

# Załącznik 2

## Autoreferat

dr Renata Barczyńska-Felusiak

**1. Dane personalne**

Imię i Nazwisko dr Renata Ewa Barczyńska-Felusiak  
Miejsce pracy Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy im. Jana Długosza  
w Częstochowie  
Instytut Chemii, Nauk o Zdrowiu i Żywności  
Katedra Dietetyki i Badań Żywności  
ul: Armii Krajowej 13/15  
42-200, Częstochowa  
e – mail [r.barczynska-felusiak@ajd.czyst.pl](mailto:r.barczynska-felusiak@ajd.czyst.pl); [r.barczynska@gmail.com](mailto:r.barczynska@gmail.com)

**2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe**

- 29.06.2005 Dyplom Ukończenia Studiów Wyższych Zawodowych na kierunku Biotechnologia  
Akademia im. Jana Długosza w Częstochowie  
Wydział Matematyczno-Przyrodniczy  
Temat pracy: „Zastosowanie nowych skrobi modyfikowanych w żywności i żywieniu”  
Opiekun pracy: dr Janusz Kapuśniak
- 29.06.2006 Dyplom Ukończenia Uzupełniających Studiów Magisterskich na kierunku Ochrona Środowiska  
Akademia im. Jana Długosza w Częstochowie  
Wydział Matematyczno-Przyrodniczy  
Temat pracy: „Zastosowanie skrobi modyfikowanych semikarbazydem i tiosemikarbazydem do pułapkowania jonów metali ciężkich”  
Opiekun pracy: dr Janusz Kapuśniak
- 01.03.2011 Stopień Doktora Nauk Technicznych w zakresie Biotechnologii  
Politechnika Łódzka  
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności  
Praca doktorska: „Oporne dekstryny otrzymywane ze skrobi ziemniaczanej jako substancje o właściwościach prebiotycznych”  
Promotor: prof. dr hab. Zdzisława Libudzisz

dr hab. Janusz Kapuśniak, prof. AJD

27.06.2016 Dyplom Ukończenia Kształcenia Podyplomowego  
Poradnictwo dietetyczne – postępy w żywieniu człowieka  
Instytut Żywności i Żywienia im. Prof. dra med. Aleksandra  
Szczygła w Warszawie

### 3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

01.10.2010 - 30.09.2012 Akademia im. Jana Długosza w Częstochowie,  
Instytut Chemii, Ochrony Środowiska i Biotechnologii,  
Katedra Mikrobiologii i Biotechnologii  
Asystent

01.04.2012 - do chwili obecnej Akademia im. Jana Długosza w Częstochowie,  
od czerwca 2018r. Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy  
im. Jana Długosza w Częstochowie  
Instytut Chemii, Ochrony Środowiska i Biotechnologii  
od 01.10.2018r. Instytut Chemii, Nauk o Zdrowiu i Żywności  
Katedra Mikrobiologii i Biotechnologii  
od 01.01.2016r. Zakład Dietetyki i Badań Żywności,  
od 01.10.2018r. Katedra Dietetyki i Badań Żywności  
Adiunkt

### 4. Wskazanie osiągnięcia stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego

Osiągnięciem naukowym wynikającym z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.) jest cykl publikacji naukowych.

#### a. Tytuł osiągnięcia

**Modyfikacja składu mikrobioty jelitowej dzieci z nadwagą i otyłością pod wpływem dekstryn ze skrobi ziemniaczanej i kukurydzianej.**

**b. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia stanowiącego podstawę o ubieganie się o stopień doktora habilitowanego**

- H1 Barczyńska R.**, Bandurska K., Slizewska K., Litwin M., Szalecki M., Libudzisz Z., Kapusniak J. (2015) Intestinal microbiota, obesity and prebiotics. *Polish Journal of Microbiology* 64(2), 93–100, (IF<sub>2015</sub>: 0,697\*, MNiSW: 15pkt\*\*).
- H2 Barczyńska R.**, Litwin M., Slizewska K., Szalecki M., Berdowska A., Bandurska K., Libudzisz Z., Kapusniak J. (2018) Bacterial microbiota and fatty acids in the feces of overweight and obese children. *Polish Journal of Microbiology* 67(3), 339–345, (IF<sub>2017</sub>: 0,784\*, MNiSW: 15pkt\*\*).
- H3 Barczyńska R.**, Kapusniak J., Litwin M., Slizewska K., Szalecki M., Berdowska A., Bandurska K. (2014) Dextrins from potato starch as substances activating the growth of *Bacteroidetes* and *Actinobacteria* simultaneously inhibiting the growth of *Firmicutes*, responsible for the occurrence of obesity. *Journal of Nutritional Ecology and Food Research* 2(4), 340-347, (IF<sub>2014</sub>: 0\*, MNiSW: 0pkt\*\*).
- H4 Barczyńska R.**, Kapusniak J., Litwin M., Slizewska K., Szalecki M. (2016) Dextrins from maize starch as substances activating the growth of *Bacteroidetes* and *Actinobacteria* simultaneously inhibiting the growth of *Firmicutes*, responsible for the occurrence of obesity. *Plant Foods for Human Nutrition* 71, 190-196, (IF<sub>2016</sub>: 2,368\*, MNiSW: 35pkt\*\*).
- H5 Barczyńska R.**, Slizewska K., Litwin M., Szalecki M., Zarski A., Kapusniak J. (2015) The effect of dietary fiber preparations from potato starch on the growth and activity of bacterial strains belonging to the phyla *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, and *Actinobacteria*. *Journal of Functional Foods* 19, 661–668, (IF<sub>2015</sub>: 3,574\*, MNiSW: 45pkt\*\*).
- H6 Barczyńska R.**, Slizewska K., Litwin M., Szalecki M., Kapusniak J. (2016) Effects of dietary fiber preparations made from maize starch on the growth and activity of selected bacteria from the *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, and *Actinobacteria* phyla in fecal samples from obese children. *Acta Biochimica Polonica* 63, 1-6, (IF<sub>2016</sub>: 1,187\*, MNiSW: 15pkt\*\*).

**H7 Barczyńska R., Jurgoński A., Slizewska K., Juśkiewicz J., Kapuśniak J. (2017) Effects of potato dextrin on the composition and metabolism of the gut microbiota in rats fed standard and high-fat diets. Journal of Functional Foods 34, 398–407, (IF<sub>2016</sub>: 3,144\*, MNiSW: 45pkt\*\*).**

\*IF impact factor zgodny z rokiem opublikowania lub w przypadku publikacji z 2018 roku podano IF z roku 2017, dostępny na Web of Science.

\*\*pkt MNiSW – punkty zgodne z wykazem opublikowanym przez MNiSW w dniu 26 stycznia 2017.

Oświadczenia współautorów odnośnie ich udziału we wspólnych publikacjach stanowiących jednotematyczny cykl zostały zamieszczone w **załączniku 5**.

Osiągnięcie będące podstawą ubiegania się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk rolniczych zostało przedstawione w publikacjach o łącznej wartości współczynnika **IF = 11,754 (170 pkt MNiSW)**.

Ponadto pozostałe osiągnięcia naukowe przedstawione zostały w publikacjach o wartości współczynnika **IF = 16,26 (276 pkt MNiSW)**

Sumaryczny impact factor według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania: **IF = 28,014, łączna liczba punktów zgodnie z kryteriami MNiSW wynosi 446**

Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science (WoS): **94 (bez autocytowań 74)**

Indeks Hirscha według bazy Web of Science (WoS): **6**

### **c. Omówienie celu naukowego w/w prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania**

Mikrobiota jelitowa pełni istotne znaczenie w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu człowieka, wpływając między innymi na zachodzące w nim procesy metaboliczne oraz funkcje immunologiczne i fizjologiczne (Neish, 2002; Stewart i wsp., 2004; Nicholson i wsp., 2005; Walker and Lawley 2013; Milani i wsp., 2016; Zhernakova i wsp., 2016). W ostatnich latach podkreśla się rolę mikrobioty jelitowej w rozwoju chorób przewlekłych, takich jak otyłość, cukrzyca typu 2, nieswoiste zapalenie jelit czy rak jelita grubego (Tamboli i wsp., 2004; Backhed i wsp., 2004; Backhed i wsp., 2007; Tannock, 2008; Feng i wsp., 2010; De Filippo

i wsp., 2010; DuPont i DuPont, 2011; Milani i wsp., 2016; Lim i wsp., 2017, Vandeputte i wsp., 2017a).

Otyłość została uznana epidemią XXI wieku i związana jest zarówno z wpływem czynników środowiskowych jak i genetycznych. Według badań Instytutu Żywności i Żywienia odsetek dzieci i młodzieży z nadwagą i otyłością w Polsce wynosił w 1995 roku niemal 9 procent, a w roku 2000 już ponad 11 procent. W kolejnych latach systematycznie przybywa otyłych dzieci. Obecnie nadwaga lub otyłość dotyka w Polsce niemal 16 procent dzieci i młodzieży. Polskie obserwacje potwierdza raport Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), z którego wynika, że w ciągu ostatnich 20 lat w naszym kraju trzykrotnie wzrosła liczba dzieci z nadwagą. W Europie otyłe jest co czwarte dziecko. Otyłość u dzieci i młodzieży predysponuje do wystąpienia u nich poważnych chorób: cukrzycy, schorzeń układu krążenia, układu kostnego oraz zespołu metabolicznego.

Wiele badań wskazuje, że nadwaga i otyłość związana jest między innymi w znacznym stopniu ze zmianami w kompozycji i funkcji metabolicznej mikrobioty jelit. Uznaje się, iż szczególnie istotne jest zachowanie prawidłowej proporcji szczepów bakterii należących do typów *Bacteroidetes* i *Firmicutes* (Ley i wsp., 2006; Sanz i Santacruz, 2008). Badania zespołów Backhed, Gordona i De Filippo wykazały, że u osób otyłych dominującymi są bakterie z typu *Firmicutes* (około 60-80%), a udział *Bacteroidetes* jest znacznie mniejszy (około 20-40%) niż u osób szczupłych (Backhed i wsp., 2004; Ley i wsp., 2006; Backhed i wsp., 2007; De Filippo i wsp., 2010; Canfora i wsp., 2015; Lu i wsp., 2016; Raza i wsp., 2017).

Dieta wpływa bezpośrednio na skład i aktywność mikrobioty jelit, a ta na powstawanie nadwagi i otyłości. Dlatego w swoich badaniach zajęłam się wykorzystaniem preparatów (substancji, związków), które byłyby dobrze tolerowane przez organizm, a jako dodatek do diety stymulowały wzrost korzystnych dla zdrowia mikroorganizmów. Swoje badania skoncentrowałam na produktach skrobiowych, takich jak preparaty błonnikowe - odporne dekstryny otrzymywane ze skrobi ziemniaczanej i kukurydzianej, udowadniając ich właściwości prebiotyczne zarówno w badaniach *in vitro* jak i *in vivo*.

Według Roberfroid i wsp. (2010) prebiotyki definiujemy jako substancje „the selective stimulation of growth and/or activity(ies) of one or a limited number of microbial genus(era)/species in the gut microbiota that confer(s) health benefits to the host”. Obecnie Gibson i wsp. (2017) sprecyzowali i uaktualnili definicję podając, że prebiotyk definiujemy jako substrat, który jest selektywnie wykorzystywany przez mikroorganizmy gospodarza, przynosząc korzyści zdrowotne. Swoją skuteczność prebiotyki zawdzięczają temu, że nie są

hydrolizowane i wchłaniane w górnych odcinkach przewodu pokarmowego, dzięki czemu w niezmienionej postaci docierają do jelita grubego, gdzie stanowią pożywkę dla korzystnych dla zdrowia bakterii (Roberfroid, 2002). Czynniki przemawiającymi za korzystnym działaniem prebiotyków są takie właściwości jak: hamowanie rozwoju drobnoustrojów patogennych w wyniku aktywacji mikroorganizmów fermentujących i obniżenia pH, skracanie czasu pasażu jelitowego i przyspieszanie przemiany materii, obniżanie poziomu cholesterolu oraz odpowiedzi glikemicznej gospodarza, obniżanie zapotrzebowania na energię, zwiększanie biodostępności składników mineralnych, zapobieganie tzw. biegunkom podróżnych, zmniejszanie ryzyka chorób układu pokarmowego – w tym nowotworów (FAO; Vernazza i wsp., 2006; Roberfroid, 2007; Slavin, 2013; Beserra i wsp., 2015; Rastall i Gibson 2015; Christodoulides i wsp. 2016; Fernandes i wsp., 2017; Hume i wsp., 2017; Nicolucci i Reimer, 2017; Vandeputte i wsp., 2017b). Mechanizm działania prebiotyków jest złożony, wpływają one między innymi na przebieg procesów biochemicznych zachodzących w jelitach oraz na zwiększenie liczebności bakterii korzystnych, głównie sacharolitycznych, konkurujących z patogenami, biorą udział w blokowaniu receptorów w śluzówce jelit, co zapobiega adhezji przez bakterie chorobotwórcze, odżywianiu kolonocytów przez SCFA powstających w procesie fermentacji prebiotyków (Rastall i wsp., 2005; Ouwehand i wsp., 2005; Hutkins i wsp., 2016; Koh i wsp., 2016). Właściwości oraz mechanizm działania prebiotyków opisałam w publikacjach Śliżewska i wsp., 2013; Barczyńska, 2014; Kapusniak i wsp., 2014; Barczyńska i wsp., 2015.

**Celem badań stanowiących osiągnięcie naukowe było określenie składu i proporcji mikroorganizmów w kale polskich dzieci z nadwagą i otyłością oraz sprawdzenie czy różnią się od składu bakterii kałowych polskich dzieci z prawidłową masą ciała jak, również wykazanie czy dekstryny otrzymane ze skrobi ziemniaczanej lub kukurydzianej, mogą aktywować wzrost dominujących rodzajów bakterii *Bacteroides*, *Prevotella* i *Bifidobacterium*, należących do typów *Bacteroidetes* oraz *Actinobacteria* i ograniczać wzrost *Clostridium*, *Lactobacillus* należących do typu *Firmicutes*, tym samym modyfikować proporcje bakterii uznanych za istotne dla zmniejszenia rozwoju nadwagi i otyłości u dzieci. Weryfikacja przyjętego celu badań prowadzona była w oparciu o eksperymenty laboratoryjne z wykorzystaniem metod *in vitro* oraz *in vivo* na szczurach.**

Cel i zakres badań obejmował:

1. Aktualny stan wiedzy na temat roli mikrobioty jelit w utrzymaniu prawidłowej masy oraz wpływu mikrobioty jelit na prewencję i leczenie otyłości.

2. Określenie liczebności oraz proporcji bakterii dominujących w jelitach należących do rodzaju *Bacteroides*, *Prevotella* (typ *Bacteroidestes*); *Clostridium*, *Lactobacillus* (typ *Firmicutes*) oraz *Bifidobacterium* należących do typu *Actinobacteria* w kale 10 polskich dzieci w wieku od 5 do 15 lat z nadwagą (BMI 25,68-29,48), 10 dzieci z otyłością (BMI 31,71 – 41,18). Grupę kontrolną stanowiło 20 dzieci o prawidłowej masie ciała (BMI 18,5-22,38).
3. Wykazanie czy dominujące w jelitach bakterie *Bacteroides*, *Prevotella* (*Bacteroidestes*); *Clostridium*, *Lactobacillus* (*Firmicutes*) oraz *Bifidobacterium* (*Actinobacteria*) wyizolowane z kału dzieci z nadwagą i otyłością oraz z prawidłową masą ciała są zdolne do wykorzystania jako jedyne źródło węgla dekstryn ziemniaczanych lub kukurydzianych oraz określenie wpływu tych dekstryn na liczebność i proporcje głównych typów wyizolowanych bakterii jelitowych we wspólnej hodowli.
4. Określenie rodzaju i stężenia produktów fermentacji bakterii izolowanych z kału dzieci z nadwagą i otyłością oraz z prawidłową masą ciała w pożywce z dodatkiem dekstryn ziemniaczanych lub kukurydzianych.
5. Sprawdzenie czy dekstryny ziemniaczane i kukurydziane mogą aktywować wzrost dominujących w jelitach bakterii *Bacteroides*, *Prevotella* (*Bacteroidestes*) oraz *Bifidobacterium* (*Actinobacteria*), a ograniczać wzrost szczepów *Clostridium* i *Lactobacillus* (*Firmicutes*) (badania *in vitro* prowadzone bezpośrednio w kale dzieci).
6. Określenie wpływu dekstryny ziemniaczanej, podawanej szczurom w diecie nisko i wysokotłuszczowej na liczebność i udział dominujących w jelitach bakterii *Bacteroides*, *Prevotella*, *Clostridium*, *Lactobacillus* oraz *Bifidobacterium*. Badania *in vivo* na szczurach.
7. Analiza podstawowych wskaźników funkcjonowania przewodu pokarmowego szczurów, produkcja kwasu mlekowego, stężenie i rodzaj krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych oraz aktywność glikolityczna w treści jelita ślepego szczurów karmionych dietą nisko i wysokotłuszczową wzbogaconą w dekstrynę ziemniaczaną. Badania *in vivo* na szczurach.

