

Jaja s jednym z podstawowych składników w diecie człowieka, dlatego ważne jest zapewnienie bezpieczeństwa tego rodzaju żywności. Konsumentom w doborze składników żywnościowych kierują się m.in. ich wyglądem, dlatego producenci jaj wpływają na zabarwienie jajka poprzez stosowanie odpowiednich dodatków w diecie kur niosek.

Ponieważ nie wszystkie barwniki dostępne są w formie syntetycznej, często otrzymuje się je poprzez ekstrakcję z bogatych w nie roślin. W ten sposób otrzymuje się olejowice, białce dodatkami paszowymi. Coraz częściej stosuje się te pasze z bezpożywnym dodatkiem kwiatów akşamitek, papryki, lucerny, marchwi, suszu pomidorowego, ruty kukurydzianej, suszu z lucerny i traw, czy też pancerzy krabów.

W przeszłości zdarzało się, że producenci w Chinach stosowali toksyczne barwniki zakazane, skuszeni ich niskimi cenami dostępnymi. W 2006 roku w Hongkongu wykryto w jajach kurzych i kaczych barwnik Sudan Red IV, na poziomie sięgającym 300 µg/kg. Nie wiadomo dokładnie, w jaki sposób barwnik ten znalazł się w jajach. Prawdopodobnie był celowo dodany do paszy przeznaczanej do karmienia zwierząt. Barwnik ten należy do grupy barwników azowych, zakazanych jako dodatki do żywności, jednak bardzo często wykrywanych w chilli, papryce czerwonej, curry czy kurkumie. Dzieje się tak, ponieważ przyprawy w trakcie składowania tracą swój kolor, ciemnieją, a dodatek stabilizujących olej-pomarańczowych czy czerwonych barwników azowych ożywia kolory przypraw, co sugeruje lepszą jakość i wartość produktu.

Barwniki azowe badane w ramach projektu przekształcały się w organizmie człowieka do rakotwórczych amin aromatycznych. Sudan I wykazuje działanie genotoksyczne; dane na temat toksyczności pozostałych barwników azowych są niewystarczające, nie można jednak wykluczyć, że ich działanie jest podobne. Obecność w żywności toksycznych metabolitów barwników przemysłowych może zatem stanowić zagrożenie dla konsumenta. W związku z tym, że z papryki w proszku, w której znajdują się barwniki zakazane, uzyskuje się olejowice stosowane następnie jako dodatki paszowe, istnieje możliwość niecelowego podania zwierzętom paszy zawierającej zakazane barwniki.

Celem projektu jest zbadanie stopnia rozkładu wybranych barwników azowych przez wybrane bakterie jelitowe niosek oraz identyfikacja powstałych metabolitów. Planuje się przeprowadzenie badań z udziałem czterech rodzajów bakterii, najczęściej izolowanych od niosek towarowych (*Bacillus subtilis*, *Clostridium perfringens*, *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*) oraz pięciu toksycznych barwników azowych, zakazanych do stosowania w żywności (Sudan I-IV, Czerwiec Para).

Poprzednio prowadzone przez nas badania miały na celu symulację przechodzenia barwnika Sudan I z paszy do jaj. Ich wyniki były zaskakujące. Stopień przechodzenia Sudanu I do jaj był znacznie niższy niż można było tego spodziewać na podstawie jego właściwości fizykochemicznych, a losy barwnika w organizmie kury nie zostały wyjaśnione. Sudan I musiał ulegać jakimś przemianom, ponieważ jego stężenie w odchodach kur było znacznie niższe niż w podawanej paszy. Uzyskane wyniki skłoniły nas do kontynuacji badań ze względu na wysoką toksyczność potencjalnych metabolitów i/lub produktów rozpadu barwnika.

Badania zostaną przeprowadzone z zastosowaniem analizatora elektrochemicznego, zdolnego do przeprowadzania reakcji utleniania i redukcji. Umożliwia on symulację procesów metabolicznych, zachodzących zarówno w komórkach wrobowych, jak i bakteryjnych. Uzyskuje się w ten sposób wszystkie możliwe do wytworzenia metabolity, bez konieczności przeprowadzania badań *in vitro* czy *in vivo*. Uzyskane wyniki są łatwiejsze do interpretacji, ponieważ w badanych próbkach nie ma przeszkadzających w analizie matrycy biologicznej. Technika ta jest tania i coraz częściej stosowana w badaniach nad metabolizmem kszenobiotyków. Pozwala na ograniczenie badań prowadzonych z udziałem linii komórkowych oraz zwierząt, chociaż nie jest w stanie całkowicie zastąpić badań *in vitro* i *in vivo*.

Po przeprowadzeniu symulacji biotransformacji barwników oraz opracowaniu metody ich oznaczania kolejnym etapem będzie ocena rozkładu barwników przez bakterie. Badania zostaną przeprowadzone z udziałem szczepów wzorcowych bakterii *Bacillus subtilis*, *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecalis* oraz *Escherichia coli*. Porówna się je z wynikami uzyskanymi dla szczepów terenowych tych samych rodzajów bakterii jelitowych, wyizolowanych od niosek towarowych. Oceniony zostanie również rozkład barwników przez niesprecyzowaną florę jelitową niosek, otrzymaną poprzez hodowlę „mieszaniny” wszystkich bakterii uzyskanych z kału zwierząt. Do wiadczenia zostanie wykonane z wykorzystaniem flory jelitowej zawartej w kale kur pochodzących z różnych stad, aby jak najlepiej odzwierciedlił rzeczywistą redukcję barwników. Wybór kur niosek jako ródla izolacji bakterii potencjalnie rozkładających barwniki jest uzasadniony skalą konsumpcji produktów drobiarskich oraz preferencjami konsumenta. Uzyskane w projekcie dane dotyczące azo-redukcji przez szczepy referencyjne, izolaty terenowe oraz niespecyficzną florę jelitową kur pozwolą na identyfikację potencjalnego ródla zagrożenia dla zdrowia zwierząt i zdrowia konsumentów oraz identyfikację i wstępny charakterystyk bakterii zdolnych do rozkładu tych związków.

Jak dotychczas nie przeprowadzono tego rodzaju badań z udziałem zwierząt, nie udało się także oznaczyć wszystkich możliwych metabolitów ze względu na trudności w odpowiednim przygotowaniu próbki z hodowli komórkowej. Symulacja procesów metabolicznych w analizatorze elektrochemicznym jest odpowiedzią na te problemy. Opracowana w projekcie metoda oznaczania metabolitów barwników będzie mogła zostać w późniejszym etapie wykorzystana do badań *in vivo* nad ich obecnością w jajach i tkankach zwierząt.