

# Simulacija i analiza globalne parametarske osjetljivosti modela razgradnje ugljikohidrata u debelom crijevu

---

Pranjić, Ines

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:617582>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International](#)/[Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-29**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2023.

Ines Pranjić

**SIMULACIJA I ANALIZA  
GLOBALNE PARAMETARSKE  
OSJETLJIVOSTI MODELA  
RAZGRADNJE UGLJIKOHIDATA  
U DEBELOM CRIJEVU**

Rad je izrađen u Laboratoriju za mjerenje, regulaciju i automatizaciju na Zavodu za procesno inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Ane Jurinjak Tušek.

## ZAHVALA

*Od srca zahvaljujem dragoj mentorici izv. prof. dr. sc. Ani Jurinjak Tušek na strpljivosti, uloženom trudu, izdvojenom vremenu, pružanju nesebične pomoći i zlata vrijednih savjeta prilikom izrade diplomskog rada.*

*Veliko hvala mojim roditeljima i bratu koji su me usmjeravali te pružili ljubav i podršku tijekom svih godina školovanja.*

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Zavod za procesno inženjerstvo  
Laboratorij za mjerenje, regulaciju i automatizaciju

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Nutricionizam

Diplomski sveučilišni studij: Nutricionizam

## SIMULACIJA I ANALIZA GLOBALNE PARAMETARSKE OSJETLJIVOSTI MODELA RAZGRADNJE UGLJIKOHIDRATA U DEBELOM CRIJEVU

*Ines Pranjić, univ. bacc. nutr. 0058214620*

**Sažetak:** Pravilnom prehranom organizam se opskrbljuje svim potrebnim nutrijentima koji, kroz različite biokemijske procese, osiguravaju stanicama rast i normalno funkcioniranje. Metabolizam ugljikohidrata pomoću mikrobiote debelog crijeva jedan je od tih procesa čiji se model analizirao u ovome radu. U svrhu toga, razvijena su četiri jelovnika sa različitim početnim koncentracijama laktoze i glukoze. Model je simuliran u vremenskom intervalu od pet dana i pritom je praćena promjena koncentracije laktoze, glukoze, butirata, polisaharida i mikroorganizama koji koriste laktozu i glukozu. Rezultati pokazuju da se promjenom početne koncentracije laktoze značajno mijenjala i dinamika razgradnje laktoze u debelom crijevu čovjeka. Budući da je riječ o biološkom sustavu, provedena je analiza i globalne parametarske osjetljivosti. Kao najosjetljiviji kinetički parametar istaknula se maksimalna specifična brzina hidrolize polisaharida u jednostavne šećere,  $k_{\text{hyd,z}}$ . U pozadini cijele simulacije je tendencija razvoja individualizirane prehrane odnosno, koncepta skrojenog prema prehrambenim potrebama pojedinca.

**Ključne riječi:** *metabolizam ugljikohidrata, laktoza, matematički model, globalna parametarska osjetljivost*

**Rad sadrži:** 52 stranice, 15 slika, 13 tablica, 43 literaturna navoda, 1 prilog

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:** Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Ana Jurinjak Tušek

### Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. prof. dr. sc. Jasenka Gajdoš Kljusurić (predsjednik)
2. izv. prof. dr. sc. Ana Jurinjak Tušek (mentor)
3. izv. prof. dr. sc. Maja Benković (član)
4. izv. prof. dr. sc. Ivana Rumora Samarin (zamjenski član)

**Datum obrane:** 27. rujna 2023.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**Department of Process Engineering**  
**Laboratory for Measurement, Regulation and Automatisation**