W swoich badaniach wykorzystałam dwa rodzaje dekstryn opornych ze skrobi ziemniaczanej i dwa rodzaje ze skrobi kukurydzianej otrzymane w wyniku równoczesnej termolizy i modyfikacji chemicznej w obecności kwasu nieorganicznego (kwas chlorowodorowy) jako katalizatora procesu dekstrynizacji oraz kwasu organicznego (kwas cytrynowy lub winowy) jako czynnika modyfikującego. Proces otrzymywania opornych dekstryn ze skrobi ziemniaczanej został opatentowany (PL.220965 Jochym i wsp., 2015, PL.221497 Kapuśniak i wsp., 2015). Sposób otrzymywania dekstryn kukurydzianych był



analogiczny jak ziemniaczanych różnił się jedynie czasem ogrzewania (Jochym i wsp., 2012). Oporne dekstryny są produktem własnym, opatentowanym, wytwarzanym w Katedrze Dietetyki i Badań Żywności w Uniwersytecie Humanistyczno-Przyrodniczym im. Jana Długosza w Częstochowie.

Wykorzystywane dekstryny były badane wcześniej (Barczyńska, 2010, Barczyńska i wsp., 2012, 2014, 2015) i wykazano, że rozpuszczalność dekstryn otrzymanych ze skrobi ziemniaczanej wynosiła 63-68%, rozpuszczalność dekstryn otrzymanych ze skrobi kukurydzianej była wyższa i wynosiła 95%. Średnia wagowo masa cząsteczkowa ( $M_w$ ) dekstryn otrzymanych ze skrobi ziemniaczanej wynosiła 1828 g/mol (śr. DP = 11 dekstryna modyfikowana kwasem winowym) oraz  $4,8 \cdot 10^3$  g/mol (śr. DP = 25 – 30 dekstryna modyfikowana kwasem cytrynowym). W dekstrynie kukurydzianej modyfikowanej kwasem cytrynowym dominowała frakcja o średnim DP = 20, stanowiąca 92%, natomiast w dekstrynie modyfikowanej kwasem winowym dominowała frakcja o DP = 18, która stanowiła 85% całej frakcji. Modyfikacja skrobi ziemniaczanej i kukurydzianej kwasem cytrynowym lub winowym prowadziła do wzrostu zawartości frakcji nietrawionej, aż do 65-70% (Barczyńska, 2010, Jochym i wsp., 2012). Dekstryny te w badaniach *in vitro* na szczepach kolekcyjnych wykazują właściwości prebiotyczne aktywując wzrost bakterii korzystnych dla zdrowia gospodarza (*Lactobacillus* i *Bifidobacterium*), a ograniczają wzrost szczepów patogennych (*Clostridium*). W wyniku fermentacji tych dekstryn korzystne bakterie jelitowe (*in vitro*), wytwarzają zwiększone ilości kwasu mlekowego oraz SCFA (Barczyńska 2010, Barczyńska i wsp., 2012, 2014, 2015).

### **1. Rola mikrobioty jelit w utrzymaniu prawidłowej masy oraz wpływ mikrobioty jelit na prewencję i leczenie otyłości (analiza literatury).**

Przegląd literatury, pozwolił mi na poznanie aktualnych badań dotyczących wpływu mikrobioty jelit na utrzymanie prawidłowej masy ciała oraz możliwości jej wpływu na prewencję i leczenie otyłości. Dane zestawiałam w publikacji H1: **Barczyńska R, Bandurska K., Słizewska K., Litwin M., Szalecki M., Libudzisz Z., Kapusniak J. (2015) Intestinal microbiota, obesity and prebiotics. Polish Journal of Microbiology 64(2), 93–100, (IF<sub>2015</sub>: 0,697, MNiSW: 15pkt).**

Na podstawie danych literaturowych wykazałam, że wiele badań wskazuje, iż rozwój nadwagi i otyłości jest ściśle skorelowany ze zmianami składu mikrobioty jelitowej. U osób z nadwagą i otyłością dominują szczepy bakterii należące do typu *Firmicutes*, natomiast szczepy z typu *Bacteroidetes* są w mniejszości; u osób z prawidłową masą ciała proporcje te są odwrotne. Mechanizmy wpływu mikrobioty jelit na rozwój lub ograniczenie powstawania

otyłości nie są jednak do końca znane. Stwierdza się, że otyłość związana jest z podwyższonym poziomem w osoczu lipopolisacharydu (LPS) będącego składnikiem ściany komórkowej bakterii Gram ujemnych. Jak również wykazano, że w genezie otyłości istotną funkcję może pełnić fosfataza alkaliczna (IAP), która bierze udział w degradacji lipidów pochodzących z pokarmu oraz odgrywa ważną rolę w detoksykacji LPS. Stwierdzono, że ekspresja IAP może być kontrolowana przez mikrobiotę jelitową. Kolejnym czynnikiem łączącym mikrobiotę jelit z otyłością jest blokowanie przez mikrobiotę ekspresji czynnika tkankowego indukowanego głodem (FIAF). FIAF hamuje działanie lipazy lipoproteinowej (LPL) enzymu odpowiedzialnego za magazynowanie energii w postaci tłuszczu. Obniżona ekspresja FIAF warunkuje zwiększoną aktywność LPL i wzmożenie procesu magazynowania energii w postaci tłuszczu. Istnieją dowody, że mikrobiota jelit moduluje czynność układu endokannabinoidowego, a tym samym ma wpływ na funkcję bariery jelitowej. W związku z tym, że do tej pory rola mikrobioty jelit w utrzymaniu prawidłowej masy ciała nie jest do końca znana, a wyniki badań nie są jednoznaczne i często wykluczające się oraz fakt, że w literaturze nie znalazłam informacji na temat badań mikrobioty jelit polskich dzieci z nadwagą i otyłością postanowiłam zająć się tym zagadnieniem i ustalić proporcję liczbowo dominujących w jelitach bakterii *Bacteroides*, *Prevotella*, należących do typu *Bacteroidetes*; *Clostridium*, *Lactobacillus* należących do typu *Firmicutes* w kale dzieci z nadwagą (BMI 25,68-29,48) i otyłością (BMI 31,71 – 41,18) oraz dzieci z prawidłową masą ciała (BMI 18,5-22,38). Ponadto kontrolowałam liczebność *Bifidobacterium* z typu *Actinobacteria* niezwykle korzystnych dla zdrowia dzieci.

**2. Liczebność oraz proporcje bakterii dominujących w jelitach z rodzaju *Bacteroides*, *Prevotella* (typ *Bacteroidetes*); *Clostridium*, *Lactobacillus* (typ *Firmicutes*) oraz *Bifidobacterium* (typ *Actinobacteria*) w kale 10 polskich dzieci w wieku od 5 do 15 lat z nadwagą (BMI 25,68-29,48), 10 dzieci z otyłością (BMI 31,71 – 41,18). Grupę kontrolną stanowiło 20 dzieci o prawidłowej masie ciała (BMI 18,5-22,38).**

Wyniki badań mające na celu określenie proporcji szczepów *Firmicutes*, *Bacteroidetes* oraz *Actinobacteria* w kale dzieci z nadwagą (BMI 25,68-29,48) i otyłością (BMI 31,71- 41,18) oraz dzieci o prawidłowej masie ciała (BMI 18,5-22,38) przedstawiłam w publikacji H2: Barczyńska R., Litwin M., Słizewska K., Szalecki M., Berdowska A., Bandurska K., Libudziś Z., Kapusniak J. (2018) Bacterial microbiota and fatty acids in the feces of overweight and

**obese children. Polish Journal of Microbiology 67(3), 339–345, (IF<sub>2017</sub>: 0,784, MNiSW: 15pkt).**

Analizowałam kał reprezentatywnej grupy dzieci w wieku od 5 do 15 lat z nadwagą i z otyłością oraz z prawidłową masą ciała, wybranej w oparciu o ankiety przeprowadzone wśród pacjentów Instytutu „Pomnik - Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie. Do badań wybrałam grupę dzieci, ponieważ w ostatnich latach u nich obserwujemy istotny wzrost częstości występowania otyłości. Materiał badawczy stanowił kał, najlepiej odzwierciedlający warunki panujące w jelicie grubym *in vivo*, jest łatwo dostępny i dostarcza wielu oryginalnych wyników. W kale dzieci z nadwagą i otyłością i w kale dzieci o prawidłowej masie ciała określiłam liczebność bakterii *Bacteroides*, *Prevotella* (typ *Bacteroidetes*), *Lactobacillus*, *Clostridium* (typ *Firmicutes*) oraz *Bifidobacterium* (typ *Actinobacteria*). Bakterie identyfikowałam metodą fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH). Przynależność badanych szczepów do danego rodzaju i typu potwierdziłam wykorzystując reakcje 16S rRNA. Dodatkowo sprawdziłam, czy istnieje zależność pomiędzy występowaniem określonych grup bakterii w kale dzieci z nadwagą i otyłością a spożywaną dietą i czynnikami środowiskowymi. Oznaczyłam także w kale stężenie kwasu mlekowego oraz stężenie i rodzaj SCFA i BCFA.

Wykazałam, że w kale dzieci z nadwagą i otyłością z pośród pięciu badanych rodzajów bakterii dominowały należące do rodzaju *Clostridium*, ich średnia liczebność wynosiła 8,03 Log 10 kom/g, natomiast w kale dzieci z prawidłową masą ciała średnia liczba tych bakterii była niższa o około 14%. W kale dzieci z prawidłową masą ciała dominującymi były *Bacteroides* (8,57 Log 10 kom/g) oraz *Bifidobacterium* (9,07 Log 10 kom/g). W kale dzieci z nadwagą i otyłością liczebność tych bakterii była niższa: *Bacteroides* o około 20%, a *Bifidobacterium* o około 18%. Również wykazałam niższą o 30% liczebność *Prevotella* u dzieci z nadwagą i otyłością niż u dzieci z prawidłową masą ciała. Liczebność szczepów *Lactobacillus* w kale dzieci z nadwagą i otyłością oraz z prawidłową masą ciała była zbliżona; wynosiła odpowiednio 7,77 Log 10 kom/g i 7,81 Log 10 kom/g. Wykazałam, że w kale dzieci z nadwagą i otyłością bakterie *Clostridium* i *Lactobacillus* należące do typu *Firmicutes* stanowiły większość, średnio 45,9% badanych bakterii (dominował rodzaj *Clostridium*), natomiast *Bacteroides* i *Prevotella* należące do typu *Bacteroidetes* stanowiły 32,4%, a *Bifidobacterium* (typ *Actinobacteria*) 21,7%. W kale dzieci z nadwagą i otyłością rozkład proporcji głównych typów bakterii był odmienny niż u dzieci z prawidłową masą ciała. W kale dzieci z prawidłową masą ciała liczebność bakterii *Bacteroides* i *Prevotella* należących do typu *Bacteroidetes* oraz *Clostridium* i *Lactobacillus* należących do typu *Firmicutes* była podobna i wynosiła około 39% badanej populacji bakterii, liczebność *Actinobacteria* wynosiła 22%. Szczególnie istotne podwyższenie liczebności bakterii *Firmicutes*, głównie z rodzaju *Clostridium*, a zmniejszenie *Bacteroidetes* zaobserwowałam w kale dzieci skrajnie otyłych

(otyłość III<sup>o</sup>, których wskaźnik BMI wynosił 40,1; średni BMI-SDS 2,4) *Clostridium* i *Lactobacillus* (typ *Firmicutes*) stanowiły 54%, *Bacteroides* i *Prevotella* (typ *Bacteroidetes*) 25%, *Bifidobacterium* (typ *Actinobacteria*) 21%. Jest to ważne stwierdzenie, gdyż **potwierdza hipotezę, że mikrobiota jelit także polskich dzieci może stanowić jeden z markerów otyłości**. W badaniach dotyczących nawyków żywieniowych i stylu życia dzieci z nadwagą i otyłością stwierdziłam, że dzieci z tej grupy często spożywały duże ilości czerwonego mięsa, wykazywały brak aktywności fizycznej, biernie spędzały czas wolny. Zaobserwowałam również, że 95% dzieci z nadwagą i otyłością miało otyłych rodziców. W kale dzieci z nadwagą i otyłością stężenie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA) było niższe o 34%, BCFA o 18% oraz niższe o 40% stężenie kwasu mlekowego niż w kale dzieci z prawidłową masą ciała. **Są to pierwsze badania przedstawiające skład i proporcje bakterii należących do głównych typów mikrobioty kału polskich dzieci z nadwagą i otyłością oraz z prawidłową masą ciała.**

Wykazałam, że w kale dzieci z nadwagą i otyłością dominują szczepy *Clostridium* z typu *Firmicutes*, a *Bacteroides* i *Prevotella* z typu *Bacteroidetes* są w mniejszości, natomiast w kale dzieci z prawidłową masą ciała proporcje są odwrotne, mikrobiota jelit może więc stanowić jeden z markerów nadwagi i otyłości. Dodatkowo wykazałam, że liczebność *Bifidobacterium* (typ *Actinobacteria*) jest niższa w kale dzieci otyłych, a zatem prawdopodobnie i *Bifidobacterium* może być markerem otyłości.

Z kału 10 dzieci z nadwagą i 10 dzieci z otyłością wyizolowałam 100 szczepów, które za pomocą metod genetycznych zidentyfikowałam do typu i rodzaju. Odpowiednio wyizolowałam po 20 szczepów bakterii *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Prevotella*, *Bacteroides* i *Clostridium*. Z kału 20 dzieci z prawidłową masą ciała również wyizolowałam 100 szczepów z rodzaju: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Prevotella*, *Bacteroides* i *Clostridium*. Wykorzystując bogatą kolekcję wyizolowanych szczepów pochodzących z kału dzieci z nadwagą i otyłością oraz z prawidłową masą ciała w kolejnym etapie badań sprawdziłam zdolność tych bakterii do wykorzystywania dekstryn jako źródła węgla.

**3. Zdolność bakterii *Bacteroides*, *Prevotella* (typ *Bacteroidetes*); *Clostridium*, *Lactobacillus* (typ *Firmicutes*) oraz *Bifidobacterium* (typ *Actinobacteria*) wyizolowanych z kału dzieci z nadwagą i otyłością oraz z prawidłową masą ciała do wykorzystania jako jedynego źródła węgla dekstryn ziemniaczanych i kukurydzianych oraz wpływ tych dekstryn na liczebność i proporcje głównych typów wyizolowanych bakterii jelitowych we wspólnej hodowli.**

Wyniki tych badań przedstawiłam w dwóch artykułach:

**H3: Barczyńska R., Kapusniak J., Litwin M., Slizewska K., Szalecki M., Berdowska A., Bandurska K. (2014) Dextrins from potato starch as substances activating the growth of *Bacteroidetes* and *Actinobacteria* simultaneously inhibiting the growth of *Firmicutes*, responsible for the occurrence of obesity. Journal of Nutritional Ecology and Food Research 2(4), 340-347, (IF<sub>2014</sub>: 0, MNiSW: 0pkt.).**

**H4: Barczyńska R., Kapusniak J., Litwin M., Slizewska K., Szalecki M. (2016) Dextrins from maize starch as substances activating the growth of *Bacteroidetes* and *Actinobacteria* simultaneously inhibiting the growth of *Firmicutes*, responsible for the occurrence of obesity. Plant Foods for Human Nutrition 2016, 71, 190-196, (IF<sub>2016</sub>: 2,368, MNiSW: 35pkt).**

Wykazałam, że niezależnie od pochodzenia i sposobu otrzymywania dekstryn wyizolowane szczepy w podobnym stopniu wykorzystywały je jako jedyne źródło węgla.

W hodowli wspólnej wyizolowanych szczepów bakterii w pożywce z dodatkiem dekstryn ziemniaczanych jako jedyne źródła węgla najlepiej wykorzystywały je szczepy *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* (ich liczebność wynosiła od 8,28 do 8,6 Log jtk/ml) niezależnie od źródła izolacji (kału dzieci z nadwagą i otyłością czy z prawidłową masą ciała). Słabiej wykorzystywały dekstryny ziemniaczane szczepy *Bacteroides*, *Clostridium* i *Prevotella*; ich liczebność wynosiła od 7,59 do 7,94 Log jtk/ml. Jedynie szczepy *Bacteroides* wyizolowane z kału dzieci z nadwagą i otyłością w hodowli wspólnej z dodatkiem dekstryny ziemniaczanej modyfikowanej kwasem cytrynowym rosły nieznacznie słabiej (o 6%) niż w hodowli tych szczepów izolowanych z kału dzieci z prawidłową masą ciała.

Dekstrynę kukurydzianą najlepiej wykorzystywały szczepy *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* (ich liczebność wynosiła od 8,28 do 8,54 Log jtk/ml), naj słabiej *Bacteroides* wyizolowane zarówno z kału dzieci z nadwagą i otyłością, jak i z prawidłową masą ciała (liczebność bakterii wynosiła od 7,58 do 7,88 Log jtk/ml). Szczepy *Bifidobacterium* wyizolowane z kału dzieci z nadwagą i otyłością, aktywniej rosły w pożywce z dekstryną modyfikowaną kwasem winowym niż szczepy *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* izolowane z kału dzieci o prawidłowej masie ciała. Liczebność szczepów *Prevotella* i *Clostridium* izolowanych z kału dzieci z nadwagą i otyłością była porównywalna i wynosiła od 7,83 do 8,13 Log jtk/ml, natomiast od dzieci z prawidłową masą ciała wynosiła od 7,90 do 8,20 Log jtk/ml.

