. Baza danych BIOPEP: [www.uwm.edu.pl/biochemia/index.php/pl/biopep](http://www.uwm.edu.pl/biochemia/index.php/pl/biopep) - 01-02.2016



## **WPLYW PREPARATU BŁONNIKA WIŚNIOWEGO NA ZABURZENIA INDUKOWANE DIETĄ WYSOKOTŁUSZCZOWĄ U SZCZURÓW**

Karolina Szczęch, Adam Jurgoński, Jerzy Juśkiewicz, Zenon Zduńczyk

Zakład Biologicznych Funkcji Żywności, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN,  
Olsztyn

Jednym z produktów ubocznych przetwórstwa wiśni są wyłoki, które mogą być źródłem wielu cennych składników nieodżywczych w diecie. Celem badań była charakterystyka składu chemicznego i fizjologicznych właściwości preparatu błonnikowego uzyskanego z wyłoków wiśniowych, jako potencjalnego, prozdrowotnego składnika diety. Zakładano, że suplementacja diety preparatem błonnika wiśniowego może być działaniem prewencyjnym, skuteczniej przeciwdziałającym zaburzeniom metabolicznym indukowanym dietą wysokotłuszczową, niż taka sama interwencja żywieniowa, lecz opóźniona w czasie.

Przyjętą hipotezę zweryfikowano w 8-tygodniowym doświadczeniu na szczurach Wistar prowadzonym na 4 grupach, po 9 osobników w każdej. Szczury żywiono standardową dietą kazeinową (grupa C) oraz jej wysokotłuszczową modyfikacją (grupa HF), w której część skrobi kukurydzianej zastąpiono smalcem. Preparat błonnika wiśniowego dodano do diety wysokotłuszczowej kosztem celulozy, użytej jako źródło błonnika w grupach kontrolnych (grupy C i HF), w dwóch wariantach: przez cały okres doświadczenia (grupa HF<sub>1-8</sub>) lub od 5 tygodnia doświadczenia (grupa HF<sub>5-8</sub>).

Zawartość błonnika pokarmowego w preparacie wyniosła 47,5 g/100 g. Badany preparat zawierał także pewne ilości bezazotowych związków wyciągowych i białka (odpowiednio 21,6 g i 17,5 g/100 g preparatu), a także związki fenolowe (130,5 mg/100 g preparatu), głównie antocyjaniny, flawonole i kwasy hydroksycynamonowe. Po 8 tygodniach żywienia w grupie HF istotnie wzrosła masa ciała, a także masy wątroby oraz nerek w porównaniu z grupą C. Grupa HF charakteryzowała się także zaburzeniami w obrębie przewodu pokarmowego (głównie obniżoną aktywnością glikolityczną mikroflory oraz zmniejszonym stężeniem kwasu masłowego w treści jelita ślepego) oraz zwiększonym stężeniem cholesterolu całkowitego, a zmniejszonym stężeniem cholesterolu HDL w osoczu krwi. Dodatek błonnika wiśniowego do diety wysokotłuszczowej podwyższył aktywność glikolityczną,

w tym aktywność  $\alpha$ - i  $\beta$ -glukozydazy oraz  $\alpha$ -galaktozydazy, oraz zwiększył całkowite stężenie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w treści jelita ślepego, w tym kwasu masłowego. Dłuższy okres podawania diety z błonnikiem wiśniowym powodował wyraźniejsze zmiany w jelicie ślepym (grupa HF<sub>1-8</sub>), natomiast oba warianty nie miały istotnego wpływu na profil lipidowy krwi szczurów.

Zaburzenia będące konsekwencją spożywania diety wysokotłuszczowej mogą być jedynie częściowo niwelowane dodatkiem preparatu błonnika wiśniowego do diety. Stwierdzono korzystne zmiany w metabolizmie mikrobioty jelitowej, przy czym ich zakres był nieznacznie większy, gdy badany preparat stosowano przez cały okres trwania doświadczenia.

## KARNOZYNA I ANSERYNA JAKO PROZDROWOTNE SUBSTANCJE POCHODZENIA ZWIERZĘCEGO

Sylwester Rybaczek, Wioletta Krzynówek, Waław Mozolewski

Katedra Technologii i Chemii Mięsa

Peptydy stanowią bardzo istotną grupę aktywnych składników w mięsie. Do tej pory najlepiej poznanymi peptydami funkcjonalnymi pochodzenia zwierzęcego są peptydy histydylowe, spośród których wyróżniamy karnozynę i anserynę.

