

Katedra Zoologii, Ekologii Zwierząt i Łowiectwa, Uniwersytet Przyrodniczy,
ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin
e-mail: danakp@wp.pl

DANUTA KOWALCZYK-PECKA, ROBERT STRYJECKI,
RADOSŁAW ŚCIBIOR

Wpływ prebiotyków i synbiotyków na gospodarkę lipidową ślimaków *Cepaea nemoralis* (L.) (Helicidae)

The effect of prebiotics and synbiotics on lipid metabolism in snails
Cepaea nemoralis (L.) (Helicidae)

Streszczenie. W pracy przedstawiono wpływ syntetycznych i naturalnych prebiotyków oraz synbiotyku na gospodarkę lipidową ślimaków *Cepaea nemoralis* żywionych w warunkach laboratoryjnych. Pokarm mięczaków suplementowano w różnych konfiguracjach inuliną syntetyczną, topinamburem i synbiotykiem komercyjnym. Wyniki wskazują na wpływ zastosowanych dodatków pokarmowych na zróżnicowanie produkcji kwasów tłuszczowych przez mięczaki. We wszystkich grupach badawczych odnotowano wzrost ilości nienasyconych kwasów tłuszczowych w porównaniu z grupą kontrolną, przy czym najwięcej UFA stwierdzono przy suplementacji pokarmu synbiotykiem z dodatkiem inuliny. Wyniki sugerują użyteczność synchronicznego stosowania prebiotyków i synbiotyków w hodowlach komercyjnych taksonów należących do Helicidae w celu poprawy wartości prozdrowotnej mięsa ślimaków.

Słowa kluczowe: prebiotyki, synbiotyki, lipidy, kwasy tłuszczowe, Helicidae

WSTĘP

Probiotyki, prebiotyki i synbiotyki zyskują na znaczeniu ze względu na niezliczone korzyści zwłaszcza w leczeniu nietolerancji laktozy, wzmocnieniu układu immunologicznego, efektu przeciwnowotworowego – zmniejszaniu ryzyka raka jelita grubego, zapobieganiu i leczeniu biegunek, redukcji zaparć, zwiększeniu odporności na patogeny [Sekhon i Jairath 2010]. Czynniki te są obecnie bardzo popularnym tematem doświadczeń i dyskusji w medycynie, dietetyce, weterynarii oraz zootechnice. Same w sobie stanowią „pożywkę” dla badaczy zajmujących się zdrowiem i zdrowotnością zarówno ludzi, jak i zwierząt [Ewaschuck i Madsen 2009].

Mikroflora jelitowa zwierząt hodowlanych i ludzi zależy od czynników środowiska, diety, predyspozycji genetycznych i kondycji organizmu. Kolonizacja jelita zdrowych zwierząt przez potencjalnie patogenne szczepy bakteryjne może być ograniczona przez konkurencyjność rodzimych bakterii jelitowych. Interakcja i współzawodnictwo bakterii

pożytecznych z patogennymi taksonami należącymi m.in. do *Enterobacteriaceae* jest istotna w procesie zakażenia układu pokarmowego [Denton 2007; Metzler i in. 2009]. Mikrośrodowisko jelita zarówno bezkręgowców, jak i innych zdrowych organizmów funkcjonuje w delikatnej symbiotycznej równowadze z uwarunkowaniami fizjologicznymi gospodarza. Jego stabilność zależy od wielu czynników, w tym dietetycznych. Wiadomo, że mikroflora jelitowa może zwiększać intensywność trawienia u zdrowych zwierząt [Aumiller i in. 2015].

Selektywną stymulację wzrostu i/lub aktywności jednego rodzaju lub ograniczonej liczby bakterii bytujących w okrężnicy zapewniają prebiotyki [Gibson i Roberfroid 1995]. Połączenie prebiotyku i probiotyku, nazwane synbiotykiem, wykazuje efekt synergistyczny [Sekhon i Jairath 2010].

Nie prowadzono do tej pory wielu badań dotyczących działania pre- i synbiotyków na biologię bezkręgowców. Ślimaki należące do Helicidae występują powszechnie w środowisku naturalnym i pełnią istotną rolę jako ogniwo w łańcuchu troficznym. Są grupą konsumentów I rzędu. Taksony hodowlane np. *Helix aspersa* i *Helix pomatia* mają znaczenie komercyjne. Ślimaki *Cepaea nemoralis*, również należące do Helicidae są użytecznym materiałem badawczym do doświadczeń *in vivo* i *in vitro* ze względu na szybki metabolizm i niewielkie rozmiary. Są doskonałymi bioindykatorami i biowskaźnikami stanu środowiska. Ślimaki żyjące zarówno w warunkach naturalnych, hodowlanych jak i laboratoryjnych stanowią praktyczne narzędzie do wykorzystania w celu analizy wpływu różnorodnych czynników – zarówno korzystnych jak i toksycznych – na organizm żywy.