Proporcje badanych bakterii należących do typów *Bacteroidetes* (*Bacteroides*, *Prevotella*), *Firmicutes* (*Lactobacillus*, *Clostridium*) oraz *Actinobacteria* (*Bifidobacterium*) w hodowlach prowadzonych w pożywkach zarówno z dekstrynami ziemniaczanymi jak i kukurydzianymi niezależnie od zastosowanej w pożywce dekstryny i od faktu czy szczepy izolowane były z kału dzieci z nadwagą i otyłością, czy z prawidłową masą ciała były bardzo zbliżone. W hodowli z dekstrynami ziemniaczanymi jak i kukurydzianymi bakterie należące do typu *Firmicutes* stanowiły 40-41% całej populacji bakterii w hodowli, bakterie należące do typu *Bacteroidetes* stanowiły 38-39% populacji, natomiast bakterie należące do typu *Actinobacteria* stanowiły 21-22% wszystkich badanych bakterii.

Stwierdziłam, że sposób otrzymywania dekstryny ziemniaczanej czy kukurydzianej i fakt, że do procesu otrzymywania dekstryn zostały zastosowane różne kwasy organiczne (cytrynowy, winowy) nie powodował istotnych różnic we wzroście i proporcjach badanych bakterii *Bacteroides*, *Prevotella* (*Bacteroidetes*), *Lactobacillus*, *Clostridium* (*Firmicutes*) oraz *Bifidobacterium* (*Actinobacteria*), a zatem dekstryny te wykorzystywane były jako źródło węgla w podobnym stopniu.

#### **4. Produkty fermentacji bakterii izolowanych z kału dzieci z nadwagą i otyłością oraz z prawidłową masą ciała w pożywce z dodatkiem dekstryn ziemniaczanych lub kukurydzianych.**

Ponieważ nie wykazałam istotnych różnic w wykorzystywaniu dekstryn ze skrobi ziemniaczanej i kukurydzianej jako jedyne źródła węgla przez bakterie *Bacteroides*, *Prevotella* (typ *Bacteroidetes*), *Lactobacillus*, *Clostridium* (typ *Firmicutes*) oraz *Bifidobacterium* (typ *Actinobacteria*) celowym było sprawdzenie czy wyizolowane szczepy fermentowały badane dekstryny w taki sam sposób. W tym celu określiłam produkcję kwasu mlekowego, stężenie i rodzaj SCFA i BCFA w hodowlach wspólnych wyizolowanych szczepów od dzieci z nadwagą i otyłością oraz z prawidłową masą ciała, w pożywce z dodatkiem dekstryn ziemniaczanych lub kukurydzianych.

Wykazałam, że średnie stężenie kwasu mlekowego w hodowli wspólnej bakterii wyizolowanych z kału dzieci z nadwagą i otyłością było o 50% i 41% niższe (odpowiednio w podłożu z dekstryną ziemniaczaną i kukurydzianą modyfikowaną kwasem cytrynowym) oraz o 49% i 34% (odpowiednio z dekstryną ziemniaczaną i kukurydzianą modyfikowaną kwasem winowym) od stężenia tego kwasu w hodowli izolatów z kału dzieci z prawidłową masą ciała. Podobnie zaobserwowałam, że stężenie SCFA jest niższe o 45% i 43% (odpowiednio

w hodowli z dekstryną ziemniaczaną i kukurydzianą modyfikowaną kwasem cytrynowym) oraz o 48% i 39% (odpowiednio w hodowli z dekstryną ziemniaczaną i kukurydzianą modyfikowaną kwasem winowym) w hodowlach szczepów wyizolowanych z kału dzieci z nadwagą i otyłością niż z prawidłową masą ciała. Wykazałam, że stężenie kwasów: octowego, masłowego i walerianowego w hodowli bakterii wyizolowanych od dzieci z nadwagą i otyłością z dodatkiem dekstryn było o połowę niższe niż w hodowli bakterii wyizolowanych z kału dzieci z prawidłową masą ciała z dodatkiem dekstryn. Wykazałam również niższe stężenie BCFA w kale dzieci z nadwagą i otyłością o 64% i 74% (w hodowli z dekstryną ziemniaczaną i kukurydzianą modyfikowaną kwasem cytrynowym) oraz o 73% i 54% (odpowiednio w hodowli z dekstryną ziemniaczaną i kukurydzianą modyfikowaną kwasem winowym) niż w kale dzieci z prawidłową masą ciała.

Bakterie *Bacteroides*, *Prevotella* (typ *Bacteroidetes*), *Lactobacillus*, *Clostridium* (typ *Firmicutes*) oraz *Bifidobacterium* (typ *Actinobacteria*) wyizolowane z kału dzieci z nadwagą i otyłością metabolizowały dekstryny ze skrobi ziemniaczanej i kukurydzianej produkując typowe dla siebie metabolity. Pomimo, iż wyizolowane szczepy bakterii zarówno z kału dzieci z nadwagą i otyłością jak i z prawidłową masą ciała wykorzystywały dekstryny jako źródło węgla w takim samym stopniu, to jednak z różną intensywnością. Stężenie SCFA i BCFA było wyższe w pożywce z dekstryną otrzymaną ze skrobi ziemniaczanej niż kukurydzianej i wyższe w pożywce z dekstryną modyfikowaną kwasem cytrynowym niż kwasem winowym i również wyższe w hodowlach szczepów izolowanych z kału dzieci z prawidłową masą ciała niż z nadwagą i otyłością. Warto zaznaczyć, że **jest to pierwsze doniesienie określające zdolność wykorzystywania przez szczepy należące do typów *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* jako źródło węgla dekstryn otrzymanych ze skrobi ziemniaczanej lub kukurydzianej przez bakterie jelitowe.**

**5. Aktywacja wzrostu dominujących w jelitach bakterii *Bacteroides*, *Prevotella* (typ *Bacteroidetes*) oraz *Bifidobacterium* (typ *Actinobacteria*) oraz ograniczenie wzrostu szczepów *Clostridium* i *Lactobacillus* (typ *Firmicutes*) przez dekstryny ziemniaczane i kukurydziane (badania *in vitro* prowadzone bezpośrednio w kale dzieci).**

Ponieważ wykazałam, że niezależnie od źródła izolacji bakterie *Bacteroides*, *Prevotella*, *Lactobacillus*, *Clostridium* oraz *Bifidobacterium* są zdolne do wykorzystywania dekstryn ziemniaczanych i kukurydzianych jako źródło węgla, celem było sprawdzenie czy mogą aktywować wzrost bakterii należących do typu *Bacteroidetes* i *Actinobacteria*,

a ograniczać wzrost szczepów należących do typu *Firmicutes*. Hodowle prowadziłam bezpośrednio w próbkach kału dzieci z nadwagą i otyłością z dodatkiem dekstryn (próbę kontrolną stanowiła hodowla kału bez dekstryn). Liczebność badanych szczepów określiłam wykorzystując metodę hodowlaną oraz FISH, określiłam również stężenie kwasu mlekowego oraz SCFA i BCFA.

Wyniki przedstawiłam w artykule H5: **Barczynska R., Slizewska K., Litwin M., Szalecki M., Zarski A., Kapusniak J. (2015) The effect of dietary fiber preparations from potato starch on the growth and activity of bacterial strains belonging to the phyla *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, and *Actinobacteria*. Journal of Functional Foods 19, 661–668, (IF<sub>2015</sub>: 3,574, MNiSW: 45pkt).**

Wykazałam, że dekstryny ziemniaczane aktywują wzrost bakterii *Bacteroides*, *Prevotella* i *Bifidobacterium* należących do typu *Bacteroides* i *Actinobacteria*, a ograniczają wzrost bakterii *Clostridium* z typu *Firmicutes*.

Dodatek dekstryn do próbek kału dzieci z nadwagą i otyłością skutkowało zwiększeniem liczebności *Bacteroides* o 17% (typ *Bacteroidetes*) oraz *Bifidobacterium* o 15% (typ *Actinobacteria*) i niewielkim obniżeniem liczby *Prevotella* o 3% (typ *Bacteroidetes*) zarówno w hodowli kału z dekstryną modyfikowaną kwasem cytrynowym jak i winowym w porównaniu z inkubacją kału bez dodatku dekstryn. Dodatek dekstryn do kału spowodował zmniejszenie liczebności *Clostridium* (typ *Firmicutes*) średnio o 36% po inkubacji kału z dekstryną modyfikowaną kwasem cytrynowym oraz 55% po inkubacji z dekstryną modyfikowaną kwasem winowym w porównaniu do próbek kału inkubowanych bez dekstryn. Liczebność bakterii *Lactobacillus* należących do typu *Firmicutes* wzrosła średnio o 21% po inkubacji z dekstryną modyfikowaną kwasem cytrynowym i o 10% po inkubacji kału z dekstryną modyfikowaną kwasem winowym w porównaniu do inkubowanej próbki kału bez dekstryn. Reasumując, po inkubacji kału dzieci z nadwagą i otyłością z dodatkiem dekstryny modyfikowanej kwasem cytrynowym analizowane bakterie z typu *Bacteroidetes* stanowiły 35%, *Actinobacteria* 25%, natomiast *Firmicutes* 35% całej populacji. Po inkubacji kału dzieci z nadwagą i otyłością z dodatkiem dekstryny modyfikowanej kwasem winowym bakterie należące do typu *Bacteroidetes* stanowiły 38%, *Actinobacteria* 26%, natomiast *Firmicutes* 36% całej populacji.

Po inkubacji kału dzieci z nadwagą i otyłością z dodatkiem dekstryn ziemniaczanych wykazałam zwiększoną produkcję kwasu mlekowego oraz SCFA i BCFA. Stężenie kwasu mlekowego po inkubacji kału dzieci z nadwagą i otyłością z dodatkiem dekstryny modyfikowanej kwasem cytrynowym było o 40% wyższe niż po inkubacji kału z dodatkiem dekstryny modyfikowanej kwasem winowym. Natomiast całkowite stężenie SCFA było wyższe



o 10% po inkubacji kału dzieci z nadwagą i otyłością z dodatkiem dekstryny modyfikowanej kwasem winowym, niż kwasem cytrynowym.

Dekstryna modyfikowana kwasem winowym wyraźnie aktywowała wzrost szczepów *Bacteroides* i *Bifidobacterium*, a ograniczała wzrost *Clostridium* ponad to po inkubacji kału z dodatkiem tej dekstryny stężenie SCFA było wyższe niż po inkubacji z dekstryną modyfikowaną kwasem cytrynowym.

**Uważam to za ważne osiągnięcie, ponieważ jest to pierwsze doniesienie wskazujące na zdolność dekstryn otrzymanych ze skrobi ziemniaczanej do selektywnej stymulacji wzrostu bakterii *Bacteroides* i *Bifidobacterium* występujących w większym udziale w kale dzieci z prawidłową masą ciała.**

Analogiczne badania wykonałam z wykorzystaniem dekstryn kukurydzianych, a wyniki przedstawiłam w artykule H6: **Barczyńska R., Slizewska K., Litwin M., Szalecki M., Kapusniak J. (2016) Effects of dietary fiber preparations made from maize starch on the growth and activity of selected bacteria from the *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, and *Actinobacteria* phyla in fecal samples from obese children. Acta Biochimica Polonica 63, 1-6, (IF<sub>2016</sub>: 1,187, MNiSW: 15pkt).**

Proporcje *Bacteroides*, *Prevotella*, *Clostridium*, *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* należących do głównych typów bakterii *Bacteroidetes*, *Firmicutes* i *Actinobacteria* po inkubacji próbek kału dzieci z nadwagą i otyłością z dodatkiem dekstryn kukurydzianych uległy nieznacznie zmianie, w porównaniu do inkubacji kału bez dodatku dekstryn. Szczepy *Lactobacillus*, *Clostridium* należące do typu *Firmicutes* po inkubacji kału dzieci z nadwagą i otyłością z dodatkiem dekstryny modyfikowanej kwasem cytrynowym stanowiły 46%, a kwasem winowym 44% całej populacji. Udział szczepów *Prevotella* i *Bacteroides* (typ *Bacteroidetes*) był niższy i stanowił 33% po inkubacji kału dzieci z nadwagą i otyłością z dodatkiem dekstryny modyfikowanej kwasem cytrynowym i 35% kwasem winowym. Liczebność *Bifidobacterium* (typ *Actinobacteria*) była podobna i stanowiły 21% całej badanej populacji. Dodatek do kału dzieci z nadwagą i otyłością dekstryn kukurydzianych (niezależnie od sposobu ich otrzymywania) nie spowodował znaczących zmian w liczebności analizowanych bakterii należących do *Firmicutes*, *Bacteroidetes* i *Actinobacteria*.

Stężenie kwasu mlekowego, SCFA i BCFA było znacznie wyższe po inkubacji kału dzieci z nadwagą i otyłością w próbach z dodatkiem dekstryn kukurydzianych niż bez dodatku dekstryn. Wykazałam dwukrotnie wyższe stężenie SCFA po inkubacji kału dzieci z nadwagą i otyłością z dodatkiem dekstryny modyfikowanej kwasem winowym niż cytrynowym i porównywalne stężenia kwasu mlekowego oraz BCFA.

Wyniki badań przedstawione w publikacjach H2-H6 dowiodły, że dekstryny otrzymane ze skrobi ziemniaczanej i kukurydzianej stanowią źródło węgla dla bakterii z typu *Bacteroidetes* (*Bacteroides*, *Prevotella*); *Actinobacteria* (*Bifidobacterium*); *Firmicutes* (*Lactobacillus*, *Clostridium*) wyizolowanych zarówno z kału dzieci z nadwagą i otyłością jak i z prawidłową masą ciała. Dekstryny ze skrobi ziemniaczanej działają selektywnie stymulując wzrost bakterii należących do typu *Bacteroidetes* i *Actinobacteria*, ograniczając przy tym wzrost szczepów *Firmicutes* w szczególności *Clostridium*. Nie wykazałam zdolności dekstryn otrzymanych ze skrobi kukurydzianej do selektywnej stymulacji wzrostu bakterii z typu *Bacteroidetes* i *Actinobacteria* oraz ograniczania wzrostu szczepów *Firmicutes*. Dekstryny otrzymane ze skrobi ziemniaczanej i kukurydzianej aktywują wzrost szczepów sacharolitycznych, co skutkuje wzrostem stężenia SCFA oraz kwasu mlekowego.

**6. Wpływ dekstryny ziemniaczanej, podawanej szczurom w diecie nisko i wysokotłuszczowej na liczebność i udział dominujących w jelitach bakterii *Bacteroides*, *Prevotella* (typ *Bacteroidetes*); *Clostridium*, *Lactobacillus* (typ *Firmicutes*) oraz *Bifidobacterium* (typ *Actinobacteria*). Badania *in vivo* na szczurach.**

W koncepcji badań założyłam, że dekstryny, które stanowią źródło węgla dla wyizolowanych bakterii z kału dzieci z nadwagą i otyłością oraz z prawidłową masą ciała stymulujące wzrost bakterii *Bacteroides* i *Prevotella* z typu *Bacteroidetes*, *Bifidobacterium* z typu *Actinobacteria* i ograniczające wzrost *Clostridium* z typu *Firmicutes* powinny być poddane badaniom *in vivo*. Do kolejnego etapu badań wybrałam dekstrynę otrzymaną ze skrobi ziemniaczanej. Mając na uwadze to, że dekstryna w przyszłości może być używana jako składniki żywności (diety) zdecydowałam się na badanie dekstryny otrzymanej z użyciem bezpiecznego, dopuszczonego do stosowania w żywności kwasu cytrynowego, powszechnie stosowanego jako regulator kwasowości i środek konserwujący. Podjęłam decyzję o wykonaniu badań *in vivo*, których zastosowanie ma zasadnicze znaczenie dla uzyskania danych o wartości prognostycznej dla ludzi. Badania prowadziłam na 32 szczurach rasy Wistar, najczęściej wykorzystywanych jako modele do badań żywieniowych.

Przez 12 tygodni szczurom podawano dietę nisko i wysokotłuszczową wzbogaconą w dekstrynę ziemniaczaną, która stanowiła 5% wszystkich produktów (składników); kontrolę stanowiły diety nisko i wysokotłuszczowe bez dodatku dekstryny. Diety przygotowano tak aby móc określić wpływ dekstryny ziemniaczanej na selektywną stymulację wzrostu bakterii *Bacteroides*, *Prevotella*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* w kale szczurów

spożywających dietę niskotłuszczową i wysokotłuszczową. W tym celu prowadzono analizę składu mikrobioty kału szczurów z wykorzystaniem metody klasycznej (hodowlanej) oraz FISH.

