think green

Warsztaty dla Młodych Badaczy

„WARSZTATY DLA MŁODYCH BADACZY – KSIĄŻKA ABSTRAKTÓW"

Lublin, 25.10.2021 r.

INSTYTUT AGROFIZYKI PAN

PAN

POLSKA AKADEMIA NAUK

Warsztaty dla Młodych Badaczy

WARSZTATY DLA MŁODYCH BADACZY - KSIĄŻKA ABSTRAKTÓW

Organizatorzy:

Instytut Agrofizyki PAN

Komitet Nauk Agronomicznych PAN

Lublin, 25.10.2021 r.

Redakcja: Artur Nosalewicz, Agata Pacek-Bieniek

Projekt i skład książki: Agata Pacek-Bieniek

Wydawnictwo: Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, Lublin 20-290

ISBN 978-83-89969-69-9

Copyright © 2021 by Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences

Open Access, Creative Commons Licence CC BY-NC-ND

Komitet Naukowy:

- dr hab. Aneta Andronowska, prof. IRZiBŻ PAN
- dr hab. Artur Nosalewicz, prof. IA PAN
- dr hab. Aleksandra Szcześ, prof. UMCS
- prof. dr hab. Artur Zdunek

Komitet Organizacyjny:

- Beata Kondracka
- Agata Pacek-Bieniek
- Artur Zdunek
- Jarosław Zdunek

PROGRAM

9:30	**Zdunek A.**	**Rozpoczęcie Warsztatów dla Młodych Badaczy – Powitanie**
WYKŁADY PROSZONE		
9:30-10:00	Wróblewska B.	Alergeny pokarmowe – co nas uczula?
10:00-10:30	Grzebelus D.	W poszukiwaniu genetycznych determinant rozwoju korzenia spichrzowego marchwi
10:30-11:00	Cybulska J.	Perspektywy zastosowań hydrożeli pektynowych jako funkcjonalnych biomateriałów
11:00-11:15	PRZERWA KAWOWA	
PREZENTACJE DOKTORANTÓW (z dyskusją)		
11:15-11:30	Kłosok, K., Welc, R., Szymańska-Chargot M., Nawrocka, A.	Określenie zmian struktury sieci glutenowej po suplementacji kwasem 4-hydroksybenzoesowym oraz p-kumarowym
11:30-11:45	Krysa M., Szymańska-Chargot M., Zdunek A.	Wpływ dodatku kwasów fenolowych na strukturę i właściwości kompozytów na bazie mikrofirbrylarnej celulozy oraz nanocelulozy
11:45-12:00	Kodzik, N., Ciereszko, A., Szczepkowski, M., Karol, H., Dietrich, M.A.	Analiza proteomiczna składu białkowego plazmy nasienia jesiotra syberyjskiego (*Acipenser baerii*)
12:00-12.15	Traut, M., Kowalczyk-Zięba, I., Wocławek-Potocka, I.	Porównanie genów odpowiedzialnych za funkcje mitochondriów w zarodkach bydlęcych pochodzących od zwierząt dojrzałych i niedojrzałych płciowo
12:15:12:30	PRZERWA KAWOWA	
12:30-12:45	Chibrikov, V., Pieczywek, P. M., Zdunek, A.	Structural property analysis of bacterial cellulose-hemicellulose composites
12:45-13:00	Kaczmarska, A., Pieczywek, P. M., Zdunek, A.	Badania *in vitro* nanostruktury pektyn związanych kowalencyjnie ze ścianą komórkową: porównanie pektyn z jabłka (*Malus domestica* Borkh.) oraz marchwi (*Daucus carota* subsp. sativus)
13:00-13:15	Wójtowicz, A., Sadowska, A., Ferreira-Dias, G., Szóstek-Mioduchowska, A.	Wpływ interleukiny (IL)-4 i IL-13 na ekspresję markerów włóknienia w fibroblastach endometrium klaczy
13:15-13:30	Ryszko U.	Oznaczanie rtęci całkowitej w nawozach organicznych i organiczno-mineralnych z zastosowaniem techniki CVAAS
13:30-13:45	Babiak, W., Szymańska-Chargot, M., Wiącek, D., Czemierska, M., Krzemińska, I.	Sorpcja jonów kadmu i ołowiu przez egzopolisacharyd syntetyzowany przez *Parachlorella kessleri*

Spis treści

Alergeny pokarmowe – co nas uczula? ....
Wróblewska B. 6
W poszukiwaniu genetycznych determinant rozwoju korzenia spichrzowego marchwi ....
Grzebelus D. 7
Perspektywy zastosowań hydrożeli pektynowych jako funkcjonalnych biomateriałów ....
Cybulska J. 8
Sorpcja jonów kadmu i ołowiu przez egzopolisacharyd syntetyzowany przez *Parachlorella kessleri* ....
Babiak, W., Szymańska-Chargot, M., Wiącek, D., Czemierska, M., Jarosz-Wilkołazka, A., Krzemińska, I. 9
Structural property analysis of bacterial cellulose-hemicellulose composites ....
Chibrikov, V., Pieczywek, P. M., Zdunek, A. 10
Badania in vitro nanostruktury pektyn związanych kowalencyjnie ze ścianą komórkową: porównanie pektyn z jabłka (*Malus domestica* Borkh.) oraz marchwi (*Daucus carota* subsp. sativus) ....
Kaczmarska, A., Pieczywek, P. M., Zdunek, A. 11
Określenie zmian struktury sieci glutenowej po suplementacji kwasem 4-hydroksybenzoesowym oraz *p*-kumarowym ....
Kłosok, K., Welc, R., Szymańska-Chargot M., Nawrocka, A. 12
Analiza proteomiczna składu białkowego plazmy nasienia jesiotra syberyjskiego *(Acipenser baerii)* ....
Kodzik, N., Ciereszko, A., Szczepkowski, M., Karol, H., Dietrich, M.A. 13
Wpływ dodatku kwasów fenolowych na strukturę i właściwości kompozytów na bazie mikrofirbrylarnej celulozy oraz nanocelulozy ....
Krysa M., Szymańska-Chargot M., Zdunek A. 14
Oznaczanie rtęci całkowitej w nawozach organicznych i organiczno-mineralnych z zastosowaniem techniki CVAAS ....
Ryszko U. 15
Porównanie genów odpowiedzialnych za funkcje mitochondriów w zarodkach bydlęcych pochodzących od zwierząt dojrzałych i niedojrzałych płciowo ....
Traut, M., Kowalczyk-Zięba, I., Wocławek- Potocka, I. 16
Wpływ interleukiny (IL)-4 i IL-13 na ekspresję markerów włóknienia w fibroblastach endometrium klaczy ....
Wójtowicz, A., Sadowska, A., Ferreira-Dias, G., Szóstek-Mioduchowska, A. 17

Alergeny pokarmowe – co nas uczula?

