

EWA ŻARY-SIKORSKA, JERZY JUŚKIEWICZ

WPLYW FRUKTANÓW O RÓŻNYM STOPNIU POLIMERYZACJI ŁAŃCUCHA WĘGLOWODANOWEGO NA PROCESY FERMENTACYJNE W KOŃCOWYM ODCINKU PRZEWODU POKARMOWEGO U SZCZURÓW DOŚWIADCZALNYCH

Streszczenie

W przeprowadzonym doświadczeniu zbadano wpływ dwóch typów fruktanów o różnym stopniu polimeryzacji łańcucha węglowodanowego: krótkołańcuchowych fruktooligosacharydów (FOS) oraz długołańcuchowej inuliny na fizjologię jelita ślepego u szczurów. W badaniach zastosowano trzy diety: dietę kontrolną zawierającą 7,5% sacharozy i dwie diety doświadczalne zawierające: 8,3% preparatu inuliny (IN) i 7,9% preparatu FOS (FOS) (preparaty komercyjne). Młode samce rasy Wistar (8 osobników w grupie) otrzymywały diety *ad libitum* przez 4 tygodnie. Określono indywidualne spożycie paszy oraz przyrost masy ciała. Pomiarowi podlegały m.in.: masa tkanki i treści jelita ślepego, pH, sucha masa, amoniak, białko, lotne kwasy tłuszczowe (LKT) i aktywność enzymów bakteryjnych w treści jelita ślepego.

Nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy pomiędzy grupami w wielkości spożycia diet oraz przyrostu masy ciała. Spożycie diet zawierających FOS i inulinę spowodowało znaczny wzrost masy ściany i treści jelita ślepego ($P < 0,05$) w stosunku do grupy kontrolnej. W grupach doświadczalnych stwierdzono także wzrost koncentracji białka oraz suchej masy w treści jelitowej. Istotnie niższe ($P < 0,05$) wartości pH i koncentrację amoniaku odnotowano u zwierząt żywionych dietami z FOS i inuliną. Suplementacja diet fruktanami spowodowała wzrost zawartości LKT w przeliczeniu na 100 g masy ciała (pula LKT). Inulina, korzystniej niż FOS wpływała na produkcję LKT, zwłaszcza istotnie zwiększając zawartość kwasu propionowego i masłowego w treści jelita ślepego. Inulina w sposób bardziej korzystny niż FOS oddziaływała również na aktywność enzymatyczną mikroflory jelita ślepego. W grupie IN obserwowano najniższą aktywność β -glukuronidazy, która jest biomarkerem aktywności mikroflory patogennej.

Słowa kluczowe: fruktany, inulina, FOS, lotne kwasy tłuszczowe, enzymy bakteryjne

Wprowadzenie

W krajach wysoko rozwiniętych zwiększa się potrzeba kształtowania prozdrowotnego modelu żywienia człowieka oraz wzrasta zainteresowanie prozdrowotnymi

właściami żywności. Tendencja ta, wynikająca z dużej zachorowalności na schorzenia cywilizacyjne, starzenie się populacji oraz niewłaściwe nawyki żywieniowe skutkujące dużą liczbą ludzi otyłych, staje się przyczyną zwiększonego zainteresowania ochroną zdrowia poprzez dietę [10] oraz przyczyną licznych badań, mających na celu charakterystykę fizjologicznej roli niestrawnych oligo- i polisacharydów [3, 11, 12].

Fruktany są naturalnymi składnikami wielu surowców roślinnych (np: cebuli, czosnku, cykorii), z którymi mogą być spożywane. Do fizjologicznie ważnych cech fruktanów zalicza się ich oporność na trawienie w jelicie cienkim oraz podatność na bakteryjną fermentację w końcowym odcinku przewodu pokarmowego sprzyjającą powstawaniu przyjaznego dla gospodarza ekosystemu [3].

Celem przeprowadzonych badań była analiza fizjologicznego oddziaływanie modelowych diet kazeinowych typu „western” wzbogaconych w preparaty długołańcuchowej inuliny oraz krótkołańcuchowych FOS w końcowym odcinku przewodu pokarmowego szczura.