Wyniki tych badań przedstawiłam w artykule **H7: Barczyńska R., Jurgoński A., Slizewska K., Juśkiewicz J., Kapuśniak J. (2017) Effects of potato dextrin on the composition and metabolism of the gut microbiota in rats fed standard and high-fat diets. Journal of Functional Foods 34, 398–407, (IF<sub>2016</sub>: 3,144, MNiSW: 45pkt).**

Wykazałam, że po dziewiątym tygodniu podawania diet zarówno w kale szczurów spożywających dietę niskotłuszczową jak i dietę wysokotłuszczową z dodatkiem dekstryny ziemniaczanej, korzystne zjawisko wzrostu liczebności bakterii *Bacteroides*, *Prevotella* i *Bifidobacterium*, nieznaczne zmniejszenie liczby bakterii *Lactobacillus* oraz istotne obniżenie liczebności bakterii *Clostridium*. Przedłużenie podawania szczurom diet nisko i wysokotłuszczowych wzbogaconych w dekstrynę do dwunastu tygodni przyczyniło się do ukształtowania jeszcze korzystniejszych proporcji. Zaobserwowano wyraźną dominację bakterii *Bacteroides* i *Prevotella* z typu *Bacteroidetes* nad *Clostridium* z typu *Firmicutes*, wzrosła również przewaga bakterii *Bifidobacterium* z typu *Actinobacteria*. W kale szczurów po spożyciu diety niskotłuszczowej wzbogaconej w dekstrynę ziemniaczaną, bakterie z typu *Bacteroidetes* (*Bacteroides* i *Prevotella*) stanowiły 48,44% całej populacji, *Firmicutes* (*Clostridium*, *Lactobacillus*) 30,13% (z czego *Lactobacillus* stanowił 53% *Firmicutes*) i *Actinobacteria* (*Bifidobacterium*) 21,43%, a po spożyciu diety wysokotłuszczowej wzbogaconej w dekstrynę badane bakterie z typu *Bacteroidetes* stanowiły 42,53%, *Firmicutes* 35,24% (z czego *Lactobacillus* stanowił 56% *Firmicutes*) i *Actinobacteria* 22,23%. W grupie kontrolnej szczurów spożywających dietę nisko i wysokotłuszczową bez dodatku dekstryny ziemniaczanej procentowy udział poszczególnych typów bakterii zarówno w dziewiątym, jak i w dwunastym tygodniu był zbliżony do siebie i wyrównany. Szczepy *Bacteroides* i *Prevotella* należące do typu *Bacteroidetes* stanowiły około 38 - 39% całej populacji, *Clostridium* i *Lactobacillus* należące do typu *Firmicutes* 39 - 40% i *Bifidobacterium* z typu *Actinobacteria* 20 - 21%.

Uzyskane wyniki z badań *in vivo* wskazują, iż **dekstryna ze skrobi ziemniaczanej modyfikowana kwasem cytrynowym podawana zarówno w diecie nisko jak i wysokotłuszczowej przyczynia się do stymulacji wzrostu bakterii *Bacteroides*, *Prevotella* i *Bifidobacterium* należących do typu *Bacteroidetes* i *Actinobacteria*, a ogranicza przyrost liczby bakterii z typu *Firmicutes*, w szczególności *Clostridium*.**

Wykazałam, że po 12 tygodniach trwania eksperymentu spożycie diety zostało zmniejszone w grupie szczurów spożywających dietę nisko i wysokotłuszczową wzbogaconą w dekstrynę w stosunku do grup kontrolnych, najniższe było w grupie spożywającej dietę

wysokotłuszczową wzbogaconą w dekstrynę. Najwyższy przyrost masy ciała wykazałam dla szczurów spożywających dietę kontrolną wysokotłuszczową, dodatek dekstryny ziemniaczanej do diety wysokotłuszczowej spowodował obniżenie masy ciała o 5% i zmniejszenie tkanki tłuszczowej o 12% w porównaniu do szczurów spożywających diety bez dekstryny. Najmniejszy przyrost masy ciała zaobserwowałam w grupie szczurów spożywających dietę niskotłuszczową. Dodatek dekstryny do diety niskotłuszczowej przyczynił się do wzrostu masy ciała szczurów o 8% w porównaniu do masy ciała szczurów spożywających dietę niskotłuszczową bez dekstryny.

**Za ważne osiągnięcie uważam udowodnienie, że dodatek dekstryny ziemniaczanej modyfikowanej kwasem cytrynowym do diet nisko i wysokotłuszczowych spowodował wzrost i wyraźną przewagę bakterii *Bacteroides*, *Prevotella* i *Bifidobacterium* z typu *Bacteroidetes* i *Actinobacteria* nad *Clostridium* z typu *Firmicutes*, jak również spowodował niższe spożycie diety w grupie szczurów spożywających zarówno dietę niskotłuszczową jak i wysokotłuszczową wzbogaconą w dekstrynę oraz zmniejszenie masy ciała i tkanki tłuszczowej szczurów spożywających dietę wysokotłuszczową wzbogaconą w dekstrynę. Badania te są w pełni oryginalne.**

**7. Podstawowe wskaźniki funkcjonowania przewodu pokarmowego szczurów, produkcja kwasu mlekowego, stężenie i rodzaj krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych oraz aktywność glikolityczna w treści jelita ślepego szczurów karmionych dietą nisko i wysokotłuszczową wzbogaconą w dekstrynę ziemniaczaną. Badania *in vivo* na szczurach.**

Wyniki tych badań przedstawiłam w artykule H7: Barczyńska R., Jurgoński A., Slizewska K., Juśkiewicz J., Kapuśniak J. (2017) Effects of potato dextrin on the composition and metabolism of the gut microbiota in rats fed standard and high-fat diets. *Journal of Functional Foods* 34, 398–407, (IF<sub>2016</sub>: 3,144, MNiSW: 45pkt).

Dodatek dekstryny ziemniaczanej do diety nisko i wysokotłuszczowej istotnie wpływał na wybrane parametry jelita cienkiego i ślepego. Dodatek dekstryny do diety niskotłuszczowej istotnie zwiększył masę jelita cienkiego oraz lepkość treści tego jelita bez względu na rodzaj zastosowanej diety. Masa względna tkanki i treści jelita ślepego również uległa zwiększeniu pod wpływem dodatku dekstryny. W przypadku okrężnicy doszło do zmniejszenia masy treści jelita pod wpływem dekstryny ziemniaczanej zarówno w grupie szczurów spożywających dietę

nisko jak i wysokotłuszczową. Dodatek dekstryn do diety nisko i wysokotłuszczowej spowodował obniżenie pH treści jelita cienkiego od 0,5 do 1 jednostki oraz jelita ślepego i okrężnicy od 0,1 do 0,4 jednostek w porównaniu do pH treści jelita szczurów spożywających diety kontrolne.

W swoich badaniach wykazałam, iż mikrobiota jelitowa szczurów metabolizuje oporną dekstrynę ze skrobi ziemniaczanej, na co wskazuje wzrost aktywności glikolitycznej, szczególnie  $\alpha$ - i  $\beta$ -glukozydazy oraz  $\alpha$ - i  $\beta$ -galaktozydazy w treści jelita ślepego. Suplementacja diet szczurów dekstryną ziemniaczaną sprzyja również zwiększeniu produkcji krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w jelicie dystalnym, przy czym produkcja ta była bardziej zintensyfikowana w przypadku diety niskotłuszczowej z dodatkiem dekstryny, co korelowało się z wyższą liczebnością bakterii glikolitycznych. Za pozytywny uznałam fakt, iż stężenie tzw. kwasów gnilnych (suma kwasów: walerianowego, izowalerianowego, izomasłowego, jako efekt rozkładu białek) było znacznie niższe w grupie spożywającej dietę wysokotłuszczową suplementowaną dekstryną ziemniaczaną niż w pozostałych grupach (o połowę niższe w stosunku do szczurów spożywających dietę niskotłuszczową wzbogaconą w dekstrynę). Jest to ważne osiągnięcie, gdyż wskazuje na ograniczenie powstawania niekorzystnych procesów gnilnych w jelicie.

**Jako pierwsza dowiodłam, iż dekstryna ze skrobi ziemniaczanej ogranicza spożycie pokarmu i prowadzi do zmian w jelicie dystalnym, które mogą sprzyjać ograniczaniu powstawania nadwagi i otyłości. W czasie silnie rozwijającej się epidemii nadwagi i otyłości zarówno wśród dzieci jak i osób dorosłych, praktykowania złych nawyków żywieniowych uważam to za istotne osiągnięcie, świadczące o możliwości zastosowania tej dekstryny w prewencji rozwoju nadwagi i otyłości u ludzi.**

**Za najważniejsze osiągnięcia opisanych badań zawartych w cyklu publikacji (H1-H7) uważam wykazanie, że:**

1. Mikrobiota kału polskich dzieci z nadwagą (BMI 25,68-29,48) i otyłością (BMI 31,71 – 41,18) oraz dzieci z prawidłową masą ciała (BMI 18,5-22,38) jest odmienna. W kale dzieci z nadwagą i otyłością dominują bakterie z rodzaju *Clostridium* należące do typu *Firmicutes*, bakterie *Bacteroides*, *Prevotella*, *Bifidobacterium* z typu *Bacteroidetes* i *Actinobacteria* stanowią mniejszość. W kale dzieci z prawidłową masą ciała dominują bakterie *Bacteroides*, *Prevotella*, *Bifidobacterium* należące do typu *Bacteroidetes* i *Actinobacteria*, natomiast *Clostridium* z typu *Firmicutes* są w mniejszości. Liczebność szczepów *Lactobacillus* zarówno w kale dzieci z nadwagą i otyłością jak i z prawidłową masą ciała była zbliżona.

2. W kale dzieci z nadwagą i otyłością stężenie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA) jest niższe o 34%, BCFA o 18%, a kwasu mlekowego o 40% niż w kale dzieci z prawidłową masą ciała.
3. Bakterie *Bacteroides* i *Prevotella* należące do typu *Bacteroidetes*, bakterie *Lactobacillus* i *Clostridium* należące do typu *Firmicutes* oraz *Bifidobacterium* należące do typu *Actinobacteria* wyizolowane z kału dzieci z nadwagą i otyłością oraz z kału dzieci z prawidłową masą ciała wykorzystują dekstryny ziemniaczane i kukurydziane jako źródło węgla. Najaktywniej szczepy *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* słabiej *Bacteroides*, *Prevotella* i *Clostridium*, niezależnie od źródła izolacji. Rodzaj dekstryn ziemniaczanych i kukurydzianych oraz fakt, że do procesu otrzymywania dekstryn zostały zastosowane różne kwasy organiczne (cytrynowy, winowy) nie wpływa istotnie na różnice w stopniu wykorzystania dekstryn przez bakterie.
4. Bakterie *Bacteroides*, *Prevotella* z typu *Bacteroidetes* oraz *Bifidobacterium* z typu *Actinobacteria* wyizolowane z kału dzieci z nadwagą i otyłością oraz z kału dzieci z prawidłową masą ciała są selektywnie aktywowane w hodowli z dodatkiem dekstryn ziemniaczanych jako jedyne źródła węgla. Zjawiska takiego nie wykazałam w hodowli wyizolowanych bakterii z dodatkiem dekstryn kukurydzianych.
5. Stężenie kwasu mlekowego, SCFA i BCFA jest niższe w hodowli bakterii (niezależnie od ich rodzaju) wyizolowanych z kału dzieci z nadwagą i otyłością niż z prawidłową masą ciała w pożywce z dodatkiem dekstryny ziemniaczanej modyfikowanej kwasem cytrynowym jako jedyne źródła węgla, odpowiednio o 50%, 45% i 64%, a kwasem winowym o 49%, 48% i 73%. W hodowli wyizolowanych szczepów w pożywce z dodatkiem dekstryny kukurydzianej modyfikowanej kwasem cytrynowym jako jedyne źródła węgla o 41%, 43% i 74%, a kwasem winowym o 34%, 39% i 54%.
6. Spośród badanych dekstryn, dekstryna ziemniaczana modyfikowana kwasem winowym intensywniej aktywuje wzrost szczepów *Bacteroides*, *Prevotella* i *Bifidobacterium* z typu *Bacteroidetes* i *Actinobacteria*, a ogranicza wzrost szczepów z typu *Firmicutes*, szczególnie *Clostridium* a w wyniku jej fermentacji szczepy wytwarzają o 10% więcej SCFA niż w wyniku fermentacji dekstryny modyfikowanej kwasem cytrynowym.
7. Dodatek dekstryny ziemniaczanej modyfikowanej kwasem cytrynowym do diet nisko i wysokotłuszczowych podawanych szczurom przez 12 tygodni spowodował wzrost i wyraźną przewagę bakterii z typu *Bacteroidetes* i *Actinobacteria* (*Bacteroides*, *Prevotella* i *Bifidobacterium*) nad *Firmicutes*, szczególnie *Clostridium*, jak również dodatek tej dekstryny przyczynił się do niższego spożycia diety o około 3 - 6% w grupie szczurów spożywających zarówno dietę niskotłuszczową jak i wysokotłuszczową

wzbogaconą w dekstrynę w stosunku do grup kontrolnych oraz zmniejszeniem masy ciała o 5% i tkanki tłuszczowej o 12% szczurów spożywających dietę wysokotłuszczową wzbogaconą w dekstrynę w stosunku do grup kontrolnych.

8. Dekstryna otrzymana ze skrobi ziemniaczanej modyfikowana kwasem cytrynowym podawana szczurom w diecie przez 12 tygodni prowadzi do korzystnych zmian liczebności i proporcji dominujących w jelitach bakterii *Bacteroides*, *Prevotella*, należących do typu *Bacteroidetes* oraz *Clostridium*, *Lactobacillus* należących do typu *Firmicutes* ponad to *Bifidobacterium* należących do typu *Actinobacteria*, które mogą sprzyjać ograniczeniu powstawania nadwagi i otyłości. Wniosek ten należy potwierdzić podczas badań klinicznych na dzieciach.

### Cytowana literatura

1. Backhed F., Ding H., Wang T., Hooper L.V., Koh G.Y., Nagy A., Semenkovich C.F., Gordon J.I. (2004) The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *PANAS* 101:15718-23.
2. Backhed F., Manchester J.K., Semenkovich C.F., Gordon J.I. (2007) Mechanism underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *PANAS* 101:15718-23.
3. Barczyńska R., Slizewska K., Jochym K., Kapusniak J., Libudzisz Z. (2012) The tartaric acid-modified enzyme-resistant dextrin from potato starch as potential prebiotic. *J Func Foods* 4:954-962.
4. Barczyńska R. (2014) Mikrobiota jelitowa i prebiotyki - znaczenie u niemowląt i dzieci *Standardy Medyczne, Pediatria* 5 (11):711-722.
5. Barczyńska R., Ślizewska K., Libudzisz Z., Kapuśniak K., Kapuśniak J. (2015) Prebiotic properties of potato starch dextrins. *Postep Hig Med Dosw* 69:1031-1041.
6. Beserra B.T.S., Fernandes R., do Rosario V.A., Mocellin M.C., Kuntz M.G., Trindade E.B. (2015) A systematic review and meta-analysis of the prebiotics and synbiotics effects on glycemia, insulin concentrations and lipid parameters in adult patients with overweight or obesity. *Clin Nutr* 34:845-858.
7. Canfora E.E., Jocken J.W., Blaak E.E. (2015) Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nat Rev Endocrinol* 11(10):577-91.
8. Christodoulides S., Dimidi E., Fragkos K.C., Farmer A.D., Whelan K., Scott S.M. (2016) Systematic review with meta-analysis: effect of fibre supplementation on chronic idiopathic constipation in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 44:103-116.