Wróblewska B.

Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk, Zakład Immunologii i Mikrobiologii Żywności ul. 10 Tuwima, 10-748 Olsztyn, e-mail: b.wroblewska@pan.olsztyn.pl

Dane szacunkowe wskazują, że na całym świecie na alergię pokarmową może cierpieć 240 - 550 milionów ludzi. Tylko w Europie, wskazuje się na około 11-26 milionów osób cierpiących z powodu alergii pokarmowej. Około 160 różnych surowców spożywczych może potencjalnie wywoływać alergię pokarmową. Osiem z nich jest odpowiedzialnych za 90% przypadków alergii. Są to mleko, jaja, ryby, skorupiaki, orzechy z drzew orzechowych, orzeszki ziemne, pszenica, soja. Obecnie lista ta została uzupełniona o seler, sezam, gorczycę, łubin, mięczaki i siarczyny w dawce nie większej niż 10 mg /kg lub /l. Wyizolowane i scharakteryzowane alergeny pokarmowe otrzymują nazwy zgodnie z obowiązującym systemem nazewnictwa Komitetu Nomenklatury Alergenów (WHO/IUIS Allergen Nomenclature Subcommittee).

Objawy alergii zmieniają się w ciągu całego życia pacjenta. U osób z atopią, marsz alergiczny rozpoczyna się od uczulenia noworodków na alergeny pokarmowe, które oddziałują na skórę i przewód pokarmowy. Zwykle alergia na białka mleka krowiego jest pierwszym objawem klinicznym marszu alergicznego. Objawy uczulenia na alergeny pokarmowe zmieniają się wraz z wiekiem i można obserwować rozwój uczulenia na aeroalergeny, które dotyczy górnych i dolnych dróg oddechowych. Stwierdzono, że u dzieci z alergią na mleko krowie występuje wyższe niż przeciętne ryzyko rozwoju astmy, egzemy i alergii pokarmowych na inne składniki pokarmowe w późniejszych latach życia.
Wzrost częstości występowania chorób alergicznych, szczególnie w świecie zachodnim, zbiegł się w czasie ze znacznymi zmianami środowiskowymi w zakresie klimatu, zmniejszoną ekspozycją na drobnoustroje we wczesnym okresie życia, zwiększonym zanieczyszczeniem powietrza i osłabieniem reakcji immunologicznej na wszechobecne alergeny.

Surowce spożywcze podczas przerobu na gotowe produkty są poddawane licznym procesom technologicznym, które w różny sposób wpływają na matrycę żywnościową, a tym samym zmieniają potencjał alergenny białek. Prace badawcze nad redukcją immunoreaktywności są kontynuowane w laboratoriach całego świata. Jednakże obecnie świadomy dobór diety i unikanie źródła alergenów jest jedyna drogą do bezpieczeństwa żywnościowego osób z alergią pokarmową.

W poszukiwaniu genetycznych determinant rozwoju korzenia spichrzowego marchwi

Grzebelus D.

Katedra Biologii Roślin i Biotechnologii, Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Al. 29 Listopada 54, 31-425 Kraków, d.grzebelus@urk.edu.pl

Marchew dzika (*Daucus carota* subsp. *carota*) wytwarza cienki, włóknisty korzeń, natomiast marchew uprawna (*Daucus carota* subsp. *sativus*) z części hypokotylu i korzenia palowego wykształca jadalny korzeń. Zmiana ta jest jednym z podstawowych wyznaczników 'syndromu udomowienia' tego gatunku. Korzenie marchwi uprawnej mają ponadto zdolność do akumulacji karotenoidów i/lub antocyjanów, barwników roślinnych, których konsumpcja ma istotne znaczenie prozdrowotne. W ostatnich latach opublikowano liczne wyniki badań związanych zarówno z określeniem czynników genetycznych determinujących formowanie korzenia spichrzowego, jak również mających wpływ na skład i dystrybucję barwników w korzeniach.

Analiza rejonu na chromosomie II marchwi, dla którego stwierdzono obecność presji selekcyjnej, pozwoliła na wskazanie genu kandydującego, związanego z procesem formowania korzenia spichrzowego, kodującego białko należące do rodziny AHL (AT-hook motif containing nuclear localized; Macko-Podgórni i in. 2017). Wariant genu *DcAHLc1* jest charakterystyczny dla formy uprawnej. Analizy transkryptomiczne pozwoliły na wskazanie, że poza *DcAHLc1* również inne geny *AHL* biorą udział w tworzeniu korzenia spichrzowego (Machaj i Grzebelus 2021). Z kolei wyniki mapowania asocjacyjnego (GWAS) kolekcji odmian marchwi uprawnej wskazały, że dwa geny, tj. *DCAF1* i *BTAF1*, zlokalizowane na chromosomie I, mogą być powiązane z grubieniem korzenia (Macko-Podgórni i in. 2020). Również analizy QTL wskazały na obecność czynników determinujących morfologię korzenia na chromosomach I, II i VII w populacji ze skrzyżowania dwóch marchwi uprawnych, a także na chromosomach II, III, IV, V i VIII w segregującym potomstwie krzyżówki marchwi uprawnej z dziką (Macko-Podgórni i in. 2018). Wskazuje to na złożoność genetycznej kontroli procesu tworzenia korzenia spichrzowego.

