

Cel badań:

Celem proponowanego projektu jest opracowanie metody otrzymywania lipidów ustrukturyzowanych będących hybrydą acylogliceroli ze steroidem roślinnym, badanie ich właściwości fizyko-chemicznych i biologicznych oraz stabilności termiczno-oksydacyjnej.

W celu poprawienia wartości żywieniowej i parametrów funkcjonalnych lipidów poddaje się je różnego rodzaju modyfikacjom. Acyloglicerole i fitosterole są naturalnymi składnikami olejów roślinnych. Stworzenie hybrydy tych związków może wpłynąć na stabilność oksydacyjną i termiczną steroli roślinnych, zwłaszcza jeżeli zastosuje się glicerydy zawierające nasycone kwasy tłuszczowe.

Uzasadnienie podjęcia badań:

Sterole to ważny składnik tłuszczów pełniący istotne funkcje metaboliczne, są źródłem hormonów, prekursorem witaminy D, nieodzownym składnikiem membran komórkowych. Do tej grupy związków należą: (1) sterole pochodzenia zwierzęcego, gdzie głównym przedstawicielem jest cholesterol; (2) sterole pochodzenia roślinnego, zwane fitosterolami, których zidentyfikowano ponad 200 w tłuszczach roślinnych, a głównymi przedstawicielami są: β -sitosterol, awenasterol, kampesterol i stigmasterol oraz (3) sterole wytwarzane przez mikroorganizmy, zwłaszcza grzyby pleśniowe np. ergosterol.

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. Oprócz swoich pozytywnych właściwości, fitosterole podawane w dużych dawkach wpływają na obniżenie poziomu karotenoidów i witaminy E w organizmie. Sterole roślinne w swojej strukturze posiadają od jednego do kilku wiązań podwójnych. Wpływa to na ich stabilność oksydacyjną i tworzenie się pochodnych utlenionych, które mają niekorzystne działanie na organizm człowieka, w tym wykazują właściwości cytotoksyczne, powodują zmiany aterogenne i przyczyniają się do powstawania stresu oksydacyjnego. Podwyższony poziom oksyfitosteroli stwierdzono u ludzi chorych na cukrzycę. Dane literaturowe na temat tych związków są bardzo ograniczone. W laboratoriach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu w kooperacji z Uniwersytetem Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu prowadzone są badania nad wpływem produktów degradacji fitosteroli na komórki prawidłowe układu pokarmowego. Z uzyskanych danych wynika, że związki powstające podczas termicznej degradacji stigmasterolu mają negatywny wpływ na badane komórki. 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 strukturyzowany acylo-glicerol z fitosterolem może pozwolić na stworzenie w pełni bezpiecznej formy tej bioaktywnej substancji.

Metoda badawcza:

1. W pierwszym etapie badań zostanie opracowana metoda chemicznej hybrydyzacji acyloglicerolu ze stigmasterolem. Struktury otrzymanych związków zostaną potwierdzone metodami spektroskopowymi (NMR, IR, HR-MS).
2. Uzyskane związki oraz czysty stigmasterol i jego ester zostaną poddane ogrzewaniu w obecności tlenu w temperaturze 60°C i 180°C, które odpowiadają odpowiednio testowi przechowalniczemu oraz smażeniu tłuszczów.
3. Produkty degradacji stigmasterolu, otrzymanych hybryd acylogliceroli ze stigmasterolem oraz kwasów tłuszczowych zostaną oznaczone ilościowo i jakościowo z zastosowaniem takich technik chromatograficznych, jak: GC-FID, GC-MS, GCxGC-MS, HPLC-SEC/ELSD, HPLC-MS.
4. Produkty termicznej oksydacji stigmasterolu i jego 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 stigmasterolu.
5. Następnie zostaną przeprowadzone badania *in vitro* oceniające cytotoksyczność, genotoksyczność i mutagenność 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. Dodatkowo, w celu wyjaśnienia molekularnego mechanizmu aktywności biologicznej nowo otrzymanych związków, zostaną przeprowadzone badania oddziaływań tych związków z różnymi modelami błon biologicznych i biomolekułami.
7. W kolejnym etapie projektu otrzymane związki będą poddane procesowi trawienia *in vitro* w celu zbadania ich przemian w układzie pokarmowym. Ich zawartość oraz poziom stigmasterolu i jego pochodnych utlenionych będzie oznaczony w komórkach nabłonka układu pokarmowego.
8. W ostatnim etapie zostanie podjęta próba implementacji nowo otrzymanych związków do tłuszczów spożywczych i badanie ich wpływu na jego jakość podczas przechowywania i przetwarzania.