9. De Filippo C., Cavalieri D., Di Paola M., Ramazzotti J.B., Poullet S., Massart S., Collini G., Pieraccini P., Lionetti P. (2010) Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *PANAS* 107:14694-96.
10. DuPont A.W., DuPont H.L. (2011) The intestinal microbiota and chronic disorders of the gut. *Nat Rev Gastro Hepat* 8:523–31.
11. FAO Technical Meeting on Prebiotics. Food Quality and Standards Service (AGNS), Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). FAO Technical Meeting Report 2007, 15-16.
12. Feng T., Wang L., Schoeb T.R., Elson C.O., Cong Y. (2010) Microbiota innate stimulation is a prerequisite for T cell spontaneous proliferation and induction of experimental colitis. *J Exp Med* 207:1321–32.
13. Fernandes R., do Rosario V.A., Mocellin M.C., Kuntz M.G.F., Trindale E.B.S.M. (2017) Effects of inulin-type fructans, galacto-oligosaccharides and related synbiotics on inflammatory markers in adult patients with overweight or obesity: a systematic review. *Clin Nutr* 36(5):1197-1206.
14. Gibson G.R., Hutkins R., Sanders M.E., Prescott S.L., Reimer R.A., Salminen S.H., Scott K., Stanton K., Swanson K.S., Cani P.D., Verbeke K., & Reid G. (2017) The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastro Hepat* 1-12.
15. Hume M.P., Nicolucci A.C., Reimer R.A. (2017) Prebiotic supplementation improves appetite in children with overweight and obesity: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 105(4):790-799.
16. Hutkins R.W., Krumbeck J.A., Bindels L.B., Cani P.D., Fahey G.Jr., Goh Y.J., Hamaker B., Martens E.C., Mills D.A., Rastal R.A., Vaughan E., Sanders M.E. (2016) Prebiotics: why definitions matter. *Curr Opin Biotechnol* 37:1-7.
17. Jochym K., Barczyńska R., Ptak S., Kapusniak J. (2011) Prebiotic properties of dextrins from maize starch IV Congress of Polish Biotechnology and IV Eurobiotech "Four Colours of Biotechnology", Krakow Poland, October 12 -15 2011 p.132.
18. Jochym K., Kapuśniak J., Barczyńska R., Libudzisz Z., Ślizewska K. (2015) Preparat o właściwościach prebiotycznych PL.220965, Polska, Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej
19. Kapuśniak J., Jochym K., Barczyńska R., Libudzisz Z., Ślizewska K. (2015) Preparat o właściwościach prebiotycznych PL.221497, Polska, Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej



20. Kapusniak J., Kapusniak K., Ptak S., Barczyńska R., Żarski A. (2014) Product of thermolysis of potato starch treated with hydrochloric and citric acids as potential prebiotic. *Qual Assur Saf Crop* 6 (3):347-356.
21. Koh A., De Vadder F., Kovatcheva-Datchary P., Bäckhed F. (2016) From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell* 165(6):1332-1345.
22. Ley R.E., Peterson D.A., Gordon J.I. (2006) Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell* 124:837–848.
23. Ley R.E., Turnbaugh P., Klein S., Gordon J.I. (2006) Human gut microbes associated with obesity. *Nature* 444:1022-1023.
24. Lim M.Y., You H.J., Yoon H.S., Kwon B., Lee J.Y., Lee S., Song Y.M., Lee K., Sung J., Ko G. (2017) The effect of heritability and host genetics on the gut microbiota and metabolic syndrome. *Gut* 66:1031-1038.
25. Lu Y., Fan C., Li P., Lu Y., Chang X., Qi K. (2016) Short Chain Fatty Acids Prevent High-fat-diet-induced Obesity in Mice by Regulating G Protein-coupled Receptors and Gut Microbiota. *Sci Rep* 28, 6:37589.
26. Milani C., Ferrario C., Turrone F., Duranti S., Mangifesta M., van Sinderen D., Ventura M. (2016) The human gut microbiota and its interactive connections to diet. *J Hum Nutr Diet* 29(5):539-46.
27. Neish A.S. (2002) The gut microflora and intestinal epithelial cells: a continuing dialogue. *Microbes Infect* 4:309–17.
28. Nicholson J.K., Holmes E., Wilson I.D. (2005) Gut microorganisms, mammalian metabolism and personalized health care. *Nat Rev Microbiol* 3:431–438.
29. Nicolucci A.C., Reimer R.A. (2017) Prebiotics as a modulator of gut microbiota in paediatric obesity. *Ped Obes* 12(4):265-273.
30. Ouwehand A.C., Derrien M., De Vos W., Tiihonen K., Rautonen N. (2005) Prebiotics and other microbial substrates for Gut functionality. *Curr Opin in Biotechnol* 16:212-217.
31. Rastall R.A., Gibson G.R., Gill H.S., Klaenhammer T.R., Pot B., Reid G., Rowland I.R., Sanders M.E. (2005) Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: An overview of enabling science and potential applications. *FEMS Microbiol Ecol* 52:145-152.
32. Rastall R.A., Gibson G.R. (2015) Recent developments in prebiotics to selectively impact beneficial microbes and promote intestinal health. *Curr Opin Biotechnol* 32:42–46.
33. Raza G.S., Putaala H., Hibberd A.A., Alhoniemi E., Tiihonen K., Mäkela K.A., Herzig K.H. (2017) Polydextrose changes the gut microbiome and attenuates fasting

- triglyceride and cholesterol levels in Western diet fed mice. *Sci Rep* 7:5294.
34. Roberfroid M.B. (2002) Global view on functional foods: European perspectives. *Brit J Nutr* 88 (2):133-138.
  35. Roberfroid M. (2007) Prebiotics: The Concept Revisited. *J Nutr* 137:830-837.
  36. Roberfroid M., Gibson G.R., Hoyles L., McCartney A.L., Rastall R., Rowland I., Wolvers D., Watzl B., Szajewska H., Stahl B., Guarner F., Respondek F., Whelan K., Coxam V., Davicco M.J., Léotoing L., Wittrant Y., Delzenne N.M., Cani P.D., Neyrick A.M., Meheust A. (2010) Prebiotic effects: metabolic and health benefits. *Br J Nutr* 2:S1-63.
  37. Sanz Y., Santacruz A. (2008) Evidence on the role of gut microbes in obesity. *Revista Espanola Obesidad* 6:256-263.
  38. Slavin J. (2013) Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. *Nutrients* 5:1417-1435.
  39. Slizewska K., Nowak A., Barczyńska R., Libudzisz Z. (2013) Prebiotyki - definicja, właściwości i ich zastosowanie w przemyśle. *ŻNTJ* 1(86):5-20.
  40. Stewart C.S., Duncan S.H., Cave D.R. (2004) *Oxalobacter formigenes* and its role in oxalate metabolism in the human gut. *FEMS Microbiology Letters* 230:1–7.
  41. Tamboli C.P., Neut C., Desreumaux P., Colombel J.F. (2004) Dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Gut* 53:1–4.
  42. Tannock G.W. (2008) The search for disease-associated compositional shifts in bowel bacterial communities of humans. *Trends Microbiol* 16:488–495.
  43. Vandeputte D., Kathagen G., D'hoë K., Vieira-Silva S., Valles-Colomer M., Sabino J., Wang J., Tito R.Y., De Commer L., Darzi Y., Vermeire S., Falony G., Raes J. (2017a) Quantitative microbiome profiling links gut community variation to microbial load. *Nature* 551:507–511.
  44. Vandeputte D., Falony G., Vieira-Silva S., Wang J., Sailer M., Theis S., Verbeke K., Raes J. (2017b) Prebiotic inulin-type fructans induce specific changes in the human gut microbiota *Gut* 0:1–7.
  45. Vernazza C.L., Rabiú B.A., Gibson G.R. (2006) Human Colonic Microbiology and the Role of Dietary Intervention: Introduction to Prebiotics. W: Gibson GR, Rastall RA(red). *Prebiotics: Development and Application*, John Wiley&Sons. Ltd, 2006.
  46. Walker A.W., Lawley T.D. (2013) Therapeutic modulation of intestinal dysbiosis. *Pharmacol Res* 69:75– 86.
  47. Zhernakova A., Kurilshikov A., Bonder M.J., Tigchelaar E.F., Schirmer M., Vatanen T., Mujagic Z., Vila A.V., Falony G., Vieira-Silva S., Wang J., Imhann F., Brandsma E., Jankipersadsing S.A., Joossens M., Cenit M.C., Deelen P., Swertz M.A.; LifeLines cohort study, Weersma R.K., Feskens E.J., Netea M.G., Gevers D., Jonkers D., Franke L., Aulchenko Y.S., Huttenhower C., Raes J., Hofker M.H., Xavier

R.J., Wijmenga C., Fu J. (2017) Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. *Science* 352(6285):565-9.

## **5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych**

Moje pozostałe zainteresowania naukowo-badawcze mieszczą się w następujących obszarach tematycznych:

1. Charakterystyka chemiczna i fizyczna nowych, opornych na trawienie enzymatyczne dekstryn ze skrobi ziemniaczanej i kukurydzianej.
2. Ocena właściwości prebiotycznych opornych dekstryn otrzymanych ze skrobi ziemniaczanej.
3. Określenie wpływu opornych dekstryn ze skrobi ziemniaczanej na mikrobiotę jelit ludzi w różnym wieku.
4. Produkty mleczne bez laktozy wzbogacone oporną dekstryną.
5. Skrobia oporna - perspektywy jej wykorzystania w dietoterapii cukrzycy typu 2.
6. Izolacja i identyfikacja szczepów bakterii z różnych środowisk naturalnych.
7. Zastosowanie bakterii probiotycznych i bakterii izolowanych z kału dzieci w ochronie i przechowalnictwie owoców i warzyw.
8. Właściwości i możliwości zastosowania peptydów antydrobnoustrojowych.
9. Właściwości i zastosowanie przeciwgrzybicznego nowego polimeru kwasu indolo-3-karboksylowego z kobaltem (II).

### **5.1. Charakterystyka chemiczna i fizyczna nowych, opornych na trawienie enzymatyczne dekstryn ze skrobi ziemniaczanej.**

Istotnym obszarem mojej pracy naukowej realizowanej w ramach pracy doktorskiej i kontynuowanym po jej obronie jest charakterystyka chemiczna i fizyczna nowych, opornych na trawienie enzymatyczne dekstryn ze skrobi ziemniaczanej. Badania te częściowo realizowane były w ramach projektu NCBiR Nr N N312 3261 33 kierowanego przez dr hab. Janusza Kapuśniaka „Otrzymywanie, charakterystyka fizykochemiczna nowych, opornych chemicznie modyfikowanych, rozgałęzionych dekstryn ze skrobi ziemniaczanej i ich zastosowanie jako substancji o właściwościach prebiotycznych”, okres realizacji 2007-2010, w którym byłam wykonawcą. W ramach tych badań ze skrobi ziemniaczanej otrzymanej w obecności kwasu chlorowodorowego i kwasu cytrynowego, następnie ogrzewanej w temperaturze 130°C przez 3, 4 i 5 godzin uzyskałam trzy dekstryny. Ponadto otrzymałam

dekstrynę poprzez ogrzewanie skrobi ziemniaczanej z kwasem chlorowodorowym i kwasem winowym w temperaturze 130°C przez 2 godziny. Dla otrzymanych dekstryn oznaczyłam: pH wodnych roztworów, rozpuszczalność w temperaturze 37°C, zawartość cukrów redukujących, sprawdziłam czy procesowi dekstrynizacji towarzyszyła modyfikacja chemiczna, określiłam stopień podstawienia kwasem cytrynowym, rozkład mas cząsteczkowych, średnią długość łańcuchów sacharydowych i zawartość frakcji odpornej. Istotnym osiągnięciem było wykazanie, że zastosowanie kwasu chlorowodorowego oraz kwasów organicznych doprowadziło do uzyskania dekstryn dobrze rozpuszczalnych w wodzie, o niskim pH i niewielkim stopniu podstawienia kwasem cytrynowym. Wydłużenie czasu ogrzewania skrobi modyfikowanej kwasem cytrynowym z trzech do czterech i pięciu godzin nie wpływało w sposób istotny na badane właściwości fizyczne i chemiczne dekstryn skrobiowych.

Ponieważ we wcześniejszej koncepcji badań założyłam, że ogrzewanie skrobi w obecności kwasów: cytrynowego lub winowego doprowadzi do chemicznej modyfikacji otrzymanych dekstryn, zdecydowałam się na zarejestrowanie widm dekstryn. Analiza widm dekstryn otrzymanych w wyniku ogrzewania skrobi ziemniaczanej z kwasem cytrynowym nie potwierdziła, że procesowi dekstrynizacji towarzyszy modyfikacja chemiczna. Jedynie w widmie dekstryny otrzymanej w wyniku ogrzewania skrobi ziemniaczanej z kwasem winowym występowało pasmo świadczące o zachodzącej reakcji estryfikacji. Dowodem przemawiającym za zachodzącą reakcją depolimeryzacji skrobi, były dane uzyskane z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii wykluczenia (HPSEC), którą wykonałam w celu zbadania rozkładu mas cząsteczkowych otrzymanych dekstryn oraz wyznaczenia średniej wagowo masy cząsteczkowej ( $M_w$ ). Dla dekstryn otrzymanych z udziałem kwasu cytrynowego, niezależnie od czasu ich ogrzewania, wykazałam obecność trzech frakcji, natomiast dla dekstryny otrzymanej z udziałem kwasu winowego dwóch frakcji. Stopień polimeryzacji (DP) dekstryn otrzymanych z udziałem kwasu cytrynowego wynosił od 22 do 30, a otrzymanej z udziałem kwasu winowego DP = 11. Jednakże ważna była nie tylko masa cząsteczkowa otrzymanego produktu, ale również jego budowa chemiczna. Z punktu widzenia podatności na trawienie enzymatyczne istotne są liczba i rodzaj rozgałęzień występujących w cząsteczkach otrzymanych związków. Dlatego wykonałam analizy z użyciem wysokosprawnej chromatografii anionowymiennej (HPAEC). W dekstrynach modyfikowanych kwasem cytrynowym średnia długość tych łańcuchów wynosiła od 10,4 do 11,4, w dekstrynie otrzymanej z udziałem kwasu winowego 8,2. Z analiz widm HPAEC wynikało, że średnia długość łańcucha wszystkich dekstryn była mniejsza niż średnie DP głównej frakcji, co może wskazywać na występowanie rozgałęzień w cząsteczkach dekstryn.

Istotnym etapem badań było określenie zawartości frakcji odpornej na trawienie enzymatyczne w otrzymanych dekstrynach. Badania te przeprowadziłam z wykorzystaniem dwóch metod AOAC 2001.03 oraz metody enzymatyczno-spektrofotometrycznej (metoda

Englysta). Całkowita zawartość błonnika pokarmowego w dekstrynach, oznaczona metodą AOAC 2001.03 wyniosła około 30% dla dekstryn otrzymanych z udziałem kwasu cytrynowego oraz 50% dla dekstryny z udziałem kwasu winowego. Jednak zastosowanie metody Englysta (według Komisji Kodeksu Żywnościowego odpowiedniej dla skrobi odpornej RS4) pokazało, że rzeczywista zawartość frakcji odpornej w dekstrynach była znacznie większa, nawet do 70%.

Ogrzewanie skrobi ziemniaczanej z kwasem cytrynowym i winowym prowadziło do uzyskania dekstryn dobrze rozpuszczalnych w wodzie, opornych na trawienie enzymami amylolitycznymi i o znacznie wyższej średniej wagowo masie cząsteczkowej, niż dostępne na rynku komercyjne preparaty opornych sacharydów oraz o średniej długości łańcucha mniejszej niż średnie DP głównej frakcji tych dekstryn, co wskazywało na występowanie rozgałęzień w cząsteczkach dekstryn. Były to dla mnie fundamentalne wyniki badań pozwalające na dalsze rozwinięcie zainteresowań badawczych zmierzających do poszukiwania zastosowań otrzymanych dekstryn w produkcji żywności.

Rezultaty tych badań stanowiły część rozprawy doktorskiej realizowanej pod kierunkiem prof. dr hab. Zdzisławy Libudzisz oraz dr hab. Janusza Kapuśniaka, obronionej z wyróżnieniem w styczniu 2011 roku na wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności. Wyniki tych badań przed doktoratem przedstawiłam jako współautor w postaci 1 monografii, 1 pracy oryginalnej i 2 wystąpień ustnych na konferencjach międzynarodowych i krajowych. Wyniki tych badań po doktoracie przedstawiłam jako współautor w postaci 3 artykułów i 3 posterów prezentowanych na konferencjach międzynarodowych i 1 wystąpienia ustnego na konferencji krajowej.

#### **Przed doktoratem**

##### Rozdział w monografii:

1. Kapuśniak J., Jochym K., **Barczyńska R.**, Ślizewska K., Libudzisz Z. (2010) Enzyme resistant dextrans from potato starch as potential prebiotic, w: B. McCleary, J. M. Jones, D. Topping and J.W. van der Kamp (eds.), *Dietary Fibre – New frontiers for food and health*, Wageningen Academic Publishers, Netherlands, 193-215. **MNiSW = 5 pkt.**

##### Prace oryginalne:

1. Kapuśniak J., Jochym K., **Barczyńska R.**, Ślizewska K., Libudzisz Z. (2008) Otrzymywanie i charakterystyka opornych dekstryn ze skrobi ziemniaczanej. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 530, 427-444. **MNiSW = 6 pkt.**

##### Komunikaty ustne na konferencjach międzynarodowych:

1. Kapusniak J., Jochym K., **Barczyńska R.**, Ślizewska K., Libudzisz Z. (2010) Prebiotic properties of new enzyme-resistant dextrin from potato starch – from structure to functionality and health, *The 10<sup>th</sup> International Hydrocolloids Conference*, Szanghaj, Chiny, 20-24.06.2010. *Materiały str.* 65-66.

Komunikaty ustne na konferencjach krajowych:

1. Kapuśniak J., Jochym K., **Barczyńska R.**, Śliżewska K. (2008) Otrzymywanie, charakterystyka nowych opornych, chemicznie modyfikowanych dekstryn ze skrobi ziemniaczanej, V Konferencja Naukowa „Ziemniak spożywczy i przemysłowy oraz jego przetwarzanie”, Szklarska Poręba, 12-15.05.2008. Materiały str. 118-119.

**Po doktoracie**Prace oryginalne:

1. Kapusniak J., Kapusniak K., Ptak S., **Barczyńska R.**, Żarski A. (2014) Product of thermolysis of potato starch treated with hydrochloric and citric acids as potential prebiotic. Quality Assurance and Safety of Crops & Foods, 6 (3), 347-356. **IF<sub>2014</sub> = 0.891; MNiSW = 20 pkt.**
2. Kapusniak J., Kapusniak K., Ptak S., Barczyńska R., Rychter P. (2013) Products of thermal modification of starch for food and health, Proceedings of the 9th International Conference on Polysaccharides-glycoscience, Prague, Czech Republic, Nov 06-08, 2013, 5-11. **MNiSW = 15 pkt.**
3. Jochym K., Kapusniak J., **Barczyńska R.**, Śliżewska K. (2012) New starch preparations resistant to enzymatic digestion. Journal of the Science Food Agriculture 92 (4), 886-891. **IF<sub>2012</sub> = 1.759; MNiSW = 35 pkt.**

Komunikaty ustne na konferencjach międzynarodowych:

1. Kapusniak J., Kapusniak (Jochym) K., Ptak S., **Barczyńska-Felusiak R.**, Żarski A. (2013) Products of thermal modification of potato starch for food and health, Eurofoofchem XVII, Istanbul, Turkey 07-10.05.2013. Materiały str. 235.
2. Kapusniak J., Kapusniak K., Ptak S., **Barczyńska R.**, Żarski A. (2013) Products of thermal modification of starch for food and health, EPNOE 2013: "Polysaccharides and polysaccharide-derived products, from basic science to applications", Nice (France), 21-24.10.2013. Materiały str. 27.
3. Kapusniak J., Kapusniak K., Ptak S., **Barczyńska R.**, Rychter P., (2013) Products of thermal modification of starch for food and health, 9th International Conference on Polysaccharides – Glycoscience, Prague (Czech Republic), 6-8.11.2013. Materiały str. 738.