Materialy i metody badań

Doświadczenie przeprowadzono na 24 młodych samcach rasy Wistar. Wszystkie metody i procedury stosowane w badaniach na szczurach doświadczalnych zostały zaakceptowane przez Lokalną Komisję Etyczną w Olsztynie przy Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim, której podlega Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN w Olsztynie. Szczury podzielono na trzy grupy doświadczalne liczące po 8 osobników. Zwierzęta przebywały w indywidualnych klatkach, w standardowych warunkach: w temperaturze 21–22°C, wilgotności względnej powietrza 50-70% oraz intensywnej wentylacji pomieszczeń (15x/h). Cykl jasność/ciemność wynosił 12 h/12 h. Dobór zwierząt do doświadczenia oraz warunki ich utrzymania były zgodne z powszechnie obowiązującymi zasadami [8]. Szczury żywiono *ad libitum*. Grupie kontrolnej (K) podawano dietę zawierającą 7,5% sacharozy, pozostałe 2 grupy żywiono dietami doświadczalnymi z dodatkiem 8,3% inuliny (IN) (Frutafit Tex, Sensus, Holandia) oraz 7,9% fruktooligosacharydów (FOS) (WPCI, Tokio). Ilości preparatów były tak dobrane, aby zawartość obu typów fruktanów w diecie wynosiła 7,5% (tab. 1).

W czasie całego doświadczenia kontrolowano spożycie diety i przyrosty masy ciała. W końcowej fazie doświadczenia zwierzęta usypiano przy użyciu 20% roztworu uretanu (Sigma) w soli fizjologicznej. Następnie pobierano krew oraz narządy wewnętrzne. Wypreparowane jelita cienkie, ślepe i okrężnicę ważono i mierzono pH treści jelitowej. Następnie pobierano próbki treści jelita ślepego oraz okrężnicy do oznaczenia suchej masy treści oraz białka w treści. W treści jelita ślepego określano ponadto aktywność enzymów bakteryjnych oraz zawartość amoniaku i lotnych kwasów tłuszczowych. Amoniak oznaczano metodą Conway’a, polegającą na wyparciu amoniaku z treści jelitowej przez nasycony roztwór węgla potasu i związanie go przez

kwasy borowe, a następnie miareczkowanie boranu amonowego kwasem siarkowym wobec wskaźnika Ma Zanzaga. Zawartość białka w próbach oznaczano wg Lowry'ego i wsp. [6]. Aktywność enzymów bakteryjnych oznaczano zmodyfikowaną metodą Andrieux i wsp. [1]. Aktywność β -glukuronidazy, α - i β -galaktozydazy, α - i β -glukozydazy mierzono kolorymetrycznie ilością uwolnionego p- lub o-nitrofenolu z odpowiednich substratów. Zawartość lotnych kwasów tłuszczowych w treści jelita ślepego oznaczano metodą chromatografii gazowej. Próby rozcieńczano wodą dejonizowaną, wirowano przy 10 000 obr./min przez 5 min i supernatantu używano do nastrzykiwania na kolumnę. Do analiz użyto chromatografu Shimadzu GC-14A z kolumną szklaną 2,5 m x 2,6 mm zawierającą 10% SP-1200/1% H₃PO₄ na 80/100 Chromosorb W AW. Temperatura kolumny wynosiła 110°C, temp. detektora FID 180°C i temp. w komorze nastrzyku 195°C.

Wyniki badań opracowano statystycznie z zastosowaniem jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA i testu Duncana wielokrotnego rozstępu przy $P \leq 0,05$.

Tabela 1

Skład diet [%].

Composition of the diets [%].

Składnik / Component	Dieta kontrolna Control diet	Inulina / Inulin	FOS
Kazeina / Casein	14,8	14,8	14,8
DL-metionina /DL-methionine	0,2	0,2	0,2
Sacharoza /Saccharose	7,5	-	-
Celuloza /Cellulose	0,6	0,6	0,6
Olej sojowy / Soybean Oil	5,0	5,0	5,0
Smalec / Lard	5,0	5,0	5,0
Cholesterol / Cholesterol	0,5	0,5	0,5
Mieszanka mineralna / Mineral mixture	3,5	3,5	3,5
Mieszanka witaminowa / Vitamin mixture	2,0	2,0	2,0
Preparat FOS / FOS preparation	-	-	7,9
Preparat inuliny / Inulin preparation	-	8,3	-
Skrobia kukurydziana / Maize starch	60,9	60,1	60,5