Celem pracy była analiza wpływu prebiotyków i synbiotyków na gospodarkę lipidową – jeden z parametrów stanu fizjologicznego, bezkręgowców należących do Helicidae. Oceniono rolę tych suplementów w zwiększeniu zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych w tkankach mięczaków, co może mieć znaczenie dla podniesienia wartości dietetycznej mięsa ślimaków hodowlanych.

MATERIAŁ I METODY

Ślimaki wykorzystane do badań pochodziły z naturalnej populacji gatunku *Cepaea nemoralis* (Linnaeus, 1758) – wstężyk gajowy (ślimak gajowy). Ślimaki zebrano ręcznie z jednego siedliska o niskim stopniu antropopresji, o ograniczonym dostępie polutantów środowiskowych, w okolicach miasta Modliborzyce (50°45'15"N, 22°19'8"E).

Zbiór ślimaków dokonano jednorazowo, w 2014 r. Do badań wybierano osobniki o muszlach podobnej wielkości, co przy próbach środowiskowych może być pewną gwarancją zbliżonego wieku osobników. Ślimaki wkładano po 10 sztuk do perforowanych pojemników plastikowych o wymiarach 15 × 15 × 5 cm.

Przez 50 dni ślimaki przetrzymywano w komorze fitotronowej (BIOGENET) w stałej temperaturze 15°C przy zachowaniu stałej wilgotności 90%, a fotoperiod dobowy ustalono na 18 h L/6h D.

Ślimakom doświadczalnym dwa razy w tygodniu w warunkach laboratoryjnych podawano przygotowany pokarm. Pożywka zawierająca ok. 5% suchej masy została preparowana na bazie agaru wg formuły Laskowskiego i Hopkinsa [1996]. Bazę do suplementacji

stanowiła pożywka na bazie agaru z dodatkiem marchwi, mleka w proszku i zmielonych otrębów, w której oznaczono ogólną ilość lipidów na 3,043%. Do podłoża dodawano również zmieloną mieszankę pełnoporcjową Grower zawierającą wg producenta pszenicę (390 j.), jęczmień (455 j.), zakwaszacz (4 j.) i detoksykant od mykotoksyn (1 j.) firmy Wipasz. Na płytki Petriego wylewano po 15 ml gotowego podłoża.

Grupom badawczym do pożywki dodawane były następujące suplementy: grupa I (GI) – inulina syntetyczna firmy CHMES w ilości 0,15 g na płytkę; grupa II (GII) – inulina + synbiotyk w ilości 0,15 g + 0,01 g; grupa oznaczona jako III (GIII) – topinambur w ilości 0,15 g; grupa IV (GIV) – topinambur + synbiotyk w ilości 0,15 g + 0,01 g; grupa V (GV) – synbiotyk w ilości 0,01 g na płytkę.

Zastosowano synbiotyk Multilac firmy GENEXO zawierający taksony: *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Streptococcus thermophilus* i składnik prebiotyczny – oligofruktozę.

Kontrolna laboratoryjna grupa ślimaków (KI) otrzymywała również dwa razy w tygodniu pożywkę bez suplementów.

Po siedmiu tygodniach żywienia w warunkach laboratoryjnych badane ślimaki pozostawiono na 48 h bez pożywki w celu oczyszczenia ich układu pokarmowego, a następnie zamrożono w temp -25°C do dalszych analiz.

Lipidy ekstrahowano z wątrobotrzustki i stopy ślimaków, wykorzystując metodę Bligh i Dyera [1959]. Obliczano ogólną procentową zawartość lipidów w badanej próbce.

Estry metylowe kwasów tłuszczowych uzyskiwano według procedury Perkin-Elmera. Do analizy chromatograficznej kwasów tłuszczowych z uzyskanych prób wykorzystano chromatograf gazowy Varian 3800 z detektorem FID z kolumną kapilarną CP-Wax 52CB o długości 60 m i średnicy wewnętrznej 0,25 mm. Typ kolumny WCOT Fused Silica.