Są to dipeptydy występujące naturalnie w mięśniach szkieletowych oraz innych tkankach zwierząt rzeźnych. Karnozyna jest cząsteczką zbudowaną z aminokwasów  $\beta$ -alaniny oraz L-histydyny i wykazuje duże powinowactwo względem wody [1]. Zawartość karnozyny w mięsie drobiowym kształtuje się na poziomie 500 mg/kg w udzie kurczaka, natomiast w mięsie wieprzowym wynosi 2700 mg/kg w łopatce [2].

W organizmie człowieka, zarówno karnozyna, jak i jej metabolity ulegają dalszym przemianom. W reakcji metylacji karnozyny powstaje anseryna. Dipeptydy histydylowe wykazują między innymi właściwości przeciwutleniające podobne do antyoksydantów lipofilnych ze względu na zdolność do chelatowania dwuwartościowych jonów metali takich jak jony miedzi i żelaza [3]. Dowiedziono, że karnozyna powoduje unieczynnienie rodników hydroksylowych i nadtlennokowych, a ponadto usuwa z organizmu tlen singletowy, chloraminy oraz rodniki peroksynitrylowe [4]. Karnozyna wykazuje właściwości buforujące, co ma wpływ na tkanki w których dochodzi często do zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej.

Karnozyna może być wykorzystywana jako potencjalny czynnik o działaniu prozdrowotnym, w szczególności schorzeniach neurologicznych oraz sercowo-naczyniowych, a także metabolicznych. W wyniku działania antyoksydacyjnego i antyglikacyjnego karnozyna ogranicza tworzenie się blaszki  $\beta$ -amyloidowej w mózgu, która odpowiedzialna jest za rozwój choroby Alzheimera. Ponadto wykazano, że dipeptyd ten ogranicza oligomeryzację  $\alpha$ -synukleiny, występującej w ciałkach Lewy'ego stymulowaną rodnikami hydroksylowymi podczas reakcji w środowisku jonów miedzi, co ma miejsce w chorobie Parkinsona [4]. Histydyna jako produkt hydrolizy dipeptydów histydylowych w przewodzie pokarmowym człowieka wpływa na regulację i

poprawę pracy serca wykazując działanie antyarytmiczne [3]. Mechanizm działania antyglukacyjnego i antyoksydacyjnego karnozyny wykorzystywany jest w terapii u osób chorych na cukrzycę typu 1 i 2, u których stwierdza się podwyższenie osocznego stężenia produktów zaawansowanej glikozylacji, a także parametrów stresu oksydacyjnego [4].

1. Manhiani P.S., Dawson P. L., Carnosine. 2012. Presence and Antioxidant Activity in Poultry Protein Meals, Trends in Animal & Veterinary Sciences Journal, 3(1): 1-8.
2. Okoń A., Kęska P., Stadnik J., Dołatowski Z. J. 2015. Surowo dojrzewające produkty mięsne jako źródło składników bioaktywnych, (w:) Trendy w Żywieniu Człowieka, Komitet Nauk o Żywności Polskiej Akademii Nauk, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, 225 – 234.
3. Gawiński Ł., Wierzba T. 2006. Wpływ histydyny na zmienność rytmu serca u szczura, Annual Academy Medicine Gdańsk, 36, 53-61.
4. Zięba R. 2007. Karnozyna – aktywność biologiczna I perspektywy zastosowania w farmakoterapii, Wiadomości Lekarskie, 60(1-2):73-79.

## EKSPRESJA GENÓW ODPOWIEDZIALNYCH ZA EKSPANSJĘ TKANKI TŁUSZCZOWEJ NIE ZALEŻY OD WIEKU

Magdalena Jura<sup>1</sup>, Marika Ziętak<sup>1,2</sup>, Leslie P. Kozak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Biologicznych Funkcji Żywności, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, Olsztyn

<sup>2</sup>Zakład Profilaktyki Chorób Metabolicznych, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, Olsztyn

Główną rolą tkanki tłuszczowej (TT) jest magazynowanie energii. Przewlekły dodatni bilans energetyczny prowadzi do rozrostu tkanki tłuszczowej (RTT); jednakże rozrost ten ma swoje ograniczenia. Chociaż mechanizmy kontrolujące rozwój różnicowania się TT zostały dobrze zbadane, to wciąż brakuje informacji na temat regulacji RTT w całym organizmie. Identyfikacja genów kontrolujących rozmiar i rozrost adipocytów może być nowym celem w zapobieganiu i leczeniu otyłości oraz ewentualnie zapobieganiu rozwojowi insulinooporności wynikającej z otyłości.