Wyniki i dyskusja

Zastosowanie w dietach dodatku FOS i inuliny nie miało wpływu na wielkość spożycia diet i przyrostów masy ciała szczurów (tab. 2). Podobne wyniki uzyskano w badaniach innych autorów [5, 7]. Nie stwierdzono istotnego wpływu dodatku fruktanów na

analizowane parametry jelita cienkiego. W grupach IN oraz FOS stwierdzono istotny ($P < 0,05$) wzrost masy tkanki i treści jelita ślepego w porównaniu z grupą kontrolną (K). Podobne rezultaty z zastosowaniem inuliny uzyskali Bielecka i wsp. [2] oraz Gråsten i WSP. [4], a w przypadku FOS Lobo i WSP. [5]. W grupach doświadczalnych odnotowano istotne ($P < 0,05$) obniżenie pH oraz koncentracji amoniaku w treści jelita ślepego. Diety FOS oraz IN spowodowały istotny ($P < 0,05$), w odniesieniu do grupy kontrolnej, wzrost zawartości białka Lowry'ego w treści jelita ślepego. W obu grupach doświadczalnych stwierdzono także wzrost koncentracji suchej masy treści jelita ślepego, jednak w przypadku grupy FOS był on statystycznie nieistotny w odniesieniu do grupy K.

Tabela 2

Parametry fizjologicznego oddziaływania fruktanów.
Parameters of the physiological interactions of fructans.

Parametr / Parameter	Dieta kontrolna Control diet	Inulina Inulin	FOS	SEM
Masa ciała początkowa Initial body weight [g]	103,2	103,2	102,9	–
Masa ciała końcowa / Final body weight [g]	273,1	266,9	261,6	3,495
Przyrost masy ciała / Gain in body weight [g]	169,8	163,6	158,7	2,973
Spożycie diety / Consumption of diet [g]	444,3	447,8	432,8	6,583
FCR [g/g]	2,62	2,74	2,74	0,029
pH żołądka / pH – stomach	3,66	3,91	3,77	0,084
Jelito cienkie / Small intestine:				
tkanka / tissue [g/100g mc]	1,688	1,694	1,636	0,066
treść / Fill [g/100g mc]	0,803	0,934	1,040	0,058
pH treści / pH of the fill	6,02	6,40	6,17	0,104
Jelito ślepe / Blind gut:				
tkanka / tissue [g/100g mc]	0,277 ^b	0,509 ^a	0,542 ^a	0,029
treść / fill [g/100g mc]	1,171 ^b	1,545 ^a	1,684 ^a	0,092
pH treści / pH of the fill	7,15 ^a	6,38 ^b	6,44 ^b	0,115
sucha masa / dry mass [%]	16,78 ^b	19,67 ^a	18,79 ^{ab}	0,467
amoniak / ammonia [mg/100 g]	36,97 ^a	28,29 ^b	29,28 ^b	1,311
białko / protein [mg/g]	0,138 ^b	0,196 ^a	0,218 ^a	0,106
Okreźnica / Colon:				
tkanka [g/100g mc] / tissue	0,396 ^b	0,509 ^a	0,519 ^a	0,018
sucha masa / dry mass [%]	1602 ^b	19,90 ^a	16,82 ^b	0,637
pH treści / pH of the fill	6,85 ^a	6,02 ^b	6,48 ^b	0,099
białko / protein [mg/g]	0,244 ^b	0,264 ^b	0,349 ^a	0,012

T a b e l a 3

Aktywność glikolityczna w treści jelita ślepego [U/g treści].
Glycolytic activity in the blind gut fill [U/g fill].

Enzym / Enzyme	Dieta kontrolna Control diet	Inulina Inulin	FOS	SEM
α -glukozydaza / α -glucosidase	0,81	1,01	1,12	0,078
β -glukozydaza / β -glucosidase	0,25 ^{ab}	0,40 ^a	0,11 ^b	0,049
α -galaktozydaza / α -galactosidase	0,35	0,38	0,35	0,043
β -galaktozydaza / β -galactosidase	2,24 ^{ab}	1,91 ^b	3,99 ^a	0,406
β -glukuronidaza / β -glucuronidase	0,97 ^a	0,50 ^b	0,67 ^{ab}	0,072

T a b e l a 4

Zawartość kwasów tłuszczowych w treści jelita ślepego [μ mol/g treści] oraz w przeliczeniu na 100 g masy ciała [μ mol/100 g mc].

Contents of fatty acids in the blind gut fill [μ mol/g fill] and per 100 g of the body weight [μ mol/100 g of body weight].