Wyniki procentowej zawartości kwasów tłuszczowych w badanej próbce otrzymano, posługując się programem Star GC Workstation Version 6.30.

Wszystkie dane analizowano za pomocą programu Statistica Ver. 6.1 (StatSoft 2003). Rozkład normalny oceniano za pomocą testu Kołmogorowa-Smirnowa, jednorodność wariancji w grupach analizowano, wykorzystując test Levene'a. Uzyskane dane analizowano statystycznie za pomocą ogólnego modelu liniowego (GLM) analizy wariancji jednoczynnikowej ANOVA. Test Tukeya stosowano do wielokrotnych porównań między średnimi, biorąc pod uwagę wartość $P < 0,05$ za znaczącą. Tabele 1–3 przedstawiają średnie, odchylenie standardowe i poziom istotności.

WYNIKI

Ogólna zawartość lipidów w gruczołach trawiennych badanych ślimaków była większa od ogólnej ilości tłuszczu w tkankach stopy. W tkankach stopy oraz w wątrobotrzustce zarówno w mokrej, jak i suchej masie najmniejszą ogólną zawartość lipidów stwierdzono w laboratoryjnej grupie kontrolnej (KI). Najwyższy procentowy stopień zawartości lipidów w tkankach obu badanych organów odnotowano w grupie IV, czyli u osobników żywionych pożywką wzbogaconą o topinambur + synbiotyk. Następnie, w kolejności malejącej, uplasowały się próby zarówno z wątrobotrzustki, jak i stopy z grupy III (topinambur), II (inulina + synbiotyk), I (inulina) i grupy V (synbiotyk) (tab. 1).

Tabela 1. Porównanie ogólnej zawartości lipidów (% mokrej i suchej masy) w organach wstężyka gajowego *Cepaea nemoralis* z grup badawczych i kontrolnej
 Table 1. Comparison of total lipid content (% wet and dry weight) in the organs of the grove snail (*Cepaea nemoralis*) from the experimental groups and control

Lipidy Lipids		KI	GI	GII	GIII	GIV	GV
LF	WW	0,30 ±0,01	0,35 ±0,01 ^a	0,42 ±0,01 ^{ab}	0,47 ±0,02 ^{ab}	0,58 ±0,02 ^b	0,34 ±0,01 ^a
	DW	2,60 ±0,09	2,78 ±0,09 ^a	2,90 ±0,08 ^{ab}	3,13 ±0,10 ^{ab}	5,61 ±0,12 ^{cd}	3,11 ±0,09 ^{ab}
LH	WW	0,84 ±0,06	0,88 ±0,06 ^a	0,98 ±0,06 ^{ab}	1,78 ±0,07 ^c	1,92 ±0,08 ^c	0,98 ±0,05 ^{ab}
	DW	5,88 ±0,14	6,69 ±0,19 ^{ab}	6,96 ±0,18 ^b	8,24 ±0,22 ^{bc}	9,79 ±0,24 ^c	6,08 ±0,17 ^a

Szczegółowy opis grup badawczych w rozdziale Materiały i metody. LF – lipidy w tkankach stopy, LH – lipidy w wątrobotrzustce, WW – mokra masa, DW – sucha masa. Wartości podano jako średnie ± odchylenie standardowe, n = 10. Wartości oznaczone różnymi literami (a, b, c, d) w tym samym wierszu są znacząco różne (P < 0,05)

A detailed description of the experimental groups is given in Materials and methods. LF – lipids in foot tissues, LH – lipids in hepatopancreas. WW – wet weight, DW – dry weight. Values are given as ± standard deviation, n = 10. Values designated with different letters (a, b, c, d) in the same row are significantly different (P < 0.05)

Największą zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych w tkankach stopy wykazano u laboratoryjnej grupy kontrolnej (30,85%), a z grup badawczych najwięcej SFA stwierdzono w grupie I (inulina). Najmniej kwasów nasyconych stwierdzono natomiast u ślimaków z grupy II. Spośród wszystkich grup ślimaków największą ilość rozgałęzionych nasyconych kwasów tłuszczowych (iso + anteiso) w tkankach stopy stwierdzono w grupie badawczej V, suplementowanej synbiotykiem. Natomiast najmniejszy procent stwierdzono w stopach osobników z grupy II (2,73%) (tab. 2).

Spośród wszystkich grup badawczych w grupie V (synbiotyki) odnotowano największą zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych w przypadku wątrobotrzustek. Najmniejszy procent (25,19%) zaś u ślimaków należących do grupy II, której pożywka wzbogacona była o inulinę i synbiotyki (tab. 3).