Podziękowania

Badania zostały zrealizowane w ramach projektów NCN OPUS N N302 062236, OPUS 2012/05/B/NZ9/03401, ETIUDA 2019/32/T/NZ9/00198 oraz programu badań podstawowych dla postępu biologicznego MRiRW.

Bibliografia

Machaj G., Grzebelus D. (2021) Characteristics of the *AT-hook motif containing nuclear localized (AHL)* genes in carrot provides insight into their role in plant growth and storage root development. Genes, 12, 764.

Macko-Podgórni A., Machaj G., Stelmach K., Senalik D., Grzebelus E., Iorizzo M., Simon P.W., Grzebelus D. (2017) Characterization of a genomic region under selection in cultivated carrot (*Daucus carota* subsp. *sativus*) reveals a candidate domestication gene. Frontiers in Plant Science, 8, 12.

Macko-Podgórni A., Stelmach K., Kwolek K., Machaj G., Ellison S., Senalik D., Simon P.W., Grzebelus D. (2020) Mining for candidate genes controlling secondary growth of the carrot storage root. International Journal of Molecular Sciences 21, 4263.

Perspektywy zastosowań hydrożeli pektynowych jako funkcjonalnych biomateriałów

Cybulska J.

Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk w Lublinie, j.cybulska@ipan.lublin.pl

Pektyny stanowią najbardziej złożoną pod względem chemicznym grupę polisacharydów pochodzenia naturalnego. Są zbudowane głównie z kwasu poligalakturonowego, ale zawierają także wiele innych monosacharydów, które mogą być wbudowane bezpośrednio w szkielet homogalakturonianu, stanowić jego element, jak ramnoza, lub tworzyć łańcuchy boczne. Mimo licznych badań naukowych nad związkami pektynowymi, ich struktura molekularna nie została jeszcze całkowicie poznana. W ostatnich latach, dzięki wykorzystaniu nowych technik charakterystyki budowy makromolekularnej oraz metod chemii obliczeniowej, zaproponowano nowe modele opisujące strukturę pektyn, które modyfikują klasyczny model oparty na podziale na regiony liniowe (smooth), zbudowane z homogalakturonianu i rozgałęzione (hairy), zbudowane z ramnogalakturonianów. Obecność różnorodnych monosacharydów oraz grup funkcyjnych sprawia, że związki pektynowe mogą podlegać licznym modyfikacjom na skutek działania czynników fizycznych, reakcji enzymatycznych oraz chemicznych. Pektyny posiadają zdolność do żelowania, warunkowaną obecnością zestryfikowanych grup karboksylowych kwasu galakturonowego, ale także czynnikami zewnętrznymi takimi jak warunki kwasowo-zasadowe, obecność sacharydów w roztworze, temperatura. Wykazują zdolność do samoorganizacji i sieciowania w odpowiednim stężeniu. Umożliwia to wielostronne ich wykorzystanie w różnych aspektach działalności człowieka. Tradycyjnie pektyny ekstrahowane z surowców roślinnych są stosowane jako zagęstniki i stabilizatory tekstury produktów spożywczych, ale ostatnie badania dowodzą, że mogą stanowić innowacyjny biomateriał w medycynie regeneracyjnej, dermatologii, farmacji i terapiach onkologicznych. Wiązanie jonów metali przez pektyny może być wykorzystywane w technologiach środowiskowych do usuwania metali ciężkich ze ścieków. Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) wydał oświadczenia zdrowotne dla pektyn, które wspomagają utrzymanie prawidłowego poziomu cholesterolu we krwi oraz uczestniczą w regulacji odpowiedzi glikemicznej. Coraz większe zainteresowanie budzi zastosowanie pektyn jako prebiotyk, czynnik immunostymulujący oraz antyoksydacyjny. Pektyny są składnikiem wielu kompozytów jako składnik umożliwiający kontrolowanie właściwości mechanicznych. Kompozyty pektyn z chitosanem, celulozą, skrobią i innymi materiałami stanowią obiecujący biodegradowalny materiał opakowaniowy oraz nośnik substancji aktywnych i mikroorganizmów.

Podziękowania

Badania zostały współfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach projektu 2020/37/B/NZ9/03159.

Bibliografia

Zdunek A., Cybulska J., Pieczywek P. (2021). The primary, secondary and structures of higher levels of pectin polysaccharides. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 20, 1, 1101-1117.

Sorpcja jonów kadmu i ołowiu przez egzopolisacharyd syntetyzowany przez *Parachlorella kessleri*

Babiak, W.[1], Szymańska-Chargot, M.[1], Wiącek, D.[1], Czemierska, M.[2], Jarosz-Wilkołazka, A.[2], Krzemińska, I.[1]

[1] Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego, Polska Akademia Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin
[2] Katedra Biochemii i Biotechnologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin

Egzopolisacharydy (EPS) są to biopolimery syntetyzowane przez mikroorganizmy, między innymi jednokomórkowe glony, i wydzielane na zewnątrz komórki. Wyróżnia się dwie główne frakcje EPS: CPS (capsular polysaccharides) związane ze ścianą komórkową oraz rozpuszczalne EPS – czyli niezwiązane ze ścianą komórkową. Jedną z właściwości egzopolisacharydów jest zdolność wiązania jonów metali. Dzięki temu, mogą być rozpatrywane w kontekście usuwania metali ciężkich z roztworów wodnych.

Egzopolisacharydy, ze względu złożona budowę, posiadają szereg grup funkcyjnych, które mogą być zaangażowane w sorpcję metali ciężkich. Należą do nich grupy: karboksylowe, hydroksylowe, karbonylowe, metylenowe, aminowe i fosforanowe. Głównym źródłem grup karboksylowych w EPS są kwasy uronowe i białka. Dlatego też oznaczenie zawartości tych składników może pomóc w ocenie zdolności sorpcyjnych egzopolisacharydów.