W badaniach nad postępującą otyłością zidentyfikowano potencjalne markery kierujące RTT tj. gen *Mest* (z ang. mesoderm specific transcript) i gen kodujący sekrecyjne białko SFRP5 (*Sfrp5*, z ang. secreted frizzled-related protein-5). W doświadczeniu z wykorzystaniem modelu wczesnej otyłości prezentowanym przez myszy z niedoborem genu leptyny i modelu późnej otyłości prezentowanym przez myszy szczepu C57BL/6J z indukowaną otyłością wykazaliśmy, iż równowaga czynników kontrolujących RTT może być w części oszacowana poprzez zróżnicowane profile ekspresji genów *Mest* i *Sfrp5*, których funkcje związane są z magazynowaniem tłuszczu, tak długo jak istnieje aktywne gromadzenie TT; istotne związki pomiędzy ekspresją genów, a otyłością zanikają, gdy fenotyp otyłości jest stały w czasie. Redystrybucja TT w czasie starzenia się, która może być powiązana z chorobami związanymi z wiekiem i profile ekspresji genów *Mest* i *Sfrp5* skierowały naszą uwagę na wiek zwierząt oraz przypuszczalne różnice w regulacji procesu starzenia się TT. Została postawiona hipoteza, iż wiek, w którym następuje rozwój otyłości, wpływa na aktywację genów *Mest* i *Sfrp5*. Dorosłe myszy szczepu C57BL/6J zostały poddane protokołowi żywieniowemu przez okres 4 lub 12 tygodni: (a) 8 lub 20 miesięczne myszy karmione dietą niskotłuszczową (o-STD); (b) 8 lub 20

miesięczne myszy karmione dietą wysokotłuszczową (o-HFD); (c) 2 miesięczne myszy karmione dietą wysokotłuszczową (y-HFD). Niezależnie od wieku, u kontrolnych nieotyłych myszy, o-STD, będących w bilansie energetycznym, przedstawiających stopień otluszczenia (masa tłuszczowa/masa beztłuszczowa) bliski 0.22-0.25, ekspresja genów *Mest* i *Sfrp5* była niewykrywalna. W środowisku sprzyjającym otyłości ekspresja biomarkerów RTT znacząco wzrosła: (i) poziom ekspresji genu *Mest* w trzewnej i podskórnej TT, w obu protokołach żywieniowych (4 i 12 tygodni), był porównywalny dla o-HFD i y-HFD grup myszy; (ii) poziom ekspresji genu *Sfrp5* w tłuszczu podskórnym, w obu protokołach żywieniowych, był porównywalny dla o-HFD i y-HFD grup myszy, ale w obydwu protokołach żywieniowych w tkance trzewnej to o-HFD myszy wykazały znacznie wyższy poziom ekspresji *Sfrp5* w porównaniu do y-HFD grupy myszy. Histologiczna ocena komórek tłuszczowych wykazała (i) podobny rozmiar adipocytów w tkance podskórnej dla o-HFD i y-HFD, i (ii) znacznie większy rozmiar adipocytów w tkance trzewnej dla o-HFD w porównaniu do y-HFD myszy. Ponadto, analiza korelacji wykazała, iż niezależnie od wieku, rodzaju TT (trzewna czy podskórna), lub okresu działania diety wysokotłuszczowej geny *Mest* i *Sfrp5* są współzależne. Podsumowując, porównywanie zmian fenotypowych towarzyszących rozwojowi otyłości i profili ekspresji genów *Mest* i *Sfrp5* pomiędzy y-HFD i o-HFD grupami myszy wykazały, iż ekspresja i indukcja tych genów w podskórnej TT nie zależy od wieku, w którym mysz została poddana działaniu diety wysokotłuszczowej. Co więcej, możliwy jest wspólny mechanizm odpowiedzialny za regulację tych dwóch genów.

**NOTATKI**

**NOTATKI**