

Streszczenie

Choroby cywilizacyjne, w tym otyłość to problem, który dotyczy coraz większej ilości społeczeństwa. W ostatnich latach liczba osób cierpiących na otyłość uległa potrojeniu, dlatego tak ważne jest prowadzenie badań dotyczących poszukiwania składników prozdrowotnych, które potencjalnie mogą wspomóc leczenie nadwagi i otyłości. Jednym z takich składników może być laktoferyna, która od 2012 roku dozwolona jest do stosowania jako składnik żywności. Laktoferyna wykazuje szereg właściwości prozdrowotnych, w tym przeciwzapalne, przeciwbakteryjne czy przeciwgrzybicze. Laktoferyna może również wspierać redukcję tłuszczu trzewnego, ograniczać przerost tkanki tłuszczowej, regulować poziom cholesterolu i trójglicerydów. Na rynku istnieją już produkty fortyfikowane laktoferyną, jednak obecnie stosowana jest głównie jako składnik farmaceutyków i kosmetyków. Wzrost zainteresowania konsumentów żywnością funkcjonalną skłania producentów do wykorzystywania laktoferyny w fortyfikacji produktów spożywczych, które stanowią codzienny element diety. Do produktów takich zaliczane są, m.in. fermentowane produkty mleczne – jogurty, które stanowią idealną matrycę dla laktoferyny, gdyż stanowi ona integralny składnik mleka.

Celem rozprawy doktorskiej było opracowanie i optymalizacja technologii produkcji jogurtu fortyfikowanego laktoferyną, a następnie włączenie go do żywienia osób z nadwagą i otyłością o określonym obrazie funkcjonalnym organizmu na podstawie badań DNA oraz biochemicznych i antropometrycznych.

W początkowym etapie dokonano analizy literatury celem oceny możliwości wykorzystania laktoferyny w przemyśle spożywczym oraz poznania jej potencjalnych właściwości prozdrowotnych w kontekście chorób cywilizacyjnych, ze szczególnym uwzględnieniem gospodarki węglowodanowej organizmu oraz nadwagi i otyłości.

Kolejno opracowano technologię wytwarzania jogurtu fortyfikowanego laktoferyną w skali laboratoryjnej oraz przeprowadzono obserwacje zmian wyróżników jakości podczas 28-dniowego okresu przechowywania w warunkach chłodniczych. W otrzymanych jogurtach z dodatkiem laktoferyny, wyprodukowanych na bazie kultur starterowych zawierających szczepy *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*, dokonano analizy właściwości fizyko-chemicznych (m.in. wartość odżywcza, kwasowość, tekstura, barwa oceniana instrumentalnie, aktywność wody, synereza), jakości mikrobiologicznej oraz cech organoleptycznych. Odnotowane zmiany nie wpłynęły negatywnie na ogólną jakość i akceptowalność jogurtów fortyfikowanych laktoferyną. Jogurty fortyfikowane

charakteryzowały się wysoką jakością mikrobiologiczną przez cały okres przechowywania chłodniczego.

Następnym etapem było przeskalowanie produkcji jogurtu fortyfikowanego laktoferyną do skali przemysłowej. Otrzymane parametry dla jogurtów wytworzonych w skali przemysłowej były zbliżone do jogurtów wytworzonych w skali laboratoryjnej, głównie ze względu na wykorzystanie surowca z jednego źródła, identycznych kultur starterowych oraz podobnego procesu produkcji. Efektem tego etapu było pozyskanie jogurtów do dalszych badań żywieniowych.

W dalszym etapie wykonano ocenę skuteczności opracowanej interwencji dietetycznej z wykorzystaniem jogurtu fortyfikowanego laktoferyną w żywieniu osób posiadających polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (SNP) predysponujące do zaburzeń gospodarki węglowodanowej oraz nadwagi i otyłości. W celu precyzyjnego doboru grupy badawczej posłużono się narzędziami biologii molekularnej. Wykonano badania przesiewowe z wykorzystaniem genotypowania 137 osób populacji polskiej na obecność wariantów ryzyka w czterech polimorfizmach pojedynczego nukleotydu (rs1121980 - gen FTO, rs993960 - gen FTO, rs10830963 - gen MTNR1B i rs7903146 - gen TCF7L2). Wytypowana 19-osobowa grupa badawcza ze wskaźnikiem masy ciała (BMI) $> 25 \text{ kg/m}^2$ lub stosunkiem masy ciała do wzrostu (WHtR) ≥ 49 uczestniczyła w 21-dniowej interwencji dietetycznej (badanie krzyżowe), prowadzonej zgodnie z opracowanym planem żywieniowym, uwzględniającym jogurt fortyfikowany laktoferyną (200 mg/dzień). Zanotowano różnicę w rozkładzie wariantów genetycznych w analizowanych polimorfizmach pojedynczego nukleotydu w badanej populacji, w porównaniu do populacji europejskiej. Największe różnice zanotowano w rozkładzie rs9939609 – wariant AA (badanie własne – 31,0%; populacja europejska – 19,9%) i rs1121980 – wariant AA (badanie własne – 34,0%; populacja europejska – 23,3%). Interwencja dietetyczna z zastosowaniem jogurtu z dodatkiem laktoferyny wykazała statystycznie istotnie wyższą skuteczność w redukcji masy ciała i hemoglobiny glikowanej (HbA1c), w porównaniu do grupy kontrolnej. Zaobserwowano również bliską wartości „1” dodatnią korelację między redukcją masy ciała, a obniżeniem poziomu HbA1c.