W ramach prowadzonych badań przeanalizowano sorpcję jonów kadmu i ołowiu o stężeniach 10, 50, 100 i 150 mg L^{-1}. Próbki EPS rozpuszczono w roztworze soli odpowiednio kadmu i ołowiu, inkubowano a następnie odwirowano i przefiltrowano. Filtrat wykorzystano do określenia stężenia jonów metali niezwiązanych przez EPS. Na tej podstawie obliczono pojemność sorpcyjną. W celu identyfikacji grup funkcyjnych zaangażowanych w oddziaływanie EPS-metal osad po wirowaniu poddano liofilizacji i wykonano analizę FTIR. Następnie oznaczono zawartość cukrów całkowitych, białek oraz kwasów uronowych w badanym EPS.

Uzyskane wyniki wykazały, że EPS wykazuje większą pojemność sorpcyjną wobec jonów ołowiu. Najwyższą wartość zanotowano w obecności Pb(II) o stężeniu 100 mg L^{-1}. Analiza widm FTIR wykazała, że w sorpcję metali zaangażowane są głównie grupy: karboksylowe, karbonylowe i hydroksylowe.

Bibliografia

Babiak,W.; Krzemińska, I. (2021) Extracellular Polymeric Substances (EPS) as Microalgal Bioproducts: A Review of Factors Affecting EPS Synthesis and Application in Flocculation Processes. Energies, 14, 4007.

Dobrowolski, R.; Szcześ, A.; Czemierska, M.; Jarosz-Wikołazka, A. (2017) Studies of cadmium(II), lead(II), nickel(II), cobalt(II) and chromium(VI) sorption on extracellular polymeric substances produced by *Rhodococcus opacus* and *Rhodococcus rhodochrous*. Bioresour. Technol., 225, 113–120.

Structural property analysis of bacterial cellulose-hemicellulose composites

Chibrikov, V., Pieczywek, P. M., Zdunek, A.

Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, Poland, v.chibrikov@ipan.lublin.pl

Cellulose-hemicellulose component of primary plant cell walls (PCW) is substantially responsible for fruit and vegetable texture and diseases resistance. Due to its sizes and difficulties with isolation, use of PCW analogues is a possible way to explore PCW vital processes. Bacterial cellulose (BC) is considered as a potential biomaterial for tailor-made biosystems due to its purity and mechanical properties. Thus, PCW analogues were discovered to explore its structural parameters and assess mechanical properties.

Binary cellulose-hemicellulose PCW analogues were grown for 10 days in hemicellulose-containing Hestrin-Schramm liquid medium with *Komagataeibacter xylinum* bacteria strain (Schramm, et al., 1957; Szymańska-Chargot et al., 2017). Four types of hemicelluloses (xyloglucan, xylan, arabinoxylan and glucomannan) at three concentrations (0.25 %, 0.5 % and 1 %) were used. After washing of grown films, they were dried at 40 °C for further analysis. Images PCW analogues were captured with atomic force microscope (AFM), in order to estimate fibril diameters. Imaging was followed by nanoindentation, performed to measure Young`s modulus of PCW analogues. In addition to AFM measurements, FT-IR spectra of PCW analogues were collected to investigate their molecular structure (Yamamoto et al., 1996).

AFM image analysis showed diameters of fibrils to drastically increase with growing concentration of xyloglucan and glucomannan, compared to pure BC. Moderate impact on fibril diameter was observed for BC-xylan and BC-arabinoxylan composites. An increase in Young`s modulus was reported at 0.25 % concentration for all types of hemicelluloses used. Further addition of hemicellulose resulted in increase in Young`s modulus for xylan and arabinoxylan samples, while for xyloglucan and glucomannan modulus decreased. Analysis of cellulose Iα:Iβ ratio showed Iβ cellulose percentage content to increase by 4-5%, 2-4% and 1-2% with xylan, xyloglucan and arabinoxylan, and glucomannan addition, respectively. Observed data showed Iα:Iβ cellulose ratio to be almost independent of the hemicellulose concentration.

Acknowledgments

This study is supported by the National Science Centre, Poland (Project no. 2019/35/D/NZ9/00555).

References

Schramm, M., Gromet, Z., Hestrin, S. (1957). Synthesis of cellulose by Acetobacter Xylinum. 3. Substrates and inhibitors. Biochemical Journal, 67(4), 669-679.

Szymańska-Chargot, M., Chylińska, M., Cybulska, J., Kozioł, A., Pieczywek, P. M., Zdunek, A. (2017). Simultaneous influence of pectin and xyloglucan on structure and mechanical properties of bacterial cellulose composites. Carbohydrate polymers, 174, 970-979.

Yamamoto, H., Horii, F., & Hirai, A. (1996). In situ crystallization of bacterial cellulose II. Influences of different polymeric additives on the formation of celluloses I α and I β at the early stage of incubation. Cellulose, 3(1), 229-242.

Badania in vitro nanostruktury pektyn związanych kowalencyjnie ze ścianą komórkową: porównanie pektyn z jabłka (*Malus domestica* Borkh.) oraz marchwi (*Daucus carota* subsp. sativus)

Kaczmarska, A., Pieczywek, P. M., Zdunek, A.

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20–290 Lublin, a.kaczmarska@ipan.lublin.pl

Roślinne ściany komórkowe złożone są z węglowodanów, związków fenolowych, białek strukturalnych oraz enzymatycznych, jonowo i kowalencyjnie połączonych minerałów, glikoprotein oraz lignin, obecnych we wtórnych ścianach komórkowych (Carpita & Gibeaut, 1993; Höfte & Voxeur, 2017). Spośród węglowodanów, obok celulozy i hemiceluloz, pektyny są głównym składnikiem pierwotnej ściany komórkowej i blaszki środkowej roślin wyższych (Posé et al., 2012). Pektyny złożone są z mieszaniny kilku różnych polisacharydów, z czego największą część stanowi kwas galakturonowy (60-65%). Badania polisacharydów pektynowych ekstrahowanych za pomocą słabych alkaliów, wykazały obecność charakterystycznych struktur, obserwowanych po nałożeniu na mikę. Postawiona została hipoteza, że struktury te wywołane są przez obecność pojedynczych reszt ramnozy, wtrąconych w łańcuchy homogalakturonianu.