Komunikaty ustne na konferencjach krajowych:

1. Kapusniak J., Kapusniak K., Ptak S., **Barczyńska R.** (2013) Produkty termicznej modyfikacji skrobi w żywieniu i dla zdrowia, XLI Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności PAN, Kraków, 2-3.07.2013. Materiały str. 66.

**5.2. Ocena właściwości prebiotycznych opornych dekstryn otrzymanych ze skrobi ziemniaczanej.**

Ważnym obszarem mojej pracy naukowej były badania zmierzające do wyjaśnienia czy odporne dekstryny ze skrobi ziemniaczanej stanowią substancje o właściwościach prebiotycznych. Badania częściowo wykonane zostały w ramach projektu NCBiR Nr N N312 3261 33 kierowanego przez dr hab. Janusza Kapuśniaka „Otrzymywanie, charakterystyka fizykochemiczna nowych, opornych chemicznie modyfikowanych, rozgałęzionych dekstryn ze skrobi ziemniaczanej i ich zastosowanie jako substancji o właściwościach prebiotycznych”, okres realizacji 2007-2010 oraz przy współpracy z prof. Zdzisławą Libudysz oraz dr hab. Katarzyną Śliżewską z Politechniki Łódzkiej i stanowiły część mojej rozprawy doktorskiej. W celu określenia właściwości prebiotycznych, prowadziłam hodowlę monokultur bakterii o udokumentowanych właściwościach probiotycznych stosowanych w produktach spożywczych i farmakologicznych. Były to 3 szczepy z rodzaju *Lactobacillus*, dwa szczepy z rodzaju *Bifidobacterium* oraz monokultury bakterii (*Escherichia coli*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Bacteroides*) izolowane z kału zdrowych rocznych i ośmioletnich dzieci oraz dorosłych, osób trzydziestoletnich, łącznie 36 szczepów. Prowadziłam również hodowlę wspólną bakterii probiotycznych i izolowanych z kału ludzi. Dodatkowo obliczyłam indeks prebiotyczny PI oraz określiłam ilość i rodzaj produktów fermentacji opornych dekstryn z zastosowaniem metody HPLC. Wykazałam, że szczepy bakterii probiotycznych oraz bakterii izolowanych z kału ludzi były zdolne do wykorzystywania wszystkich badanych opornych dekstryn jako źródła węgla i energii. Płon komórek bakterii jelitowych (*Enterococcus*, *Clostridium*, *Bacteroides*) był niższy, niż bakterii probiotycznych; jedynie szczepy *Escherichia coli* rosły równie dobrze jak szczepy probiotyczne. Bakterie izolowane z kału osób dorosłych aktywniej wykorzystywały odporne dekstryny niż bakterie izolowane z kału dzieci. Z pośród 4 badanych dekstryn szczepy bakterii probiotycznych najlepiej wykorzystywały dekstrynę modyfikowaną kwasem cytrynowym, ogrzewaną przez 4 godziny i dekstrynę modyfikowaną kwasem winowym ogrzewaną przez 2 godziny, natomiast szczepy jelitowe wykorzystywały te dekstryny najslabiej.

W celu sprawdzenia jak dalece selektywne są odporne dekstryny przeprowadziłam wspólne hodowle bakterii w proporcjach i warunkach zbliżonych do tych, które występują w jelicie grubym. Na podstawie wcześniejszych wyników badań do tego etapu analiz wybrałam dwie dekstryny: te które dobrze wykorzystywane były przez szczepy probiotyczne, a słabiej przez szczepy jelitowe (dekstryna modyfikowana kwasem cytrynowym, ogrzewana przez cztery godziny oraz modyfikowana kwasem winowym, ogrzewana przez dwie godziny). Niezależnie od rodzaju dekstryny i wieku osób, od których pochodziły izolaty, zaobserwowałam korzystne zjawisko zdominowania środowiska przez probiotyczne szczepy *Bifidobacterium* oraz *Lactobacillus*. Jednak szczepy bakterii jelitowych również były zdolne do wzrostu, szczególnie zaobserwowano intensywny wzrost *Escherichia coli*, natomiast liczba

komórek pozostałych szczepów była niższa. Nie zaobserwowano istotnych różnic we wzroście bakterii izolowanych z kału dzieci i osób dorosłych.

Po wyznaczeniu indeksu prebiotycznego PI stwierdziłam, że wartość PI jest różna dla różnych grup wiekowych: najwyższa dla dzieci ośmioletnich, a najniższa dla dzieci rocznych. Spośród dwóch badanych dekstryn wykazałam wyższe wartości indeksu prebiotycznego dla dekstryny modyfikowanej kwasem cytrynowym niż dekstryny modyfikowanej kwasem winowym, co wskazuje na większą zdolność dekstryny modyfikowanej kwasem cytrynowym do selektywnej stymulacji wzrostu bakterii *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*.

W tych obszernych badaniach określiłam również udział i rodzaj produktów fermentacji 4 badanych opornych dekstryn przez bakterie probiotyczne i szczepy izolowane z kału ludzi. Stwierdziłam, że obecność opornych dekstryn w podłożu hodowlanym bakterii probiotycznych i jelitowych nie modyfikowała prawidłowego procesu fermentacji, a szczepy produkowały typowe metabolity. Spośród badanych dekstryn zaobserwowałam, że w obecności dekstryny modyfikowanej kwasem winowym fermentacja była bardziej homogenna, a kwas mlekowy stanowił nawet 92% wszystkich produktów. Zaobserwowałam nieznacznie wyższe stężenia produktów fermentacji wytworzone przez szczepy izolowane od osób dorosłych. Sposób otrzymywania odpornej dekstryny nie wpływał istotnie na rodzaj i stężenie produktów fermentacji.

Wyniki tych badań przed doktoratem przedstawiłam jako autor i współautor w postaci 3 prac oryginalnych, współautor 2 wystąpień ustnych na konferencjach międzynarodowych i 1 jako autor na konferencjach krajowych oraz jako autor i współautor 8 posterów prezentowanych na konferencjach międzynarodowych i 4 krajowych.

Efektem tych badań było przygotowanie po doktoracie 2 patentów (przyznanych w roku 2015), a wyniki badań były obszernie prezentowane i rozpowszechniane w 6 artykułach, 2 pracach przeglądowych, 1 monografii, 4 komunikatach ustnych (2 międzynarodowych i 2 krajowych), w postaci posterów na 13 konferencjach (10 międzynarodowych i 3 krajowych).

### Przed doktoratem

#### Prace oryginalne:

1. **Barczyńska R.**, Jochym K., Ślizewska K., Kapuśniak J., Libudzisz Z. (2010) The effect of citric acid-modified enzyme-resistant dextrin on growth and metabolism of selected strains of probiotic and other intestinal bacteria. *Journal of Functional Foods*, 2: 126-133. **IF<sub>2010</sub> = 1,308; MNiSW = 0 pkt.**
2. Ślizewska K., **Barczyńska R.**, Kapuśniak J., Libudzisz Z. (2008), The growth and end products of *Lactobacillus* probiotics strains in the presence of resistant dextrin. *Biotechnology, Serie F, Special volume* 366-370. **MNiSW = 2 pkt.**



3. Kapuśniak J., **Barczyńska R.**, Śliżewska K., Libudzisz Z. (2008) Wykorzystanie opornych dekstryn przez bakterie z rodzaju *Lactobacillus*. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 530, 445-457. **MNiSW = 6 pkt.**

Komunikaty ustne na konferencjach międzynarodowych:

1. Kapuśniak J., Jochym K., **Barczyńska R.**, Śliżewska K. (2008) Enzyme resistant chemically modified dextrans from potato starch and their utilization by probiotic bacteria, XVI International Starch Convention Cracow-Moscow, Cracow, 16-20.06.2008. Materiały str. 85-86.
2. Kapuśniak J., Jochym K., **Barczyńska R.**, Śliżewska K., Libudzisz Z. (2009) Enzyme resistant dextrin from potato starch as potential prebiotic, 4<sup>th</sup> International Dietary Fibre Conference, Vienna, Austria, 01-03.07.2009. Materiały str. nienumerowane.

Komunikaty ustne na konferencjach krajowych:

1. **Barczyńska R.**, Śliżewska K., Kapuśniak J., Jochym K. (2008) Nowe odporne dekstryny jako potencjalne prebiotyki, „Żywność współczesna szanse i zagrożenia” XIII Sesja Sekcji Młodej Kadry Naukowej Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności, Łódź, 28-29.05.2008. Materiały str. 93.

Prezentacje na konferencjach międzynarodowych:

1. **Barczyńska R.**, Jochym K., Kapuśniak J. (2008) Preparation, characteristics of novel enzyme-resistant dextrans from potato starch and their utilization by probiotic bacteria, Benefits and Risks of Bioactive Plant Compounds COST Action 926 Conference, Kraków Poland, 27-28.03.2008. Materiały str. 55.
2. **Barczyńska R.**, Śliżewska K., Kapuśniak J., Libudzisz Z. (2008) Fermentation products of enzyme-resistant dextrin by probiotic bacteria, European Conference on Probiotics and their Applications EUROBIO 2008, Cracow, 15-17.10.2008. Materiały str. 71.
3. Śliżewska K., **Barczyńska R.**, Kapuśniak J., Libudzisz Z. The growth and end products of *Lactobacillus* probiotic strains in the presence of resistant dextrin, International Symposium “New Research in Biotechnology”, Bucharest, 20-21.11.2008. Materiały str. 85.
4. Śliżewska K., **Barczyńska R.**, Kapuśniak J., Libudzisz Z. (2008) The growth and products of *Lactobacillus* probiotic strains the presence of resistant dextrin. Symposium “New Research in Biotechnology”, Bucharest, 20-21.11.2008. Materiały str. 9.3
5. Śliżewska K., **Barczyńska R.**, Kapuśniak J., Libudzisz Z. (2009) The fermentation of new resistant dextrin by *Bifidobacterium* strains, XI Anniversary Scientific Conference 120 Years of Academic Education in Biology 45 Years Faculty of Biology “Biology – Traditions and Challenges”, Sofia, Bulgaria, 27-29.05.2009. Materiały str. 168.

6. **Barczyńska R.**, Śliżewska K., Jochym K., Kapuśniak J., Libudzisz Z. (2009) The ability of *Lactobacillus casei* DN-114 001, *Bifidobacterium animalis* DN-173 010 and *Clostridium* bacteria to metabolize novel enzyme-resistant dextrans, Food and Function, International Scientific Conference on Nutraceuticals and Functional Foods, Zilina, Słowacja, 9-11.06.2009. Materiały str. 57-58.
7. **Barczyńska R.**, Śliżewska K., Kapuśniak J., Libudzisz Z. (2009) Resistant dextrin as the source of carbon for *Bifidobacterium* and *Clostridium*, Food and Function, International Scientific Conference on Nutraceuticals and Functional Foods, Zilina, Słowacja, 9-11.06.2009. Materiały str. 57.
8. Śliżewska K., **Barczyńska R.**, Kapuśniak J., Libudzisz Z. (2009) Resistant dextrin as the source of carbon for *Bifidobacterium* and *Bacteroides*, XXXII International Congress of the Society of Microbial Ecology and Disease, St. Petersburg, Russia, 28-29.10.2009. Materiały str. 24-25.

#### Prezentacje na konferencjach krajowych:

1. **Barczyńska R.**, Śliżewska K., Kapuśniak J. (2008) Wzrost i aktywność kwasząca *Lactobacillus rhamnosus* GG w pożywce zawierającej różne źródła węgla, „Żywność współczesna szanse i zagrożenia” XIII Sesja Sekcji Młodej Kadry Naukowej Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności, Łódź, 28-29.05.2008. Materiały str. 92.
2. **Barczyńska R.**, Śliżewska K., Kapuśniak J., Libudzisz Z. (2009) Oporne maltodekstryny jako substancje o właściwościach prebiotycznych, Interdyscyplinarne Seminarium Studenckie „Forum Młodej Nauki”, Częstochowa, 22.05.2009. Materiały str. 7.
3. Jochym K., **Barczyńska R.**, Kapuśniak J., Libudzisz Z. (2009) Charakterystyka opornych dekstryn ze skrobi ziemniaczanej oraz ich wykorzystanie przez bakterie o potwierdzonych właściwościach probiotycznych, 52. Zjazd PTCh i SITPChem., Łódź, 12-16.09.2009. Materiały str. 222.
4. **Barczyńska R.**, Śliżewska K., Kapuśniak J., Libudzisz Z. (2009) Otrzymywanie nowych opornych dekstryn i ich metabolizowanie przez bakterie probiotyczne i jelitowe, Mikrobiologia w Medycynie, Przemysle i Ochronie Środowiska, Łódź, 24-25.10.2009. Materiały str. 55-56.

#### **Po doktoracie**

##### Patenty:

1. Jochym K., Kapuśniak J., **Barczyńska R.**, Libudzisz Z. Śliżewska K. (2015) Preparat o właściwościach prebiotycznych PL.220965, Polska, Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej
2. Kapuśniak J., Jochym K., **Barczyńska R.**, Libudzisz Z., Śliżewska K. (2015) Preparat o właściwościach prebiotycznych PL.221497, Polska, Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej

Prace oryginalne:

1. **Barczyńska R.**, Ślizewska K., Libudzisz Z., Kapuśniak K., Kapuśniak J. (2015) Prebiotic properties of potato starch dextrins. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 69, 1031-1041. **IF<sub>2015</sub> = 0,573; MNiSW = 15 pkt.**
2. Slizewska K., **Barczynska R.**, Kapusniak J., Kapusniak K. (2015) The Effect of Tartaric Acid-modified Enzyme-resistant Dextrin from Potato Starch on Growth and Metabolism of Intestinal Bacteria, *Plant Pathology & Microbiology*, 6(5), 1000269. **MNiSW = 7 pkt.**
3. **Barczynska R.**, Slizewska K., Jochym K., Kapusniak J., Libudzisz Z. (2012) The tartaric acid-modified enzyme-resistant dextrin from potato starch as potential prebiotic. *Journal of Functional Foods* 4, 954-962. **IF<sub>2012</sub> = 2,632; MNiSW = 25 pkt.**
4. Ślizewska K., Kapuśniak J., **Barczyńska R.**, Jochym K. (2012) Resistant dextrins as prebiotic. W: *Carbohydrates - Comprehensive studies on glycobiology and glycotecnology*. Chuan-Fa C. (red.). In Tech, Chorwacja, 2012, 261-288. **MNiSW = 5 pkt.**
5. Ślizewska K., **Barczyńska R.**, Jochym K., Kapuśniak J. (2011) Chromatograficzna analiza produktów fermentacji opornych dekstryn, *Przemysł chemiczny* 90(5), 1045-1048. **IF<sub>2011</sub>=0,414; MNiSW = 15 pkt.**
6. Ślizewska K., **Barczyńska R.**, Kapuśniak J., Jochym K. (2011) Resistant dextrins from potato starch as substances stimulating growth of *Lactobacillus* bacteria. *Sepsis* 1 (4), 136-137. **MNiSW = 2 pkt.**

Prace przeglądowe:

1. Slizewska K., Nowak A., **Barczynska R.**, Libudzisz Z. (2013) Prebiotyki - definicja, właściwości i ich zastosowanie w przemyśle. *ŻYWNOSC. NAUKA TECHNOLOGIA JAKOSC.* 1(86), 5-20. **IF<sub>2013</sub> = 0,311; MNiSW = 15 pkt.**
2. **Barczyńska R.**, Slizewska K., Libudzisz Z., Litwin L. (2013) Rola mikrobioty jelit w utrzymaniu prawidłowej masy ciała. *Standardy Medyczne, Pediatria* 1(10) 55-62. **MNiSW = 4 pkt.**
3. **Barczyńska R.** (2014) Mikrobiota jelitowa i prebiotyki - znaczenie u niemowląt i dzieci. *Standardy Medyczne, Pediatria* 5 (11), 711-722. **MNiSW = 4 pkt.**

Rozdział w monografii:

1. Ślizewska K., Kapuśniak J., **Barczyńska R.**, Jochym K. (2012) Resistant Dextrins as Prebiotic. W: *Carbohydrates - Comprehensive studies on glycobiology and glycotecnology*, pod redakcją Chuan-Fa Chang, In Yech, Chorwacja, InTech Publisher, New york USA2012, ISBN 978-953-51-0864-1, s. 261-288. **MNiSW = 5 pkt.**

Komunikaty ustne na konferencjach międzynarodowych:

1. Kapusniak J., **Barczynska R.**, Jochym K., Slizewska K., Libudzisz Z. (2011) Prebiotic properties of enzyme-resistant dextrin from potato starch. IV Congress of Polish Biotechnology and IV

Eurobiotech "Four Colours of Biotechnology", Krakow Poland, 12 -15.10.2011. Materiały str. 131.