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	Dieta kontrolna Control diet	Inulina Inulin	FOS	SEM
Koncentracja LKT [μ mol/g treści] / Concentration of VFA [μ mol/g fill]				
Octowy / Acetic acid	60,05	61,63	57,06	1,467
Propionowy / Propionic acid	17,13 ^b	28,98 ^a	18,34 ^b	1,387
Izo-masłowy / Isobutyric acid	0,81 ^a	0,20 ^b	0,32 ^b	0,078
Masłowy / Butyric acid	8,16 ^c	18,68 ^a	13,27 ^b	1,085
Izo-walerianowy / Isovaleric acid	1,47 ^a	0,70 ^b	0,88 ^b	0,098
Walerianowy / Valeric acid	1,49 ^b	2,82 ^a	1,32 ^b	0,269
Ogółem / Total	89,12 ^b	113,02 ^a	91,19 ^b	2,997
Pula LKT [μ mol/100g mc] / VFA pool				
Octowy / Acetic acid	69,36 ^b	95,94 ^a	98,05 ^a	6,484
Propionowy / Propionic acid	19,50 ^c	45,92 ^a	31,73 ^b	3,459
Izo-masłowy / Isobutyric acid	0,88 ^a	0,31 ^b	0,49 ^b	0,082
Masłowy / Butyric acid	9,95 ^b	28,42 ^a	22,39 ^a	2,093
Izo-walerianowy / Isovaleric acid	1,74	1,10	1,41	0,149
Walerianowy / Valeric acid	1,69 ^b	4,25 ^a	2,39 ^{ab}	0,451
Ogółem / Total	103,12 ^b	175,95 ^a	156,45 ^a	115,04

Diety doświadczalne istotnie wpłynęły na aktywność enzymatyczną mikroflory jelita ślepego (tab. 3). Dieta FOS istotnie ($P < 0,05$) obniżyła aktywność β -glukozydazy w stosunku do diety IN, natomiast dodatek inuliny spowodował istotny ($P < 0,05$) spadek aktywności β -galaktozydazy w odniesieniu do grupy FOS oraz

β -glukuronidazy, będącej biomarkerem aktywności mikroflory patogennej [2], w stosunku do grupy K. Obniżenie aktywności β -glukuronidazy pod wpływem inuliny obserwowano we wcześniejszych badaniach [9], ale także odnotowywano wyniki przeciwnostawne [4].

Grupa IN charakteryzowała się największą koncentracją LKT ogółem, a także kwasów propionowego, masłowego i walerianowego w treści jelita ślepego ($P < 0,05$ vs grupy FOS i K) (tab. 4). Zastosowanie preparatu inuliny i FOS w dietach istotnie ($P < 0,05$) zwiększyło produkcję (pułę) LKT w jelicie ślepym, w tym kwasu octowego i masłowego w przeliczeniu na 100 g masy ciała ($\mu\text{mol}/100 \text{ g mc}$). Wielu autorów wskazuje, że w przypadku niestrawnych oligo- i polisacharydów puła LKT (uwzględniająca ilość treści w jelicie) w lepszy i bardziej precyzyjny sposób opisuje procesy fermentacyjne w jelitach. [3, 12]. W grupie IN wykazano istotny wzrost zawartości kwasu propionowego w odniesieniu do grupy FOS. Podobne wyniki badań uzyskano stosując 5% dodatek inuliny do diety w odniesieniu do wzrostu kwasu masłowego i propionowego w badaniach Zduńczyka i wsp. [11]. W obu grupach doświadczalnych poziom kwasu izo-masłowego uległ istotnemu zmniejszeniu w doniesieniu do grupy kontrolnej.

Wnioski

1. Dodatek fruktanów do diety szczurów nie spowodował przyrostu masy ich ciał, spowodował natomiast znaczny wzrost masy ściany i treści jelita ślepego.
2. Suplementacja diet fruktanami spowodowała wzrost wartości pH i zawartości amoniaku w treści jelitowej, a także wzrost zawartości LKT w przeliczeniu na 100 g masy ciała.

Praca wykonana w ramach grantu P06T00730; była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.