Celem badań jest opis właściwości strukturalnych frakcji pektyn DASP ekstrahowanej z jabłka (*Malus domestica* Borkh.) i marchwi (*Daucus carota* subsp. sativus). Badania topologicznych obrazów frakcji DASP osadzonej na mice, otrzymanych za pomocą mikroskopu sił atomowych, poparte zostały charakterystyką chemiczną FT-IR. Uzyskane wyniki analizy obrazów wykazały istotne statystycznie różnice między pektynami z obu źródeł, pod względem liczby rozgałęzień w cząsteczce oraz długości obserwowanych łańcuchów. Sztywność molekuł polimerów pektynowych została określona ilościowo na podstawie parametru *persistence lenght* obliczonego na podstawie obrazów AFM i nie wykazała statystycznie istotnych różnic między DASP ekstrahowanym z jabłek i marchwi. Wreszcie badania eksperymentalne uzupełniono symulacjami numerycznymi wtrąceń ramnozy w łańcuchach homogalakturonianu, prowadzących do powstania przestrzennie załamanych struktur przypominających pręty. Podejrzewa się, że omawiana regularna struktura może mieć duże znaczenie dla integralności ściany komórkowej, a tym samym tekstury i jędrności całych owoców i warzyw.

Podziękowania

Badania realizowane w ramach funduszy przyznanych przez Narodowe Centrum Nauki na realizację grantu nr 2019/35/O/NZ9/01387, w ramach konkursu Preludium BIS 1

Bibliografia

Carpita, N. C., & Gibeaut, D. M. (1993). Structural models of primary cell walls in flowering plants: Consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. Plant Journal, 3(1), 1–30.

Höfte, H., & Voxeur, A. (2017). Plant cell walls. Current Biology, 27(17), R865–R870.

Posé, S., Kirby, A. R., Mercado, J. A., Morris, V. J., & Quesada, M. A. (2012). Structural characterization of cell wall pectin fractions in ripe strawberry fruits using AFM. Carbohydrate Polymers, 88(3), 882–890.

Określenie zmian struktury sieci glutenowej po suplementacji kwasem 4-hydroksybenzoesowym oraz *p*-kumarowym

Kłosok, K.[1], Welc, R.[1], Szymańska-Chargot M.[1], Nawrocka, A.[1]

[1] *Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, k.klosok@ipan.lublin.pl*

Pieczywo jest jednym z podstawowych składników diety co sprawia, że jego konsumpcja może być odpowiednim nośnikiem substancji wartościowych dla organizmu człowieka. Najczęściej spożywane jest pieczywo pszenne zawierające gluten. Grupą związków, którymi można suplementować pieczywo są polifenole roślinne. Związki te są naturalnymi przeciwutleniaczami, które również hamują proces psucia się żywności i ogólnie poprawiają jej jakość. Polifenole mogą być dodawane do żywności jako składniki preparatów błonnikowych lub w postaci ekstraktów polifenolowych (Dziki i wsp. 2014).

Celem badań było określenie zmian struktury sieci glutenowej indukowanych suplementacją ciasta modelowego dwoma kwasami fenolowymi: kwasem *p*-kumarowym oraz 4-hydroksybenzoesowym przy użyciu spektroskopii FT-Ramana. Próbki ciasta modelowego z dodatkiem wybranych kwasów fenolowych zostały przygotowane w farinografie. Proces miesienia suplementowanego ciasta został zatrzymany tuż przed pikiem farinograficznym wskazującym na zniszczenie sieci glutenowej tzw. 'dough breakdown' lub trwał godzinę dla próbek 'overmixed'. Próbki glutenu zostały przygotowane poprzez wymycie glutenu z ciasta oraz liofilizację. Strukturę drugorzędową oraz trzeciorzędową określono poprzez analizę pasma amid I, mikrośrodowiska aminokwasów aromatycznych oraz konformacji mostków disiarczkowych. Dodatkowo przeprowadzono oznaczenie ilościowe wolnych grup SH i całkowitej ilości grup SS zgodnie z procedurą opracowaną przez Wang i wsp. (2016).

Analiza pasma amid I wykazała wzrost ilości zagregowanych struktur we wszystkich próbkach. Dodatkowo zostały zarejestrowane zmiany w obrębie mikrośrodowiska aminokwasów aromatycznych. Zaobserwowano wzrost ilości wolnych grup SH, SS oraz wzrost mniej stabilnych mostków disiarczkowych w konformacji t-g-g. Otrzymane wyniki wskazują, że czas miesienia ciasta oraz struktura kwasu fenolowego ma istotny wpływ na zmiany w obrębie struktury sieci glutenowej. Otrzymane dane dowodzą, że kwas *p*-kumarowy może być zamknięty w kieszeniach hydrofobowych i nie tworzyć wiązań chemicznych z białkami sieci glutenowej.

Podziękowania

Badania zostały wykonane w ramach projektu OPUS 18 uzyskanego z Narodowego Centrum Nauki, nr.: 2019/35/B/NZ9/02854

Bibliografia

Dziki D., Różyło R., Gawlik-Dziki U., Świeca M. (2014). Current trends in the enhancement of antioxidant activity of wheat bread by the addition of plant materials rich in phenolic compounds. Trends in Food Science & Technology, *40*(1), 48–61.

Wang X.Y., Guo X.N., Zhu K.X. (2016). Polymerization of wheat gluten and the changes of glutenin macropolymer (GMP) during the production of Chinese steamed bread. Food Chemistry, 201, 275–283.

Analiza proteomiczna składu białkowego plazmy nasienia jesiotra syberyjskiego *(Acipenser baerii)*

Kodzik, N.[1], Ciereszko, A.[1], Szczepkowski[2], M., Karol, H.[1], Dietrich, M.A[1].