2. Kapusniak J., Jochym K., **Barczyńska R.** (2012) New starch preparations with prebiotic properties – from structure to functionality and health. 5<sup>th</sup> International Dietary Fibre Conference, Rome, Italy, Centro Congressi Fontana di Trevi, 7-9.05.2012. Materiały str. 43.

#### Komunikaty ustne na konferencjach krajowych:

1. Kapuśniak J., Kapuśniak K., **Barczyńska R.** (2014) Substancje prebiotyczne ze skrobi ziemniaczanej w żywieniu i dla zdrowia. Pierwsze Śląskie Seminarium Probiotyczne, Probiotyki, Synbiotyki i Prebiotyki w Profilaktyce Zdrowia. Częstochowa, 15.05. 2014. Materiały nienumerowane strony.
2. Kapuśniak K., Kapuśniak J., Żarski A., Nebesny E., **Barczyńska R.** (2014) Rozpuszczalny błonnik pokarmowy ze skrobi ziemniaczanej o właściwościach prebiotycznych dla przemysłu napojów, VIII Konferencja Naukowa pt. „Ziemniak spożywczy i przemysłowy oraz jego przetwarzanie”, Brunów, 12-14.05.2014. Materiały nienumerowane strony.

#### Wyróżnione prezentacje na konferencjach międzynarodowych:

1. Śliżewska K, Libudzisz Z., **Barczyńska R.**, Kapuśniak J. (2011) Dextrine resistente avec les memes proprietes qu'un probiotique. 39 Międzynarodowa Wystawa Wynalazków „International Exhibition of Inventions of Geneva”. Genewa, Szwajcaria 6-10.04.2011 (**złoty medal**).
2. Śliżewska K, Libudzisz Z., **Barczyńska R.**, Kapuśniak J. (2011) Novi otporni dekstrin kao supstancija sa značajkama prebiotika. IV Międzynarodowe Targi Innowacji, Produktów i Technologii w Rolnictwie i Przemysle Spożywcym „AGRO ARCA 2011”. Slatina, Chorwacja 6-8.05.2011 (**złoty medal**).

#### Prezentacje na konferencjach międzynarodowych:

1. Jochym K., **Barczyńska R.**, Ptak S., Kapusniak J. (2011) Prebiotic properties of dextrans from maize starch IV Congress of Polish Biotechnology and IV Eurobiotech "Four Colours of Biotechnology", Krakow Poland, 12 -15.10. 2011. Materiały str. 132.
2. Slizewska K., **Barczyńska R.**, Kapusniak J., Jochym K., (2011) The novel resistant chemically modified dextrans from potato starch, International Yakult Symposium, Vienna (Austria), 26-27.05.2011. Materiały str. 78.
3. Jochym K., Ptak S., **Barczyńska R.**, Kapusniak J. (2012) Enzyme-resistant dextrans from maize starch as substances with prebiotic properties, 5<sup>th</sup> International Dietary Fibre Conference Rome, Italy, Centro Congressi Fontana di Trevi, 7-9.05.2012. Materiały str.137.
4. Slizewska K., **Barczyńska R.**, Kapusniak J., Jochym K. (2012) Selectively stimulated growth of intestinal microbiota by the new enzyme-resistant dextrin, 35<sup>th</sup> International Congress of the Society for Microbial Ecology and Disease (SOMED), Valencia (Spain), 15-17.05 2012. Materiały str. 68.

5. **Barczyńska R.**, Slizewska K., Kapusniak J., Kapusniak (Jochym) K., Libudzisz Z. (2013) Enzyme-resistant dextrans from potato starch stimulating growth of probiotic strains. Microbiology and Immunology of Mucosa Probiotics Conference, Kudowa Zdrój, Poland, 28-31.05.2013. Materiały str. 58. **(poster nagrodzony wyróżnieniem)**
6. Slizewska K., **Barczyńska R.**, Kapusniak J., Jochym K. (2013) Resistant dextrans from potato starch as potential prebiotic. III Workshop on Microbiology in Health and Environmental Protection MIKROBIOT, Poland, Lodz, 17-20.09.2013. Materiały str. 73.
7. Kapusniak J., Kapusniak K., **Barczyńska R.** (2014) Products of termolysis of potato starch treated with hydrochloric and citric acid as potential prebiotics. International Scientific Conference on Probiotics and Prebiotics – IPC Hungary, 24–26.06.2014. Materiały str. 106-107.
8. **Barczyńska R.**, Kapusniak J., Slizewska K., Litwin M., Szalecki M. (2015) Dietary fiber preparations as potential prebiotics. 2 Polish-Czech Probiotics Conference Microbiology, Immunology & allergy. Bielawa, Poland, 24-26.05.2015. Materiały str. 56.

Prezentacje na konferencjach krajowych:

1. Ptak S., Jochym K., **Barczyńska R.** (2012) Preparaty skrobiowe odporne na trawienie enzymatyczne o potencjalnych właściwościach prebiotycznych 17<sup>th</sup> Conference of young researchers section of Polish society of food technologists "Food Diversity", Kraków 10-11.05.2012. Materiały nienumerowane strony.
2. Slizewska K., **Barczyńska R.**, Kapusniak J., Jochym K. (2013) Nowe odporne dekstryny ze skrobi ziemniaczanej jako potencjalne prebiotyki. III Krajowa Konferencja Naturalne substancje roślinne aspekty strukturalne I aplikacyjne, Puławy, 4-6.09.2013. Materiały str. 323-324.
3. Kapuśniak K., Żarski A., **Barczyńska R.**, Nebesny E., Kapuśniak J. (2014) Rozpuszczalny błonnik pokarmowy ze skrobi ziemniaczanej o właściwościach prebiotycznych dla przemysłu napojów. 57 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego i Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego. Chemia – Nadzieje i Marzenia, Częstochowa, 14-18.09.2014. Materiały str. 390.

### **5.3. Określenie wpływu opornych dekstryn ze skrobi ziemniaczanej na mikrobiotę jelit ludzi w różnym wieku.**

W latach 2010-2013 w ramach projektu NCN (nr NN 312 335339) pt.: „Modyfikacja zespołu mikroorganizmów jelitowych ludzi w różnym wieku pod wpływem prebiotycznych dekstryn (badania *in vitro* i *in vivo* na zwierzętach doświadczalnych)” kierowanego przez dr hab. inż. Katarzynę Ślizewską z Politechniki Łódzkiej, jako wykonawca zajmowałam się określeniem wpływu opornych dekstryn na liczebność szczepów bakterii *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Escherichia coli*, *Enterococcus* i *Fusobacterium* wyizolowanych z kału dzieci,

osób trzydziestoletnich oraz siedemdziesięcioletnich. Do badań wybrałam te bakterie, ponieważ są one charakterystyczne i liczbowo dominujące w jelitach danej grupy wiekowej. Prowadziłam badania *in vitro* hodując wyizolowane szczepy bakterii z kału ludzi w różnym wieku w podłożu z dodatkiem odpornej dekstryny modyfikowanej kwasem cytrynowym jako źródło węgla. Wykazałam, że oporna dekstryna stymuluje wzrost szczepów bakterii *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Escherichia coli* oraz *Enterococcus* wyizolowanych zarówno z kału dzieci jak i od osób dorosłych oraz seniorów. Po 24 godzinach hodowli w obecności odpornej dekstryny wykazałam najwyższy przyrost szczepów *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* wyizolowanych z kału dzieci i osób dorosłych (8,97 log jtk/ml; 9,04 log jtk/ml), natomiast przyrost tych szczepów wyizolowanych z kału seniorów był niewielki i pozostawał na poziomie innokulum. Przyrost szczepów *Escherichia coli* oraz *Enterococcus* był nieco niższy niż bakterii *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* wynosił odpowiednio (od 7,76 do 8,69 log jtk/ml; od 8,30 do 8,82 log jtk/ml; najwyższy u dzieci rocznych, najniższy u seniorów). Szczepy *Clostridium* i *Bacteroides* znacznie słabiej wykorzystywały oporną dekstrynę jako źródło węgla, nie wykazałam przyrostu szczepów *Clostridium* wyizolowanych od dzieci rocznych oraz *Bacteroides* pochodzących od osób dorosłych i seniorów. Zaobserwowałam niewielki przyrost szczepów *Clostridium* wyizolowanych z kału dzieci ośmioletnich, osób trzydziestoletnich i seniorów (od 7,3 do 7,91 log jtk/ml). W tych badaniach moim szczególnym osiągnięciem jest wykazanie, że oporna dekstryna otrzymana ze skrobi ziemniaczanej z udziałem kwasu cytrynowego stanowi źródło węgla dla korzystnych szczepów jelitowych niezależnie od wieku osób, od których były izolowane, jednak lepiej jest wykorzystywana przez szczepy izolowane z kału dzieci, a najslabiej przez izolaty pochodzące z kału seniorów.

W ramach projektu kierowanego przez dr hab. inż. Katarzynę Śliżewską brałam również udział w analizie i interpretacji wyników badań *in vivo* na szczurach dotyczących zmian mikrobioty jelit ludzi w różnym wieku pod wpływem dekstryn, czego dowodem są poniższe doniesienia naukowe.

Rezultaty powyższych badań jako współautor, przedstawiłam w postaci 1 artykułu i 3 posterów prezentowanych na konferencjach międzynarodowych.

Prace oryginalne:

1. Śliżewska K., Libudzisz Z., **Barczyńska R.**, Kapuśniak J., Zduńczyk Z., Juśkiewicz J. (2015) Dietary resistant dextrins positively modulate fecal and cecal microbiota composition in young rats. *Acta Biochimica Polonica* 62, 677-681. IF<sub>2015</sub> = **1,187**; MNiSW = **15 pkt.**

Prezentacje na konferencjach międzynarodowych:

1. Śliżewska K., **Barczyńska R.**, Kapuśniak J., Zduńczyk Z., Juśkiewicz J. (2013) Gut microbiota of rats on the consumption of resistant dextrin. The second international conference on

microbial diversity „Microbial interactions in complex ecosystems”. Turyn, Włochy 23-25.10.2013. Materiały str. 355-356.

2. Slizewska K., Libudzisz Z., **Barczyńska R.**, Kapusniak J., Zduńczyk Z., Juśkiewicz J. (2015) The Influence of resistant dextrins on the composition of rat's intestinal microflora (FISH method) 2 Polish-Czech Probiotics Conference Microbiology, Immunology & allergy, Bielawa, Poland 24-26.05.2015. Materiały str. 42.
3. Slizewska K., Libudzisz Z., **Barczyńska R.**, Kapusniak J., Zduńczyk Z., Juśkiewicz J. (2015) Determination of the influence of the resistant dextrin on the rat's intestinal microflora. 6<sup>th</sup> International Weigl Conference on Microbiology, Gdańsk, Poland 8-10.07.2015. Materiały str. 114.

#### 5.4. Produkty mleczne bez laktozy wzbogacone oporną dekstryną

Ważnym obszarem mojej pracy naukowej jest poszukiwanie różnych zastosowań otrzymanych opornych dekstryn, jednym z kierunków jest wykorzystanie dekstryn w produktach mlecznych. Ze względu na rosnącą populację osób z nietolerancją laktozy postanowiłam sprawdzić czy oporna dekstryna ze skrobi ziemniaczanej modyfikowana kwasem cytrynowym i ogrzewana w 130<sup>0</sup>C przez 3 godziny jako substancja o właściwościach prebiotycznych, może aktywować wzrost i rozwój wybranych szczepów bakterii jelitowych w gotowym produkcie spożywczym - mleku bez laktozy. Dodatkowo sprawdziłam rodzaj i stężenie kwasu mlekowego oraz SCFA i BCFA, jak również wyznaczyłam indeks prebiotyczny w gotowym produkcie spożywczym. Ponieważ do tej pory moje badania nad opornymi dekstrynami wykonywane były w warunkach laboratoryjnych na podłożach mikrobiologicznych lub w próbkach kału, istotne było przeprowadzenie badań i potwierdzenie właściwości prebiotycznych dekstryny w gotowym produkcie spożywczym.

W badaniach tych istotnym osiągnięciem było wykazanie, że oporna dekstryna ze skrobi ziemniaczanej aktywowała wzrost szczepów bakterii z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, ich liczebność po 12 godzinach inkubacji była najwyższa z pośród badanych szczepów i wynosiła 9.34 oraz 9.31 log jtk/ml. Po 48 godzinach inkubacji wykazałam dominację szczepów z rodzaju *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* nad *Clostridium* i *Bacteroides*. Liczebność korzystnych dla zdrowia bakterii fermentacji mlekowej wynosiła dla *Lactobacillus* 9.2 log jtk/ml i *Bifidobacterium* 8.92 log jtk/ml, natomiast liczebność szczepów *Clostridium* i *Bacteroides* była o kilka rzędów wielkości mniejsza i wynosiła odpowiednio 5.83 i 5.9 log jtk/ml. W mleku bez laktozy z dodatkiem dekstryny indeks prebiotyczny był dodatni i zwiększał się wraz z czasem prowadzenia inkubacji. Po 24 godzinach inkubacji wynosił 0.091, natomiast po 48 godzinach inkubacji 0.213. Dodatek dekstryny do mleka bez laktozy spowodował istotny wzrost stężenia kwasu mlekowego (490 mg/100ml) oraz wzrost całkowitego stężenia SCFA

(725 mg/100ml) i obniżenia o połowę całkowitego stężenia BCFA w stosunku do próby kontrolnej, którą było mleko bez laktozy i bez dekstryny.

Zastosowanie dekstryny w gotowym produkcie – mleku bez laktozy przyczyniło się do aktywacji wzrostu korzystnych dla zdrowia mikroorganizmów, wzrostu stężenia kwasu mlekowego, całkowitego stężenia krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych oraz do zmniejszenia stężenia niekorzystnych gnilnych kwasów BCFA, tym samym potwierdziłam swoje wcześniejsze osiągnięcie dotyczące właściwości prebiotycznych opornej dekstryny. Intensywny wzrost szczepów *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, produkcja kwasów szczególnie kwasu mlekowego, a tym samym obniżenie pH w badanym mleku wpłynęło na uzyskanie końcowego produktu w postaci mleka fermentowanego. Spożywanie mleka bez laktozy suplementowanego oporną dekstryną ze skrobi ziemniaczanej może korzystnie wpłynąć na układ mikrobioty jelit ludzi z nietolerancją laktozy, ograniczyć procesy gnilne w jelicie grubym, a tym samym zwiększyć przyswajalność wapnia z mleka. Jednak, aby potwierdzić ten wniosek planuję w przyszłości wykonać badania *in vivo* oraz przeprowadzić badania sensoryczne gotowego produktu.

Wyniki tych badań przedstawiłam w 1 artykule naukowym i zaprezentowałam w postaci wykładu na jednej konferencji.

#### Prace oryginalne:

1. **Barczyńska R.**, Zawierucha I., Bandurska K., Kapuśniak J. (2018) Lactose-free milk enriched with resistant dextrin. *Postępy Higieny Medycyny Doświadczalnej* 72, 781-787. IF<sub>2017</sub> = 0,783; MNiSW = 15 pkt.

#### Prezentacje na konferencjach krajowych:

1. **Barczyńska R.** (2018) Mleko bez laktozy wzbogacone dekstryną, IX Sympozjum Naukowe Probiotyki w Żywności, Kiry, 18-20 kwietnia 2018. Materiały konf. errata.

### **5.5. Skrobia oporna - perspektywy jej wykorzystania w dietoterapii cukrzycy typu 2.**

Analizując doniesienia naukowe dotyczące dekstryn zauważyłam, że istnieje możliwość wykorzystania skrobi odpornej w dietoterapii cukrzycy. Cukrzyca typu 2 dotyka w krajach rozwiniętych kilka procent populacji, a zachorowalność ma stałe tendencję wzrostową. Przyczyna tkwi w występowaniu zwiększonej oporności na insulinę i upośledzeniu sekrecji insuliny. Otyłość jest pośrednio jedną z przyczyn występowania cukrzycy typu 2.



Zrównoważona dieta zarówno w prewencji, jak i leczeniu otyłości może wpłynąć na ograniczenie postępowania choroby i wystąpienie powikłań z nią związanych. Skrobia oporna wprowadzona do diety (na skutek jej hydrolitycznego działania) może odgrywać dużą rolę w terapii pacjentów chorujących na cukrzycę typu 2. Możliwość zastosowania preparatów skrobi opornej w diecie cukrzycowej wynika, bezpośrednio i pośrednio, ze zdolności tych polisacharydów do normalizacji wybranych parametrów gospodarki węglowodanowej oraz lipidowej organizmu. Wykazano, iż podwyższone stężenie SCFA w organizmie dodatnio koreluje z obniżeniem koncentracji wolnych kwasów tłuszczowych w surowicy, prowadząc w ten sposób do poprawy wrażliwości tkanek obwodowych na insulinę. W przyszłości planuję wykonać badania sprawdzające możliwości zastosowania opornych dekstryn w dietoterapii cukrzycy.

Wyniki analizy literatury na temat możliwości zastosowania skrobi opornej w dietoterapii cukrzycy przedstawiłam jako współautor w jednym artykule przeglądowym.