Wyniki uzyskane z analizy ślimaków z grupy V (2,94%) i kontrolnej (2,98%) wykazały podobne zawartości nasyconych rozgałęzionych kwasów tłuszczowych w tkankach wątrobotrzustki. Najniższy procent tych lipidów wykazały ślimaki pochodzące z grupy badawczej nr II (inulina + synbiotyki) (tab. 3).

U osobników należących do grupy II w tkankach stopy oznaczono największą zawartość jednonienasyconych kwasów tłuszczowych (MUFA – 16,95%). Grupą o najmniejszej ilości analizowanych kwasów była grupa I (inulina) (14,40%) (tab. 2).

Również na podstawie wyników otrzymanych z analizy wątrobotrzustek odnotowano największą zawartość jednonienasyconych kwasów tłuszczowych (MUFA) u ślimaków z grupy II (inulina + synbiotyki) (15,07%). Najmniejszym procentem charakteryzowały się tkanki pochodzące od ślimaków z grupy V (synbiotyki) (tab. 3).

Biorąc pod uwagę analizę tkanek stopy, największą zawartością wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) charakteryzowały się ślimaki z grupy II (53,18%), natomiast najmniejszą – z grupy V (tab. 2).

Tabela 2. Procentowa zawartość podstawowych grup kwasów tłuszczowych w tkankach stopy ślimaków *Cepaea nemoralis* poddanych działaniu prebiotyków i synbiotyków
 Table 2. Percentage content of main fatty acid groups in the foot tissues of snails (*Cepaea nemoralis*) treated with prebiotics and synbiotics

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	KI f	GI f	GII f	GIII f	GIV f	GV f
ΣSFA	30,85 ±1,31	29,97±1,22 ^a	27,14 ±1,08 ^b	29,88 ±1,21 ^a	28,13 ±1,17 ^{ab}	28,92 ±1,19 ^{ab}
Σ iso+ anteiso	3,31 ±0,32	2,92 ±0,25 ^{ab}	2,73 ±0,24 ^b	3,08 ±0,31 ^{ab}	2,84 ±0,27 ^{ab}	3,25 ±0,29 ^a
ΣMUFA	14,81 ±1,24	14,40 ±1,23 ^a	16,95 ±1,35 ^b	15,11 ±1,17 ^{ab}	16,07 ±1,36 ^b	16,46 ±1,47 ^b
ΣPUFA	51,03 ±1,99	52,71 ±2,65 ^{ab}	53,18 ±2,71 ^{ab}	51,93 ±2,23 ^a	52,96 ±2,32 ^{ab}	51,37 ±2,17 ^a
ΣUFA	65,84 ±3,23	67,11 ±3,88 ^b	70,13 ±4,06 ^c	67,04 ±3,40 ^b	69,03 ±3,68 ^{bc}	67,83 ±3,64 ^b
ΣUFA/ΣSFA	2,13	2,24 ^{ab}	2,58 ^b	2,24 ^{ab}	2,45 ^{ab}	2,35 ^{ab}
Σn-6	28,99 ±1,18	31,47 ±1,36 ^b	32,39 ±1,32 ^{bc}	30,28 ±1,29 ^{ab}	31,03 ±1,41 ^b	30,05 ±1,25 ^{ab}
Σn-3	3,25 ±0,31	4,12 ±0,43 ^{ab}	4,38 ±0,37 ^{ab}	3,47 ±0,29 ^a	3,89 ±0,31 ^a	3,24 ±0,33 ^a
Σn-6/Σn-3	8,92	7,64 ^{ab}	7,39 ^b	8,73 ^a	7,98 ^{ab}	9,27 ^c

Szczegółowy opis grup badawczych w rozdziale Materiały i metody. Wartości podano jako średnie ± odchylenie standardowe, n = 10; f – tkanki stopy. SFA – nasycone kwasy tłuszczowe; iso+anteiso – nasycone rozgałęzione kwasy tłuszczowe; MUFA – jednonienasycone kwasy tłuszczowe; PUFA – wielonienasycone kwasy tłuszczowe, UFA – nienasycone kwasy tłuszczowe, n-6 – kwasy tłuszczowe omega 6, n-3 – kwasy tłuszczowe omega 3. Wartości oznaczone różnymi literami (a, b, c, d) w tym samym wierszu są znacząco różne (P < 0,05)

A detailed description of the experimental groups is given in Materials and methods. Values are given as ± standard deviation, n = 10; f - foot tissues, SFA – saturated fatty acids; iso+anteiso – branched saturated fatty acids; MUFA – monounsaturated fatty acids; PUFA – polyunsaturated fatty acids, UFA – unsaturated fatty acids, n-6 – omega-6 fatty acids, n-3 – omega-3 fatty acids. Values designated with different letters (a, b, c, d) in the same row are significantly different (P < 0.05)

Analogicznie największą ilość PUFA w wątrobotrzustce stwierdzono w przypadku ślimaków należących do grupy II (57,18%), a najmniejszą u osobników z grupy V (synbiotyk).