[1] *Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie, Zakład Biologii Gamet i Zarodka, ul. Bydgoska 7, 10-748 Olsztyn, n.kodzik@pan.olsztyn.pl*
[2] *Instytut Rybactwa Śródlądowego im. Stanisław Sakowicza w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 10, 10-719 Olsztyn, m.szczepkowski@infish.com.pl*

Jesiotry należą do najstarszych gatunków ryb, jakie żyją obecnie na świecie. Biologia i fizjologia rozrodu ryb jesiotrowatych różni się istotnie od powszechnie występujących ryb doskonałokostnych.[1] Plazma nasienia odgrywa ważną rolę w procesach rozrodczych takich jak dojrzewanie plemników czy ich ruchliwości. Wiedza na temat składu białkowego plazmy nasienia ryb jesiotrowatych jest ograniczona, dlatego też celem badań było poznanie składu białkowego plazmy nasienia jesiotra syberyjskiego z zastosowaniem chromatografii cieczowej połączoną z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS). Materiał pobrano od 6 osobników o masie 9±2kg w wieku 7-9 lat utrzymywanych w Zakładzie Instytutu Rybactwa Śródlądowego Hodowli Ryb Jesiotrowych w Pieczarkach. Przed pobraniem nasienia samce stymulowano hormonalnie (0,03 mg LHRH/kg masy ciała). W celu uzyskania plazmy nasienia, nasienie dwukrotnie wirowano (5000 g, 10 min, 4°C). Zastosowanie LC-MS/MS pozwoliło na zidentyfikowanie 657 białek w plazmie nasienia jesiotra syberyjskiego. Wyróżniono główne białka tj. albuminę, transferynę, dipeptydazę beta-Ala-His, dehydrogenazę aldehydu 3-fosfoglicerynowego, immunoglobuliny, apolipoproteinę A1, białko przeciwzamarzaniowe typu IV, chymazę, hemopeksynę. Analiza funkcjonalna zidentyfikowanych białek przy użyciu IPA (Ingenuity Pathway Analysis) wykazała ich istotny udział w szlakach reakcji odpowiedzi ostrej fazy, koagulacji, glikolizy i glukoneogenezy oraz w regulacji metabolizmu lipidów. Dodatkowo białka uczestniczą w ruchu komórkowym, apoptozie, syntezie i degradacji białek oraz sygnalizacji i interakcji międzykomórkowej. Na podstawie kryterium „procesy biologiczne" białka zostały również zakwalifikowane jako uczestniczące w odpowiedzi immunologicznej odpowiedzi na stres oraz procesach katabolicznych. Ponadto, wykazano udział białek plazmy nasienia w procesach rozrodczych, w tym w zapłodnieniu, reakcji akrosomalnej oraz ruchliwości plemników. Podsumowując, zastosowanie zaawansowanych metod proteomicznych pozwoliło na kompleksową charakterystykę składu białkowego plazmy nasienia jesiotra syberyjskiego wskazując na istotny udział białek w metabolizmie, ochronie plemników przed stresem oksydacyjnym i atakiem drobnoustrojów oraz utrzymaniu integralności błony komórkowej plemników oraz akrosomu, który jest cechą charakterystyczną plemników ryb jesiotrowatych, gdyż nie występuje on u większości gatunków ryb doskonałokostnych.

Podziękowania

Badania zostały zrealizowane w ramach projektu badawczego Narodowego Centrum Nauki 2019/35/B/NZ9/03501.

Bibliografia

[1] Alavi S.M.H., et al. (2012). Sperm biology and control of reproduction in sturgeon: (I) testicular development, sperm maturation and seminal plasma characteristics. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 22, 695-717.

Wpływ dodatku kwasów fenolowych na strukturę i właściwości kompozytów na bazie mikrofirbrylarnej celulozy oraz nanocelulozy

Krysa M.[1], Szymańska-Chargot M.[1], Zdunek A.[1]

[1] *1 Instytut Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk, Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, mkrysa@ipan.lublin.pl*

Kwasy fenolowe to grupa organicznych związków chemicznych naturalnie występujących w roślinach. Mają zdolność antyoksydacyjną i biorą udział w mechanizmie obronnym roślin. [1]. Celuloza charakteryzuje się dużą wytrzymałością mechaniczną i stosunkowo niską gęstością, co daje możliwość produkcji wytrzymałych, całkowicie biodegradowalnych i bezpiecznych w kontakcie z żywnością opakowań do żywności [2]. Dlatego też prezentowane badania obejmują zastosowanie celulozy oraz nanocelulozy jako biokompatybilnej matrycy umożliwiającej na jej powierzchni adsorpcję wybranego kwasu fenolowego oraz jego stabilizację. Kwasy fenolowe zaadsorbowane na powierzchni takiego kompozytu umożliwiają ulepszanie naturalnego materiału opakowaniowego przede wszystkim o właściwości przeciwutleniające. Dodatek kwasów fenolowych ponadto wpływa również na inne właściwości kompozytów w porównaniu do filmów uzyskanych z samej celulozy lub nanocelulozy. W niniejszych badaniach zmierzono następujące właściwości uzyskanych kompozytów: zdolność antyoksydacyjną metodą TEAC (odpowiednik zdolności antyoksydacyjnej troloxu), strukturę molekularną metodą spektroskopii Ramana i FTIR, hydrofobowość metodą pomiaru kąta zwilżania oraz właściwości cieplne metodą różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC). W badaniach tych udowodniono, że kwasy fenolowe zachowały swoje właściwości przeciwutleniające w dużym stopniu mimo wpływu czynnika utleniającego takiego jak UV, zaś kompozyt z kwasem galusowym miał te właściwości najlepsze. Spektroskopia wibracyjna wykazała, że z dużym prawdopodobieństwem kwasy fenolowe wiążą się z celulozą i nanocelulozą poprzez wiązanie się do grup C_6H_2OH. Pomiar kąta zwilżania pokazał, że dodatek kwasów fenolowych poprawa właściwości hydrofobowe filmów celulozowych i nanocelulozowych, a najlepsze te właściwości miały kompozyty z kwasem kawowym.