Literatura

- [1] Andrieux C., Pacheco E.D., Bouchet B., Gallan D., Szylit O.: Contribution of the digestive tract microflora to amylo maize starch degradation in the rat. *Brit. J. Nutr.*, 1992, **67**, 489-499.
- [2] Bielecka M., Biedrzycka E., Majkowska A., Juśkiewicz J., Wróblewska M.: Effect of non-digestible oligosaccharides on gut microecosystem in rats. *Food Res. Inter.*, 2002, **35**, 139–144.
- [3] Campbell J.M., Fahey Jr. G.C., Wolf B.W.: Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats. *J. Nutr.*, 1997, **127**, 130–136.
- [4] Gråsten S. M., Pajarib A.M., Liukkonenc K.H., Karppinenc S., Mykkanena H. M.: Fibers with different solubility characteristics alter similarly the metabolic activity of intestinal microbiota in rats fed cereal brans and inulin. *Nutr. Res.*, 2002, **22**, 1435-1444.
- [5] Lobo A. R., Colli C., Filisetti T.: Fructooligosaccharides improve bone mass and biomechanical properties in rats. *Nutr. Res.*, 2006, **26**, 413-420.

- [6] Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biolog. Chem.*, 1951, **193**, 265-275.
- [7] Nzeusseu A., Dienst D., Haufroid V., Depresseux G., Devogelaer J-P., Manicourt D. H.: Inulin and fructo-oligosaccharides differ in their ability to enhance the density of cancellous and cortical bone in the axial and peripheral skeleton of growing rats. *Bone*, 2006, **38**, 394-399.
- [8] Rakowska M., Szkiłłądziowa W., Kunachowicz H.: Wartość biologiczna białka żywności. Wyd. WNT, Warszawa 1978.
- [9] Rowland I.R., Rumney C.J., Coutts J.T., Lievens L.C.: Effect of *Bifidobacterium longum*, and inulin on gut bacterial metabolism, and carcinogen-induced aberrant crypt foci in rats. *Carcinogenesis*, 1998, **19**, 281-285.
- [10] Sibbel A.: The sustainability of functional foods. *Social Science & Medicine*, 2007, **64**, 554-561.
- [11] Zduńczyk Z., Juśkiewicz J., Estrella I.: Cecal parameters of rats fed diets containing grapefruit polyphenols and inulin as single supplements or in a combination. *Nutrition*, 2006, **22**, 898-904.
- [12] Zduńczyk Z., Juśkiewicz J., Wróblewska M., Król B.: Physiological effects of lactulose and inulin in the caecum of rats. *Arch. Anim. Nutr.*, 2004, **58**, 89-98.

**THE EFFECT EXERTED BY FRUCTANS WITH A DIFFERENT POLYMERIZATION
DEGREE OF CARBOHYDRATE CHAIN ON FERMENTATIVE PROCESSES IN THE END
SEGMENT OF THE ALIMENTARY TRACT IN EXPERIMENTAL RATS**

S u m m a r y

In the experiment accomplished, the effect was investigated of two types of fructans: short-chain fructooligosaccharides (FOS) and long-chain inulin, on the blind gut physiology in rats. Three diets were applied in the experiment: control diet (K) contained 7.5% of saccharose, and two other experimental diets contained: 8.3% of inulin (IN) and 7.9% of the FOS preparation (FOS) (commercial preparations). Young male rats of the Wistar breed (8 rats per one group) were fed *ad libitum* during 4 weeks. The individual feed consumption rates and gains in body weight of rats were determined. The following parameters was measured, among other things: the weight of tissue and of blind gut fill, pH, dry matter, ammonia, protein, volatile fatty acids (VFA), and activity of bacterial enzymes in the blind gut fill.

No statistically significant differences in the total dietary food intake rate and in gains in body weight of rats among the experimental groups were found. The consumption of diets containing FOS and inulin caused a considerable increase in the weight of blind gut wall and fill ($P < 0.05$) compared to the control group. In the experimental groups, an increase was found in the concentration rates of protein and dry matter in the blind gut fill. The significantly lower ($P < 0.05$) values of pH and ammonia contents were found in the animals fed with the dietary food containing FOS and inulin. When fructans were added to the dietary food, the level of VFA increased per 100g of the body weight (LFA pool). The inulin impacted the production of VFA more beneficially than FOS, especially, it generated a statistically significantly increase in the content levels of propionate and butyrate acids in the blind gut fill. Furthermore, the inulin impacted the enzymatic activity of blind gut micro-flora more effectively than FOS. In the IN group, the lowest level of the activity of β -glucuronidase was found, whereas the β -glucuronidase is a biomarker of the activity of pathogenic micro-flora.

Key words: fructans, inulin, FOS, volatile fatty acids, bacterial enzymes 