Uzyskane wyniki wskazują, że jogurt fortyfikowany laktoferyną wydaje się wartym uwagi produktem spożywczym, który może być wykorzystany w dietoterapii osób z określoną predyspozycją genetyczną do zaburzeń gospodarki węglowodanowej oraz nadwagi i otyłości.

Słowa kluczowe: laktoferyna, jogurt, otyłość, dieta, nutrigenomika, nutrigenetyka

Summary

Civilisational diseases, such as obesity, are a problem affecting a growing part of the world's population. In recent years, the number of individuals suffering from obesity has tripled, which underscores the importance of research aimed at identifying dietary ingredients with health-promoting properties that could potentially contribute to the treatment of overweight and obesity. One of the same may be lactoferrin which has been approved for use as a food ingredient since 2012. Lactoferrin has been shown to have a number of health benefits, including in terms of its anti-inflammatory, antibacterial, and antimycotic properties. It can also potentially facilitate the reduction of visceral fat, limit the accumulation of fatty tissue, and aid in the regulation of cholesterol and triglyceride levels. Certain products fortified with lactoferrin are already available on the market, although it is still used mainly as an ingredient in pharmaceuticals and cosmetics. However, given the growing consumer interest in functional food, producers are increasingly exploring the possibility of fortifying various everyday food products with lactoferrin. The latter include e.g. fermented dairy products – yoghurts, which, incidentally, provide an ideal matrix for lactoferrin, itself an integral ingredient of milk.

The aim of the dissertation was to develop and optimize the technology of producing yoghurt fortified with lactoferrin, and subsequently include it in the diet of patients suffering from overweight and obesity who shared a specific functional organic profile, as determined on the basis of preliminary DNA, biochemical, and anthropometric tests.

The initial stage of the study entailed a literature review aimed at evaluating the actual applicability of lactoferrin in the food industry and identifying its potential health benefits in the context of civilisational diseases, with a particular focus on carbohydrate metabolism, overweight and obesity.

Subsequently, the technology of manufacturing lactoferrin-fortified yoghurt on the laboratory scale was developed and relevant quality markers were observed over a 28-day cold storage period. The obtained yoghurts containing lactoferrin, produced using starter cultures containing *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* bacterial strains, were analysed in terms of their physicochemical properties (including nutritional value, acidity, texture, instrumentally measured colour, water activity, syneresis), microbiological quality, and organoleptic characteristics. The observed changes did not have a negative impact on the general quality and palatability of the lactoferrin-fortified yoghurts. The products were found to retain high microbiological quality throughout the cold storage period.

The next stage entailed scaling up the production process to industrial standards. The parameters of yogurt produced on an industrial scale were similar to those measured at the laboratory production stage - the raw materials were obtained from the same source, identical starter cultures were used, and similar production processes were employed. The products obtained were then used in the subsequent dietary study.

The next stage of the research aimed to evaluate the efficacy of the proposed dietary intervention using lactoferrin-fortified yoghurt in patients diagnosed with single nucleotide polymorphisms (SNP) that predisposed them for carbohydrate metabolism disorders, overweight and obesity. To ensure that the study group was precisely selected, molecular biology methods were employed. Genotype screening was done for 137 potential participants from Poland to identify cases of risk variants present in four single nucleotide polymorphisms (rs1121980 – FTO gene, rs993960 – FTO gene, rs10830963 – MTNR1B gene, and rs7903146 – TCF7L2 gene). This allowed the selection of 19 subjects with the body mass index (BMI) > 25 kg/m² or weight to height ratio (WHtR) ≥ 49, who subsequently underwent a 21-day dietary intervention (cross-over study) in accordance with the prepared dietary plan that included the consumption of lactoferrin-fortified yoghurt (200 mg/day). Differences were observed in terms of the distribution of the genetic variants of the relevant single nucleotide polymorphisms between the analysed population and the overall European population. The greatest differences were recorded for rs9939609 – AA variant (present study – 31.0%; European population – 19.9%) and rs1121980 – AA variant (present study – 34.0%; European population – 23.3%). The dietary intervention entailing the consumption of lactoferrin-fortified yoghurt was shown to have statistically higher effectiveness in terms of body mass and glycated haemoglobin (HbA1c) reduction as compared to the control group. A positive correlation of nearly “1” was also observed between body mass reduction and lower HbA1c levels.

The obtained results indicate that yoghurt fortified with lactoferrin may be a noteworthy food product with potential therapeutic dietary applications in individuals suffering from specific genetic predispositions for carbohydrate metabolism disorders, overweight and obesity.

Key words: lactoferrin, yoghurt, obesity, diet, nutrigenomics, nutrigenetics