Podziękowania

Niniejsze badanie zostało sfinansowane z projektu nr NCN OPUS UMO-2018/29/B/NZ9/00141.

Bibliografia

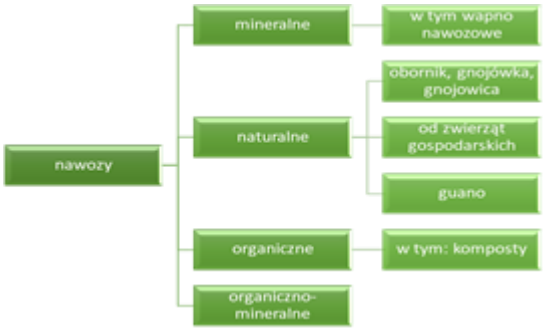
1. Anh Dao T. Phan, Gabriele Netzel, Dongjie Wang, Bernadine M. Flanagan, Bruce R. D'Arcy, Michael J. Gidley (2015). Binding of dietary polyphenols to cellulose: Structural and nutritional aspects,Food Chemistry, Volume 171, Pages 388-396.
2. Szymańska-Chargot M., Chylińska M., Gdula K. (2018). Characterization of cellulose isolated from fruit and vegetable pomaces, World Polymers Congres MACRO 2018, Cairns, Austria, 1-5.07.2018 r., str. 354

Oznaczanie rtęci całkowitej w nawozach organicznych i organiczno-mineralnych z zastosowaniem techniki CVAAS

Ryszko U.

Laboratorium Analityczne, Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Nowych Syntez Chemicznych, al. Tysiąclecia Państwa Polskiego 13a, 24-110 Puławy

Rtęć jest toksycznym metalem ciężkim, obecnym w środowisku w wyniku naturalnych procesów geochemicznych i geotermicznych oraz na skutek antropogenicznej działalności człowieka. Toksyczność, biochemiczne właściwości oraz cykl rtęci zależą od stężenia oraz postaci chemicznej tego pierwiastka. Rtęć występuje w środowisku w trzech formach: rtęci pierwiastkowej w postaci cieczy lub pary, związków organicznych oraz nieorganicznych solach rtęci i minerałach. Jednym z antropogenicznych źródeł rtęci w przyrodzie jest stosowanie w rolnictwie środków ochrony roślin oraz nawozów organicznych i mineralnych. Nawozy organiczne, zgodnie z Ustawą o nawozach i nawożeniu, określane są *jako nawozy wyprodukowane z substancji organicznej lub z mieszanin substancji organicznych, w tym komposty, także wyprodukowane przy udziale dżdżownic*. Nawozy organiczno-mineralne stanowią mieszaninę nawozów organicznych i mineralnych.



Celem pracy było opracowanie metody oznaczania rtęci całkowitej w nawozach organicznych i organiczno-mineralnych metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej z zastosowaniem analizatora rtęci DMA-80 *evo* (Milestone). Metoda ta polega na termicznej dekompozycji związków rtęci w atmosferze tlenu, amalgamacji i pomiarze absorbancji przy długości fali 253,65 nm. Źródłem promieniowania jest niskociśnieniowa lampa rtęciowa. Analizie poddano homogeniczne próbki nawozów organicznych i organiczno-mineralnych oraz referencyjne materiały odniesienia Marsep 259 (Wepal) i Agro*Mat*™ CP-1 (SCP Science). Metodę poddano procesowi walidacji wyznaczając następujące parametry: liniowość, precyzję, poprawność, granicę oznaczalności (LOD), granicę wykrywalności (LOQ) i niepewność rozszerzoną.

Bibliografia

1. Konieczka P., Rutkowska M., Misztal-Szkudlińska M., Szefer P. (2020). Rtęć w organizmach żywych – źródła i formy występowania, bioakumulacja, metody oznaczania, 747-757.
2. Ustawa z dnia 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu, Dz. U. nr 147 poz. 1033, z późniejszymi zmianami.

Porównanie genów odpowiedzialnych za funkcje mitochondriów w zarodkach bydlęcych pochodzących od zwierząt dojrzałych i niedojrzałych płciowo

Traut, M.[1], Kowalczyk-Zięba, I.[1], Wocławek- Potocka, I.[1]

[1] *Zakład Biologii Gamet i Zarodka, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, Olsztyn, Polska, m.traut@pan.olsztyn.pl*

Mitochondria odgrywają ważną rolę w dojrzewaniu oocytów i późniejszym rozwoju embrionalnym, ponieważ są odpowiedzialne za produkcję ATP jako głównego źródła energii w komórce [Van Blerkom, 2011]. W niedojrzałych oocytach mitochondria są ciche transkrypcyjnie i bioenergetycznie, co powoduje spowolnienie produkcji ATP [Bentov i in., 2011]. Dlatego poszukiwanie właściwych markerów jakości komórek jajowych jest kluczowe w produkcji zarodków o wysokich współczynnikach rozwojowych.
Celem jest określenie ekspresji markerów genów odpowiedzialnych za funkcje mitochondriów oraz markerów genów zdolności do implantacji i kompetencji rozwojowych w blastocystach pochodzących od krów dojrzałych i niedojrzałych płciowo.
Materiał do badań pobrano za pomocą metody ovum pick-up (OPU). Z obecnych na jajnikach pęcherzyków antralnych aspirowano kompleksy oocyt- komórki wzgórka jajonośnego (COCs), które następnie dojrzewano. Po 24 godzinach dojrzałe COCs zostały zapłodnione in vitro z wykorzystaniem komercyjnego nasienia buhaja. Po 18 godzinach od zapłodnienia zarodki przełożono do medium hodowlanego i hodowano przez kolejne 7 dni do stadium blastocysty. Uzyskane in vitro zarodki zebrano i zamrożono do czasu dalszych analiz, następnie wyizolowano RNA wykorzystując zestaw do izolacji RNA. Wyizolowane całkowicie RNA poddano procesowi odwrotnej transkrypcji. Uzyskane cDNA z blastocyst pochodzących z dwóch grup: dobrej i słabej jakości oocytów określono stopień uszkodzenia mitochondrialnego DNA wykorzystując metodę real- time PCR. Określono profile ekspresji mRNA na poziomie genów markerów odpowiedzialnych za funkcje mitochondriów (G6PD, LDHA, SLC2A1, SLC2A5, GPX1, TFAM, CS2, ATP5F1A, SIRT2) oraz markerów zdolności zarodka do implantacji i jego kompetencji rozwojowych (PLAC8, IGF2R, OCT4, SOX2, DSC2, SSLP1, PLAU, NANOG, IGF1R, DNMT3A) w blastocystach pochodzących z oocytów dobrej i złej jakości.
Wykazano, że ekspresja mRNA markerów odpowiedzialnych za funkcje mitochondriów jest wyższa w blastocystach bydlęcych pochodzących od krów niedojrzałych płciowo. Natomiast ekspresja mRNA markerów zdolności do implantacji i kompetencji rozwojowych zarodka jest wyższa w blastocystach bydlęcych pochodzących od krów dojrzałych płciowo.
Blastocysty pochodzące od krów niedojrzałych płciowo wykazują wysoki potencjał mitochondrialny co może wiązać się z ich wysokim potencjałem rozwojowym. Natomiast blastocysty pochodzące od krów dojrzałych płciowo, pomimo niższej ekspresji markerów funkcji mitochondriów, charakteryzują się wyższą zdolnością implantacyjną i kompetencjami rozwojowymi zarodków.