1. Długosz E., Skłarek A., **Barczyńska R.** (2018) Skrobia oporna - perspektywy wykorzystania w dietoterapii cukrzycy typu 2. *Problemy Nauk Medycznych i Nauk o Zdrowiu* 5, 5-28. **MNiSW = 5 pkt.**

## **5.6. Izolacja i identyfikacja szczepów bakterii z różnych środowisk naturalnych.**

Moje kolejne zainteresowanie naukowe, które realizuję równocześnie z pozostałymi, to izolacja szczepów bakterii z różnych środowisk naturalnych. Izolacje te wykonuję w celu poszukiwania szczepów o działaniu korzystnym na organizm ludzki oraz na środowisko, tworząc tym samym kolekcję własną. Szczepy te izolowane są głównie z kału ludzi w różnym wieku (dzieci, osoby dorosłe i w podeszłym wieku) oraz żywności fermentowanej, jak również z mleka kobiecego. Łącznie wyizolowałam ponad 300 szczepów bakterii należących do rodzaju *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Escherichia coli*, *Fusobacterium*. Identyfikacja tych szczepów odbywa się stopniowo i sukcesywnie za pomocą testów API, metody FISH oraz z wykorzystaniem reakcji 16S RNA. W najbliższym czasie sekwencje nukleotydowe szczepów o najkorzystniejszych właściwościach będą deponowane w GenBank National Center of Biotechnology Information. Do tej pory zdeponowano Sekwencje izolatów *Lactobacillus* *Enterococcus* oznaczonych numerem akcesyjnym MH349756.

## 5.7. Zastosowanie bakterii probiotycznych i jelitowych w ochronie i przechowalnictwie owoców i warzyw.

W celu zapobiegania lub zwalczania chorób roślin, powszechnie stosowane są chemiczne środki ochrony roślin. Nadmierne stosowanie takich środków może jednak prowadzić do zanieczyszczenia środowiska, zachwiania równowagi biologicznej w agrocenozach, skutkiem czego jest pojawianie się nowych, odpornych patogenów roślin, redukcji organizmów pożytecznych, a także do obecności pozostałości pestycydów w żywności, co stanowi zagrożenie dla zdrowia konsumentów. W związku z tym ciągle poszukuje się nowych alternatywnych środków, które to zastąpiłyby, a przynajmniej uzupełniły istniejące strategie oparte na chemicznych środkach. Taką alternatywą mogą być środki zawierające efektywne mikroorganizmy (EM), zawierające głównie bakterie fermentacji mlekowej. Przedmiotem moich zainteresowań naukowych są również szczepy i preparaty probiotyczne wykorzystywane w ochronie i przechowalnictwie owoców oraz warzyw. W swoich badaniach skoncentrowałam się na preparatach własnych uzyskanych po hodowli wspólnej szczepów izolowanych z kału dzieci rocznych: trzy szczepy *Lactobacillus* i trzy szczepy *Bifidobacterium* oraz po hodowli wspólnej komercyjnych szczepów probiotycznych (Barczyńska, 2010) izolowanych z produktów spożywczych *Bifidobacterium bifidum* Bb12, *Bifidobacterium animalis ssp. animalis*, *Lactobacillus Shirota*, *Lactobacillus casei* GG, *Lactobacillus casei* 114 001 oraz na preparatach EmFarma™ i EmFarma Plus™ udostępnionych przez firmę ProBiotics Polska™. Prowadziłam badania *in vitro* stosując metodę dyfuzyjno - krążkową (metoda Kirby-Bauera) sprawdzając działanie antagonistyczne preparatów własnych w stosunku do pleśni *Botrytis cinerea* Pers, a następnie porównałam ich działanie z oddziaływaniem preparatów handlowych EmFarma™ i EmFarma Plus™ stosując te samą metodykę i te same warunki hodowli. Wykonałam również badanie *in vivo* spryskując świeże owoce truskawek odmiany „Hokent” preparatami własnymi w stężeniach 5 i 10% (OD preparatu nierozcieńczonego 1,51), a następnie porównałam ich działanie z oddziaływaniem preparatów handlowych EmFarma™ i EmFarma Plus™, stosując takie samo stężenie. Dodatkowo wykonałam eksperyment polowy na ogórkach gruntowych odmiana „Śremski” i pomidorach gruntowych odmiana „Złoty Ożarowski”, spryskując sadzonki ogórków i pomidorów preparatami własnymi o stężeniu 5% co 3 dni, przez 2 miesiące, takie doświadczenie wykonałam również stosując preparaty handlowe EmFarma™ i EmFarma Plus™.

Wyniki badań przeprowadzonych w warunkach *in vitro* pozwoliły na wyselekcjonowanie najkorzystniejszych preparatów hamujących rozwój szarej pleśni *Botrytis cinerea* Pers. Największe strefy zahamowania wzrostu pleśni wykazałam dla preparatu własnego

otrzymanego z hodowli szczepów izolowanych z kału dzieci, podobne wyniki uzyskałam wykorzystując preparat EmFarma Plus™. Podczas eksperymentu polowego wykazałam, że preparat uzyskany z izolatów dziecięcych spowolnił proces psucia się zarówno pomidorów jak i ogórków podczas wzrostu oraz w trakcie ich przechowywania. W podobny sposób oddziaływał preparat EmFarma™. Warzywa zachowywały świeżość i jędrność średnio o tydzień dłużej w stosunku do warzyw kontrolnych, u których nie stosowano preparatów.

Efekty tych badań przedstawiłam na dwóch konferencjach: w postaci wykładu i 2 posterów prezentowanych na konferencjach krajowych. Z wyników tych badań przygotowano jeden artykuł, który obecnie jest w recenzji.

#### Prace oryginalne:

1. **Barczyńska R.**, Rychter P., Herman B., Górski B. Preliminary evaluation of selected beneficial microorganisms for agricultural and postharvest application. Probiotics and Antimicrobial Proteins - w recenzji.

#### Komunikat ustny na konferencji krajowej:

1. **Barczyńska R.**, Herman B., Rychter P. (2013) Wpływ preparatów probiotycznych EmFarma, EmFarma Plus i własnych na ograniczenie wzrostu i rozwoju pleśni szarej *Botrytis cinerea*. II Śląska konferencja „Biologizacja rolnictwa – probiotechnologia w uprawach i hodowli. Metody zwiększające bezpieczeństwo pracy i konkurencyjność rolnictwa”, Częstochowa, 13.11.2013. Materiały brak numeracji stron.

#### Prezentacje na konferencjach krajowych:

1. **Barczyńska R.**, Herman B., Rychter P., Dądela R. (2014) Preparaty komercyjne i własne jako środki ochrony roślin stosowane w zwalczaniu pleśni szarej *Botrytis Cinerea* Pers. 57 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego i Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego. Chemia – Nadzieje i Marzenia, Częstochowa, 14-18.09.2014. Materiały str. 387.
2. Rychter P., Herman B., **Barczyńska R.**, Dądela R. (2014) Zastosowanie preparatów biologicznych w przechowalnictwie warzyw. 57 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego i Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego. Chemia – Nadzieje i Marzenia, Częstochowa, 14-18.09.2014. Materiały str. 391.

## **5.8. Właściwości i możliwości zastosowania peptydów antydrobnoustrojowych.**

Moim dodatkowym zainteresowaniem naukowym jest poznawanie i poszukiwanie nowych substancji, peptydów, które mają działanie antydrobnoustrojowe w różnych środowiskach, również w organizmie ludzkim.

W tym celu dokonałam przeglądu literatury i skupiłam się na ekspresji, strukturze, właściwościach i funkcji ludzkiej katelicyny LL-37, która może być stosowana jako środek leczniczy przeciwko różnym chorobom bakteryjnym i wirusowym, nowotworowym oraz trudno gojącym się ranom. Katelicyny są antybakteryjnymi peptydami wytwarzanymi przez ludzi i zwierzęta w odpowiedzi na patogenne drobnoustroje. W przypadku wytworzenia się stanu zapalnego w organizmie katelicyny działając bezpośrednio i selektywnie na błonę komórkową patogenu, są w stanie inaktywować wzrost i rozwój bakterii patogennych, zarówno gram dodatnich jak i gram ujemnych, hamując tym samym ich kolonizację. Katelicyny hamują i niszczą biofilmy bakteryjne oraz posiadają właściwości antywirusowe i przeciw pasożytnicze. Mogą również odgrywać rolę w angiogenezie, gojeniu ran i regulacji apoptozy. Katelicyny mogą bezpośrednio i selektywnie niszczyć błony komórek nowotworowych, nie atakując normalnych komórek, co stwarza nowe możliwości rozwoju terapii przeciwnowotworowych. Jednak rola katelicyn w powstawaniu nowotworów jest dwustronna. Peptyd obronny gospodarza LL-37 może oddziaływać jako nowy modulator wzrostu guza i przerzutów w różnych typach nowotworów. Katelicyny mogą również uczestniczyć w karcynogenezie. Ze względu na szerokie spektrum aktywności LL-37 istnieje możliwość zastosowania go w farmakoterapii. Peptydy katelicyny mogą służyć jako wzorzec do opracowania nowoczesnych leków przeciwdrobnoustrojowych i przeciwwirusowych. LL-37 jest doskonałym kandydatem do opracowania leków na zainfekowane rany.

Efektom zainteresowania tym zagadnieniem jest współautorstwo publikacji naukowej.

1. Bandurska K., Berdowska A., **Barczyńska-Felusiak R.**, Krupa P. (2015) Unique features of human cathelicidin LL-37. *BioFactors* 41(5), 289–300. **IF<sub>2015</sub> = 4,592; MNiSW = 35 pkt.**

### **5.9. Właściwości i zastosowanie przeciwgrzybiczne nowego polimeru kwasu indolo-3-karboksylowego z kobaltem (II).**

W swojej pracy naukowej zjamuję się również badaniem właściwości przeciw bakteryjnych i grzybiczych różnych nowo powstałych związków chemicznych. Badałam możliwość zastosowania polimeru kwasu indolo-3-karboksylowego z kobaltem (II) jako substancji hamującej wzrost szczepu *Astergillus niger* i *Candida albicans*. Nowy związek kompleksowy kobaltu (II)  $[\text{Co}(\text{I3CAH})_2(\text{H}_2\text{O})]_n$ , w którym  $n$  jest liczbą jednostek  $[\text{Co}(\text{I3CAH})_2(\text{H}_2\text{O})]$  w polimerze koordynacyjnym, a I3CAH jest O-deprotonowanym jonem

kwasy indolilo-3-karboksylowego (I3CAH<sub>2</sub>) został zsyntetyzowany i scharakteryzowany przy użyciu dyfrakcji rentgenowskiej monokryształu i spektroskopii w podczerwieni. W przyszłości polimer ten może być stosowany jako środek ochrony roślin i żywności przed pleśnią (w zastępstwie za toksyczne E230 bifenyl, E231 ortofenylofenol, E232 ortofenylofenolan sodu) lub do produkcji leków przeciwgrzybiczych.

Z zastosowaniem metody płytkowej, gdzie na podłoże PDA wysiewałam badane szczepy i nanosiłam polimer kwasu indolo-3-karboksylowego z kobaltem (II) zbadałam wpływ tego związku na wzrost szczepów *Astergillus niger* i *Candida albicans*. Wykazałam wysoką aktywność przeciw drobnoustrojową tej substancji. Po dwóch dniach trwania eksperymentu liczebność kolonii *Candida albicans* wynosiła  $3,2 \times 10^2$  jtk/ml, podczas gdy w próbie kontrolnej bez badanego związku wynosiła  $5,6 \times 10^8$  jtk/ml. Nowo zsyntetyzowany polimer powodował istotne ograniczenie wzrostu *Astergillus niger*, po dwóch dniach inkubacji strefa zahamowania wzrostu wynosiła od 4,0 do 5,1cm (przy średnicy szalki 5,5cm). Jednak po przedłużeniu inkubacji do 7 i 14 dni szczep strefa zahamowania wzrostu uległa zmniejszeniu i po 14 dniach wynosiła około 2,8cm.

Efektom tych badań jest zgłoszenie patentowe oraz jeden artykuł naukowy.

Zgłoszenie patentowe:

1. Związek kompleksowy kobaltu(II), oraz jego zastosowanie Nr zgłoszenia P.425954, 16.06.2018r.

Prace oryginalne:

1. Szmigiel K., Nentwig M., Oeckler O., **Barczyńska-Felusiak R.**, Morzyk-Ociepa B. (2018) Crystal structure, vibrational spectroscopic characterization and antifungal activity of a novel coordination polymer of indole-3-carboxylic acid with cobalt(II) and a comparison with the isostructural Zn(II) complex. *Inorganic Chemistry Communications* 97, 56-62. **IF<sub>2017</sub> = 1,810; MNiSW = 25 pkt.**

**Wynalazek ten został wyróżniony srebrnym medalem na International Warsaw Invention Show IWIS 2018.**

Dowodem uznania w skali międzynarodowej mojego doświadczenia w zakresie mikrobiologii, mikrobioty jelit, probiotyków, skrobi opornej i dekstryn jest powierzenie mi recenzowania artykułów dotyczących tej tematyki w prestiżowych czasopismach, takich jak The Journal of Nutrition (4.398), Beneficial Microbes (IF=2,923), Journal of the Science of Food and Agriculture (IF=2,463), Plant Foods for Human Nutrition (IF=2,368), PLOS ONE (IF=2,806), Journal of Functional Foods (IF=3,144), Folia Microbiologica (IF=1,521), Journal of Medicinal Food (IF=1,954), Quality Assurance and Safety of Crops & Foods (IF=0,558). Ogółem recenzowałam 31 artykułów.

Tabela 1. Zestawienie liczbowe opublikowanych prac naukowych z podaniem liczby punktów z listy MNiSW oraz wskaźnika *Impact Factor*

L.p	Publikacja	Liczba publikacji		Liczba punktów z listy MNiSW	<i>Impact Factor</i> wg roku	Suma punktów z listy MNiSW
		Przed doktoratem	Po doktoracie			
<b>A. Publikacje w czasopismach naukowych posiadających współczynnik wpływu <i>Impact Factor</i> (IF), znajdujących się w bazie <i>Journal Citation Reports</i> (JCR)</b>						
1.	Polish Journal of Microbiology 2015		1	15	0,697	15
2.	Polish Journal of Microbiology 2018		1	15	0,784	15
3.	Plant Foods for Human Nutrition		1	35	2,368	35
4.	Journal of Functional Foods 2015		1	45	3,574	45
5.	Journal of Functional Foods 2016		1	45	3,144	45
6.	Journal of Functional Foods 2010	1		0	1,308	0
7.	Journal of Functional Foods 2012		1	25	2,632	25
8.	Acta Biochimica Polonica		2	15	2x1,187	2x15
9.	Quality Assurance and Safety of Crops & Foods		1	20	0,891	20
10.	Journal of the Science Food Agriculture		1	35	1,759	35
11.	Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 2015		1	15	0,573	15
12.	Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej 2018		1	15	0,783	15
13.	Przemysł chemiczny		1	15	0,414	15
14.	ŻYWNOSC. NAUKA TECHNOLOGIA JAKOSC.		1	15	0,311	15
15.	BioFactors		1	35	4,592	35
16.	Inorganic Chemistry Communications		1	25	1,810	25
<b>Razem</b>		<b>1</b>	<b>16</b>		<b>28,014</b>	<b>385</b>
<b>B. Publikacje w czasopismach naukowych nieposiadających współczynnika wpływu IF, wymienione w części B wykazu Ministra</b>						
1.	Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych	2		6		2x6
2.	Standardy Medyczne, Pediatria		2	4		2x4
<b>Razem</b>		<b>2</b>	<b>2</b>			<b>20</b>
<b>C. Rozdziały w monografiach naukowych w języku angielskim</b>						

1.	Carbohydrates - Comprehensive studies on glycobiology and glycotecology		1	5		5
2.	Dietary Fibre – New frontiers for food and health, Wageningen Academic Publishers, Netherlands	1		5		5
<b>Razem</b>		<b>1</b>	<b>1</b>			<b>10</b>
<b>D. Inne</b>						
1.	Journal of Nutritional Ecology and Food Research		1	0		0
2.	Plant Pathology & Microbiology		1	7		7
3.	Problemy Nauk Medycznych i Nauk o Zdrowiu		1	5		5
4.	Biotechnology, Serie F	1		2		2
5.	Sepsis		1	2		2
6	Proceedings of the 9th International Conference on Polysaccharides-glycoscience, Prague, Czech Republic		1	15		15
<b>Razem</b>		<b>1</b>	<b>5</b>			<b>31</b>
<b>Podsumowanie wszystkich publikacji</b>		<b>5</b>	<b>24</b>		<b>28,04</b>	<b>446</b>
<b>E. Zgłoszenia patentowe</b>						
1.	Związek kompleksowy kobaltu (II), oraz jego zastosowanie Nr zgłoszenia P.425954, 16.06.2018r.		1	2		2
<b>Razem</b>		<b>0</b>	<b>1</b>			<b>2</b>
<b>F. Uzyskane patenty</b>						
1.	Preparat o właściwościach prebiotycznych PL.220965, 18.06.2015		1	30		
2.	Preparat o właściwościach prebiotycznych PL.221497, 18.06.2015		1	30		
<b>Razem</b>		<b>0</b>	<b>2</b>			<b>60</b>

Dnia 17.12.2018r. 