

Cel badań:

Celem proponowanego projektu jest opracowanie metody otrzymywania liposomów z fitosterolami lub ich estrami, badanie ich właściwości fizyko-chemicznych i biologicznych oraz stabilności termiczno-oksydacyjnej.

Uzasadnienie podjęcia badań:

Wśród ostatnich trendów współczesnej technologii żywności jest poszukiwanie nowych produktów o charakterze prozdrowotnym. Niestety znaczna część związków bioaktywnych jest nietrwała i ulega degradacji podczas przetwarzania i przechowywania. Innym problemem jest możliwość ich wchłaniania w układzie pokarmowym człowieka. Zachowanie ich aktywności biologicznej i stabilności oraz zwiększenie absorpcji można uzyskać przez zamknięcie ich wewnątrz liposomów – pęcherzykowatych struktur o rozmiarach kilku mikrometrów stanowiących kapsułki dla substancji bioaktywnych. Takimi związkami o właściwościach funkcjonalnych, a jednocześnie łatwo ulegającym degradacji są sterole roślinne, zwane także fitosterolami.

Sterole roślinne uważane są za antagonistów cholesterolu, gdyż powodują obniżenie jego poziomu w organizmie człowieka. Związki te występują naturalnie w olejach roślinnych, warzywach i pestkach owoców, a także dodawane są do produktów spożywczych jako składniki funkcjonalne. Niestety w organizmie człowieka tylko około 5% dostarczanych fitosteroli ulega wchłonięciu. Dodatkowo, w czasie produkcji żywności oraz jej przechowywania związki te ulegają utlenieniu tworząc pochodne, które mają niekorzystne działanie na organizm człowieka, w tym wykazują właściwości cytotoksyczne, powodują zmiany aterogenne i przyczyniają się do powstawania stresu oksydacyjnego.

Zastosowanie liposomów jako nośników fitosteroli powinno zabezpieczyć je przed degradacją podczas zabiegów termiczno-oksydacyjnych oraz zwiększyć absorpcję w organizmie człowieka. Pozwoli to na zmniejszenie dawki fitosteroli koniecznej do obniżenia poziomu cholesterolu we krwi, co jednocześnie obniży spożycie ich pochodnych utlenionych.

W laboratoriach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu w kooperacji z Uniwersytetem Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu i Uniwersytetem Przyrodniczym we Wrocławiu prowadzone są badania tworzeniem nowych, stabilnych struktur chroniących fitosterole oraz nad wpływem produktów ich degradacji na układ pokarmowy. W dobie powszechnie obecnej żywności wzbogacanej w sterole roślinne istotnym jest, aby fitosterole podawane były w postaci w pełni bezpiecznej dla konsumenta. Skoro dzisiaj wiadomo, że zarówno wolne sterole, jak i ich estry ulegają procesowi utleniania tworząc oksyfitosterole i inne pochodne, opracowanie i zbadanie nowej formy jaką niewątpliwie będzie zamknięcie ich w liposomach, co może pozwolić na stworzenie w pełni bezpiecznej, łatwo wchłanianej formy tych bioaktywnych substancji.

Metoda badawcza:

1. W pierwszym etapie badań zostanie opracowana metoda wytwarzania liposomów zawierających wolne fitosterole lub ich estry z kwasami tłuszczowymi. Struktura otrzymanych związków zostanie potwierdzona metodami fluoroscencyjnymi, chromatograficznymi, FTIR, DSC ora TEM.
2. Uzyskane liposomy zostaną poddane ogrzewaniu w obecności tlenu w temperaturze 60°C i 180°C, które odpowiadają odpowiednio testowi przechowalniczemu oraz smażeniu tłuszczów.
3. Produkty degradacji fitosteroli zostaną oznaczone ilościowo i jakościowo z zastosowaniem takich technik chromatograficznych, jak: GC-FID, GC-MS, GCxGC-MS, HPLC-SEC/ELSD, HPLC-MS w porównaniu z odpowiednimi związkami w formie wolnej lub zestryfikowanej.
4. Produkty termicznej oksydacji fitosteroli i ich estrów zostaną rozfrakcjonowane przy wykorzystaniu technik SPE i HPLC wg ich polarności i wielkości cząsteczek na związki niskocząsteczkowe, monomery, dimery i oligomery. Spośród produktów termicznej oksydacji wyizolowana też będzie frakcja zawierająca pochodne utlenione.
5. Następnie zostaną przeprowadzone badania *in vitro* oceniające cytotoksyczność, genotoksyczność i przenikalność przez błony przed i po ich termicznej oksydacji. Analizy cytotoksyczności zostaną przeprowadzone w odniesieniu do komórek ludzkich wyizolowanych z nabłonka jelita cienkiego, błony śluzowej jelita grubego, wątroby i śródbłonka naczyń.
6. W kolejnym etapie projektu otrzymane liposomy będą poddane procesowi trawienia *in vitro* w celu zbadania ich przemian w układzie pokarmowym. Ich zawartość oraz poziom fitosteroli i ich pochodnych utlenionych będzie oznaczony w komórkach nabłonka układu pokarmowego.
7. W ostatnim etapie zostanie podjęta próba implementacji nowo otrzymanych związków do tłuszczów spożywczych i badanie ich wpływu na jego jakość podczas przechowywania i przetwarzania.

Opracowanie technologii produkcji liposomów z fitosterolami lub ich estrami będzie miało istotne znaczenie dla zdrowia konsumentów, gdyż nie tylko zwiększy absorpcję fitosteroli w organizmie człowieka co wpłynie na większą efektywność w obniżaniu poziomu cholesterolu we krwi człowieka, ale też obniży spożycie związków niekorzystnych, jakimi są oksyfitosterole.