Podziękowania

Badania zostały zrealizowane dzięki 2018/31/B/NZ9/03412.

Bibliografia

Bentov Y., Yavorska T., Esfandiari N., Jurisicova A., Casper R. F. (2011). The contribution of mitochondrial function to reproductive aging. Journal of assisted reproduction and genetics, 28, 773-783.

Van Blerkom J. (2011). Mitochondrial function in the human oocyte and embryo and their role in developmental competence. Mitochondrion, 11, 797-813.

Wpływ interleukiny (IL)-4 i IL-13 na ekspresję markerów włóknienia w fibroblastach endometrium klaczy

Wójtowicz, A.[1], Sadowska, A.[1], Ferreira-Dias, G.[2], Szóstek-Mioduchowska, A.[1]

[1] *Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie, a.wojtowicz@pan.olsztyn.pl*

[2] *Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health, University of Lisbon*

Endometrosis charakteryzuje się postępującym włóknieniem zrębu błony śluzowej macicy (*endometrium)* u klaczy. Stan ten prowadzi do upośledzenia struktury i funkcji *endometrium*, co skutkuje zaburzeniem implantacji zarodka i rozwoju wczesnej ciąży. Wraz z rozwojem włóknienia *endometrium* dochodzi do nadmiernego odkładania składników macierzy pozakomórkowej (ECM) oraz zwiększenia liczby miofibroblastów. Kluczową rolę w przebudowie ECM odgrywają metaloproteinazy macierzy (MMP) i ich tkankowe inhibitory (TIMP). Interleukina (IL)-4 i IL-13, wydzielane przez limfocyty pomocnicze Th2, wzmagają włóknienie w nerkach, płucach i wątrobie. Brak jest jednak informacji o wpływie IL-4 i IL-13 na rozwój endometrosis u klaczy. Celem badania było więc określenie wpływu tych czynników na proliferację fibroblastów oraz na ekspresję MMP i TIMP na poziomie genu w fibroblastach z *endometrium* klaczy. Fibroblasty wyizolowane z *endometrium* macicy klaczy (n = 6), hodowano w systemie hodowli dwuwymiarowej (2D), a następnie traktowano IL-4 (10 ng/mL) i IL-13 (10 ng/mL) przez 48 godzin. Poziom ekspresji genów zaangażowanych w rozwój włóknienia (*Mmp2*, *-9*, *Timp-1*, *-2*) określono za pomocą qPCR, a poziom proliferacji przy użyciu testu do analizy aktywności metabolicznej komórki opartego na MTT.

Stymulacja zarówno IL-4 ($P < 0,05$), jak i IL-13 ($P < 0,01$) zwiększyła proliferację fibroblastów. Interleukina 4 wpłynęła także na obniżenie poziomu ekspresji genu *Mmp2, Mmp9* i *Timp2* oraz na zwiększenie ekspresji *Timp1* ($P < 0,05$). Stymulacja IL-13 obniżyła poziom ekspresji *Mmp2, Mmp9* i *Timp2* na poziomie genu ($P < 0,05$), nie wpłynęła natomiast na ekspresję *Timp1* ($P > 0,05$). Ponadto, badane interleukiny obniżyły stosunek ekspresji *Mmp2/Timp1* (IL-4: $P < 0,0001$, IL-13: $P < 0,05$), a także *Mmp9/Timp1* (IL-4: $P < 0,0001$, IL-13: $P < 0,01$).

Uzyskane wyniki wskazują na udział interleukin charakterystycznych dla limfocytów Th2 w rozwoju endometrosis u klaczy. Działanie IL-4 i IL-13 może polegać na regulacji ekspresji enzymów zaangażowanych w przebudowę ECM i ich tkankowych inhibitorów.

Podziękowania

Badania zostały finansowane przez Narodowe Centrum Nauki, projekt SONATA 15 nr 2019/35/D/NZ9/02989.

Bibliografia

Kenney R.M., Doig P.A. (1986) Equine endometrial biopsy. In: Morrow, D.A., Ed., Current Therapy in Theriogenology, W.B. Saunders, Philadelphia, 723-729.

Saito A., Okazak, H., Sugawara I., Yamamoto K., Takizawa H. (2003) Potential Action of IL-4 and IL-13 as Fibrogenic Factors on Lung Fibroblasts in vitro. Int Arch Allergy Immunol, 132:168-176.

Distler J. H. W., Györfi A.-H., Ramanujam M., Whitfield M. L., Königshof, M., Lafyatis R. (2019). Shared and distinct mechanisms of fibrosis. Nature Reviews Rheumatology.

ISBN 978-83-89969-69-9

egzemplarz bezpłatny