Biorąc pod uwagę ogólną procentową zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych (UFA) w tkankach wątrobotrzustki i tkanek stopy nie zauważa się zbyt dużych różnic w poziomie kwasów tłuszczowych w badanych organach. U osobników należących do grupy II największą zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych stwierdzono w przypadku tkanek stopy. Najmniejszy procent badanej grupy kwasów tłuszczowych odnotowano w grupie kontrolnej, a z grup badawczych – w grupie III (topinambur) (tab. 2 i 3).

Analizie został poddany także stosunek nienasyconych kwasów tłuszczowych do nasyconych kwasów tłuszczowych. Biorąc pod uwagę tkanki wątrobotrzustki najwyższy stosunek wspomnianych kwasów stwierdzono u ślimaków należących do grupy II (2,87%), a najniższy u osobników z grupy V (synbiotyk). W przypadku tkanek stopy najniższym stosunkiem nienasyconych kwasów tłuszczowych do nasyconych kwasów tłuszczowych charakteryzowała się grupa kontrolna, a z grup badawczych – mięczaki z grupy I. W tkankach stopy ślimaków pochodzących z grupy o diecie wzbogaconej o inulinę i synbiotyk (grupa II) odnotowano najwyższy stosunek badanej grupy lipidów.

Dużą wartość osiągnęły osobniki, których pożywka wzbogacona była o topinambur i synbiotyki (grupa IV) (tab. 2 i 3).

Tabela 3. Procentowa zawartość podstawowych grup kwasów tłuszczowych w wątrobotrzustce ślimaków *Cepaea nemoralis* poddanych działaniu prebiotyków i synbiotyków

Table 3. Percentage content of main fatty acid groups in the hepatopancreas of snails (*Cepaea nemoralis*) treated with prebiotics and synbiotics

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	KI h	GI h	GII h	GIII h	GIV h	GV h
ΣSFA	29,12 ±1,34	27,37 ±1,44 ^b	25,19 ±1,12 ^c	28,21 ±1,28 ^{ab}	26,98 ±1,17 ^{bc}	28,94 ±1,32 ^a
Σ iso+anteiso	2,98 ±0,39	2,72 ±0,34 ^b	2,56 ±0,38 ^c	2,86 ±0,28 ^{ab}	2,78 ±0,32 ^b	2,94 ±0,29 ^a
ΣMUFA	14,02 ±1,02	13,66 ±0,89 ^b	15,07 ±1,14 ^c	13,69 ±0,99 ^b	13,44 ±0,97 ^b	13,14 ±1,01 ^b
ΣPUFA	53,88 ±2,82	56,25 ±3,77 ^b	57,18 ±3,65 ^c	55,24 ±3,34 ^{ab}	56,82 ±3,29 ^b	54,98 ±2,98 ^{ab}
ΣUFA	67,90 ±3,84	69,91 ±4,44 ^{ab}	72,25 ±4,79 ^b	68,93 ±4,33 ^{ab}	70,26 ±4,26 ^{ab}	68,12 ±3,99 ^a
ΣUFA/ ΣSFA	2,33	2,55 ^b	2,87 ^{bc}	2,44 ^{ab}	2,60 ^b	2,35 ^a
Σn-6	24,77 ±1,15	25,45 ±1,22 ^a	26,52 ±1,35 ^{ab}	24,89 ±1,18 ^a	25,44 ±1,11 ^a	24,89 ±1,09 ^a
Σn-3	1,72 ±0,17	2,02 ±0,29 ^{ab}	2,48 ±0,27 ^b	1,94 ±0,18 ^a	2,12 ±0,21 ^{ab}	2,03 ±0,23 ^{ab}
Σn-6/ Σn-3	14,40	12,60 ^b	10,69 ^c	12,83 ^b	12,00 ^{bc}	12,26 ^{bc}

Szczegółowy opis grup badawczych w rozdziale Materiały i metody. Wartości podano jako średnie ± odchylenie standardowe, n = 10; h – wątrobotrzustka. SFA – nasycone kwasy tłuszczowe; iso+anteiso – nasycone rozgałęzione kwasy tłuszczowe; MUFA – jednonienasycone kwasy tłuszczowe; PUFA – wielonienasycone kwasy tłuszczowe; UFA – nienasycone kwasy tłuszczowe; n-6 – kwasy tłuszczowe omega 6; n-3 – kwasy tłuszczowe omega 3. Wartości oznaczone różnymi literami (a, b, c, d) w tym samym wierszu są znacząco różne (P < 0,05)

A detailed description of the experimental groups is given in Materials and methods. Values are given as ± standard deviation, n = 10; h – hepatopancreas; SFA – saturated fatty acids; iso+anteiso – branched saturated fatty acids; MUFA – monounsaturated fatty acids; PUFA – polyunsaturated fatty acids; UFA – unsaturated fatty acids; n-6 – omega-6 fatty acids; n-3 – omega-3 fatty acids. Values designated with different letters (a, b, c, d) in the same row are significantly different (P < 0.05)

Porównując wyniki oznaczone dla tkanek wątrobotrzustki i tkanek stopy badanych ślimaków, stwierdzono znaczną różnicę pomiędzy zawartością kwasów omega 6. W tkankach wątrobotrzustki oznaczono wartości do ośmiu punktów procentowych niższe niż w tkankach stopy. Osobniki pochodzące z grupy kontrolnej zawierały najmniejszą ilość kwasów omega 6 zarówno w wątrobotrzustce, jak i tkankach stopy. Tkanki stopy osobników należących do grupy badawczej II i I uzyskały najwyższy procent analizowanych kwasów omega 6.

W przypadku procentowej zawartości kwasów omega 3 również widoczne są różnice pomiędzy wynikami uzyskanymi dla tkanek wątrobotrzustki i dla tkanek stopy. Dokonując porównania, stwierdza się większy procent analizowanej grupy kwasów w tkankach stopy.

Najniższy poziom stwierdzono u ślimaków należących do grupy kontrolnej, a z grup badawczych – u należących do grupy III (topinambur), zaś najwyższy procent – u osobników z grupy II. W tkankach stopy oznaczono wartości w granicach od 3,19% do 4,38%.

Kontrola środowiskowa charakteryzowała się najmniejszą ilością kwasów omega 3 w tkankach stopy (z grup badawczych najmniej kwasów omega 3 było w grupie V). Największa wartość wystąpiła u ślimaków poddanych działaniu inuliny i synbiotyku (grupa II) (tab. 2 i 3).

Dokonano również analizy stosunku kwasów omega 6 do kwasów omega 3. Wyniki dotyczące tkanek wątrobotrzustki znacznie przewyższyły wartości uzyskane w próbach z tkanki stopy. Osobniki pochodzące z grupy kontrolnej osiągnęły najwyższy stosunek kwasów omega 6 do kwasów omega 3. Najmniejszą wartość stosunku tych kwasów tłuszczowych odnotowano w przypadku osobników należących do grupy II zarówno w przypadku tkanek wątrobotrzustki, jak i tkanek stopy (tab. 2 i 3).

DYSKUSJA

Probiotyki, prebiotyki i synbiotyki, wpływając m.in na mikroflorę układu pokarmowego, oddziałują na ogólny stan fizjologiczny organizmów, stymulując ich układ immunologiczny, zwiększając odporność, przyspieszając metabolizm [Gibson i Roberfroid 1995]. Działanie tych czynników może mieć odbicie w wielu parametrach fizjologicznych. Należy do nich gospodarka lipidowa, w tym zróżnicowana produkcja kwasów tłuszczowych.

W typowaniu biomarkerów istotne jest szybkie tempo uzyskania fizjologicznej odpowiedzi organizmu, a tę możliwość daje wykorzystanie do badań bezkręgowców.

Szereg czynników wpływających na zasiedlanie jelita przez bakterie patogenne zależy od suplementów diety. Składniki fermentujące w pożywieniu powodują obniżenie wartości pH, aktywując naturalnie występujące fitazy, poprawiają zdrowotność jelita przez zmniejszenie liczebności bakterii Enterobacteriaceae w całym jelicie [Jørgensen i in. 2010, Canibe i Jensen 2012, Kraler i in. 2014]. Węglowodany fermentujące zawarte w pożywieniu mogą mieć wpływ na ekosystemy bakteryjne pod względem jakościowym i ilościowym. Bakterie należące do rodzaju *Lactobacillus* pobudzają wydzielanie śluzu w jelitach i regenerację komórek nabłonka jelitowego [Metzler i in. 2009]. W suplementacji diety wykorzystuje się również immunostymulacyjne i przeciwzapalne właściwości niektórych kwasów tłuszczowych, np. koniugowanego kwasu linolowego i kwasów omega 3 [Rossi i in. 2010].

Fruktanom, w szczególności inulinie, oligofruktozom czy fruktooligo-sacharydom przypisuje się działanie prebiotyczne związane z brakiem zdolności trawienia tych związków przez organizmy monogastryczne. Jest to możliwe dzięki obecności wiązań β -glikozydowych w strukturze inuliny, które zapewniają odporność na hydrolizę przez enzymy trawienne. U kręgowców polisacharyd ten przechodzi w niezmienionej formie do jelita grubego, gdzie pełni rolę substratu dla bifidobakterii warunkujących utrzymanie prawidłowej flory jelitowej [Górecka i in. 2005]. Rosnące zainteresowanie bulwami topinamburu – słonecznika bulwiastego (*Helianthus tuberosus* L.) – wynika z obecności w nich: inuliny, fruktooligosacharydów, fruktozy, związków mineralnych, białka, aminokwasów, witamin, związków fitochemicznych, nienasyconych kwasów tłuszczowych, flawonoidów i fitosteroli [Matsuura i in. 1993].

Bakterie kwasu mlekowego oraz bifidobakterie powodują redukcję wartości pH treści jelita, wytwarzają substancje antybiotyczne, hamując w ten sposób aktywność i rozwój szczepów patogennych. Konsekwencją obniżenia poziomu pH jest wzrost stężenia

składników mineralnych w postaci jonowej oraz przyspieszenie ich dyfuzji poprzez błony komórkowe. Fruktany zwiększają absorpcję cynku, fosforu, magnezu, miedzi, wapnia i żelaza [Scholz-Ahrens i Schrezenmeir 2007].

Szczególną uwagę zwraca się na bakterie kwasu mlekowego (np. z rodzaju *Lactobacillus*) oraz *Bifidobacterium*. Bakterie te przeprowadzają fermentację inuliny, w wyniku której powstają krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (octowy, propionowy, masłowy), hamujące rozwój bakterii należących do Enterobacteriaceae [Cieślik i Gębusia 2010].

Również w skład mikroflory układu pokarmowego ślimaków lądowych wchodzi taksony Enterobacteriaceae, np. *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* [Pepperel i in. 2002, Chuang i in. 2006, Paterson 2006]. Uzyskane wyniki pozwalają sugerować bezpośrednio przełożenie wpływu pożytecznych bakterii pochodzących z synbiotyku podawanych mięczakom w konfiguracji z syntetyczną inuliną oraz z inuliną pochodzącą z topinamburu, na zróżnicowanie zawartości kwasów tłuszczowych w tkankach bezkręgowców.

Zwłaszcza zwiększenie ilości nienasyconych kwasów tłuszczowych zarówno w wątrobotrzustce, jak i w tkankach stopy ślimaków wskazują na możliwe poprawienie prozdrowotnej wartości mięsa taksonów hodowlanych należących do Helicidae przez suplementację ich pokarmu pre-, pro- i/lub synbiotykami.

Zwraca uwagę szczególnie korzystne dla składu kwasów tłuszczowych u mięczaków zestawienie synbiotyku, który sam zawiera substancje o działaniu prebiotycznym, ze stymulującym dodatkiem czystej inuliny – wyniki uzyskane w tej grupie badawczej ślimaków dają asumpt do dalszych badań.

WNIOSKI

Zastosowane suplementy diety zmniejszyły ilość nasyconych kwasów tłuszczowych i zwiększyły zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych w tkankach ślimaków we wszystkich grupach badawczych w porównaniu z grupą kontrolną.

Wykorzystane pre- i synbiotyki wpłynęły korzystnie na badane parametry biologii *Cepaea nemoralis*, co może mieć bezpośrednie przełożenie na pozytywne znaczenie ekologiczne ślimaków należących do Helicidae w środowisku oraz w hodowlach komercyjnych.

PIŚMIENNICTWO

- Aumiller T., Mosenthin R., Weiss E., 2015. Potential of cereal grains and grain legumes in modulating pigs' intestinal microbiota – a review. *Livest. Sci.* 172, 16–32.
- Bligh E.G., Dyer W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Phys.* 37, 911–917.
- Canibe N., Jensen B.B., 2012. Fermented liquid feed. Microbial and nutritional aspects and impact on enteric diseases in pigs. *Anim. Feed Sci. Tech.* 173, 17–40.
- Chuang Y., Tseng S., Teng L., Ho Y., Hsueh P., 2006. Emergence of cefotaxime resistance in *Citrobacter freundii* causing necrotizing fasciitis and osteomyelitis. *J. Infect.* 53, 161–163.
- Cieślik E., Gębusia A., 2010. Topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) – bulwa o właściwościach prozdrowotnych. *Post. Nauk Rol.* 3, 91–103.
- Denton M., 2007. Enterobacteriaceae. *Int. J. Antimicrob. Ag.* 29, suppl. 3, 9–22.

- Ewaschuck J.B., Madsen K.L., 2009. Mechanisms of probiotic effects: a review. *Funct. Food Rev.* 1, 29–41.
- Gibson R., Roberfroid M., 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* 125, 140–1412.
- Górecka D., Konieczny P., Stachowiak J., Korczak J., Tarkowska K., 2005. Właściwości funkcjonalne inuliny i jej zdolność w zakresie sorpcji wybranych składników mineralnych. *Bromatol. Chem. Toksykol.* 37, supl. 423–427.
- Jørgensen H., Sholly D., Pedersen A. Ø., Canibe N., Knudsen K.E.B., 2010. Fermentation of cereals. Influence on digestibility of nutrients in growing pigs. *Livest. Sci.* 134, 56–58.
- Kraler M., Schedleb K., Domig K.J., Heined D., Michlmayr H., Kneifel W., 2014. Effects of fermented and extruded wheat bran on total tract apparent digestibility of nutrients, minerals and energy in growing pigs. *Anim. Feed Sci. Tech.* 197, 121–129.
- Laskowski R., Hopkin S.P., 1996. Accumulation of Zn, Cu, Pb and Cd in the garden snail (*Helix aspersa*): implications for predators. *Environ. Pollut.* 91, 289–297.
- Matsuura H., Yoshihara T., Ichihara A., 1993. Four new polyacetylenic glucosides, methyl beta-D-glucopyranosyl helianthenate CF, from Jerusalem artichoke *Helianthus tuberosus* L.). *Biosci. Biotech. Biochem.* 57(9), 1492–1498.
- Metzler B.U., Vahjen W., Baumgartel T., Rodehutschord M., Mosenthin R., 2009. Changes in bacterial populations in the ileum of pigs fed low-phosphorus diets supplemented with different sources of fermentable carbohydrates. *Anim. Feed Sci. Tech.* 148, 68–89.
- Paterson D.L. 2006. Resistance in Gram-Negative Bacteria: Enterobacteriaceae. *Am. J. Med.* 119, 6A, 20–28.
- Pepperell C., Kus J. V., Gardam M.A., Humar A. and Burrows L.L., 2002. Low-virulence *Citrobacter* species encode resistance to multiple antimicrobials. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46, 11, 3555–3560.
- Rossi R., Pastorelli G., Cannata S., Corino C., 2010. Recent advances in the use of fatty acids as supplements in pig diets: A review. *Anim. Feed Sci. Tech.* 162, 1–11.
- Scholz-Ahrens K.E., Schrezenmeir J., 2007. Inulin and oligofructose and mineral metabolism: the evidence from animal trials. *J. Nutr.* 137 (11), 2513–2523.
- Sekhon B.S., Jairath S., 2010. Prebiotics, probiotics and synbiotics: an overview. *J. Pharm. Educ. Res.* 1 (2), 13–36.

Summary. The paper presents the effect of synthetic and natural prebiotics and a synbiotic on the lipid metabolism of snails (*Cepaea nemoralis*) fed in laboratory conditions. The diet of the snails was supplemented with synthetic inulin, Jerusalem artichoke and a commercial synbiotic in various configurations. The results indicate that the dietary supplements caused differences in the production of fatty acids by the snails. In all of the experimental groups an increase in the quantity of unsaturated fatty acids was observed with respect to the control, with the highest level of UFA noted in the case of supplementation with the synbiotic together with inulin. The results indicate the usefulness of simultaneous application of pre- and synbiotics in commercial farming of taxa belonging to the Helicidae in order to improve the health-promoting value of snail meat.

Key words: prebiotics, synbiotics, lipids, fatty acids, Helicidae