**Scientific area:** Biotechnical Sciences

**Scientific field:** Nutrition

**Graduate university study programme:** Nutrition

### SIMULATION AND ANALYSIS OF GLOBAL PARAMETER SENSITIVITY OF THE CARBOHYDRATE DECOMPOSITION MODEL IN THE COLON

*Ines Pranjić, univ. bacc. nutr. 0058214620*

**Abstract:** With a proper diet, the body is supplied with all the necessary nutrients that, after undergoing various biochemical processes, ensure the growth and normal functioning of the cells. Carbohydrate metabolism by colon microbiota is one of those processes whose model was analyzed in this thesis. For this purpose, four menus were developed with different initial concentrations of lactose and glucose. The model was simulated in a time interval of five days and the change in the concentration of lactose, glucose, butyrate, polysaccharides and microorganisms that use lactose and glucose was monitored. The results show that by changing the initial concentration of lactose, the dynamics of lactose decomposition in the human colon also changed significantly. Since it is a biological system, an analysis of global parametric sensitivity was also performed. The maximum specific rate of hydrolysis of polysaccharides ( $k_{hyd,z}$ ) stood out as the most sensitive kinetic parameter. In the background of the entire simulation is the tendency to develop individualized nutrition, a concept tailored to the nutritional needs of the individual.

**Keywords:** *carbohydrate metabolism, lactose, mathematical model, global parameter sensitivity*

**Thesis contains:** 52 pages, 15 figures, 13 tables, 43 references, 1 supplement

**Original in:** Croatian

**Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) form is deposited in:** The Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

**Mentor:** Ana Jurinjak Tušek, Associate professor

#### **Reviewers:**

1. Jasenka Gajdoš Kljusurić, PhD, Full professor (president)
2. Ana Jurinjak Tušek, PhD, Associate professor (mentor)
3. Maja Benković, PhD, Associate professor (member)
4. Ivana Rumora Samarin, PhD, Associate professor (substitute)

**Thesis defended:** 27<sup>th</sup> September, 2023.

## Sadržaj

<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO .....</b>	<b>2</b>
2.1. Laktoza .....	2
2.2. Razgradnja laktoze .....	3
2.3. Intolerancija na laktozu .....	4
2.3.1. Vrste intolerancija na laktozu.....	5
2.3.2. Laktoza intolerancija u svijetu .....	5
2.4. Apsorpcija laktoze .....	7
2.4.1. Mjerenje aktivnosti crijevne laktaze .....	7
2.5. Liječenje intolerancije .....	8
2.6. Crijevna mikrobiota.....	10
2.6.1. Mikrobne populacije tankog crijeva.....	10
2.6.2. Debelo crijevo .....	10
2.6.3. Uloga sluzi (mukusa) u debelom crijevu .....	11
2.7. Funkcijski modeli probave .....	12
2.7.1. <i>In vitro</i> i <i>in vivo</i> modeli probave .....	12
2.7.2. Matematički modeli probave.....	12
2.8. Matematički model razgradnje ugljikohidrata .....	13
2.8.1. Hidraulički prikaz debeloga crijeva .....	13
2.8.2. Transport tvari u debelom crijevu .....	14
2.8.3. Razgradnja ugljikohidrata u debelom crijevu .....	15
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO .....</b>	<b>17</b>
3.1. Materijali .....	17
3.1.1. WR Mathematica .....	17
3.1.2. Matematički model razgradnje ugljikohidrata pod utjecajem mikrobiote debeloga crijeva .....	17
3.1.3. Preporuke za razvoj jelovnika .....	27
3.2. Metode.....	28
3.2.1. Simulacija matematičkog model razgradnje ugljikohidrata pod utjecajem mikrobiote debeloga crijeva.....	28
3.2.2. Analiza globalne parametarske osjetljivosti .....	28
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	<b>30</b>
4.1. Jelovnici s različitim udjelima laktoze .....	30
4.2. Analiza jelovnika.....	35



4.3. Simulacija matematičkog model razgradnje ugljikohidrata pod utjecajem mikrobiote debeloga crijeva .....	39
4.4. Analiza globalne parametarske osjetljivosti.....	45
<b>5. ZAKLJUČCI.....</b>	<b>48</b>
<b>6. LITERATURA.....</b>	<b>49</b>

# 1. UVOD

Prehrana čini neizostavni segment čovjekove svakodnevice. Planiranje obroka, odabir namirnica, priprema, kuhanje i objedovanje spravljene hrane radnje su koje za cilj imaju osigurati tijelu dovoljno energije, ali i omogućiti svakoj osobi da kroz hranu priča svoju priču, izrazi kreativnost i podijeli ju s drugima.

Osim opskrbe energijom, bitan je i unos makro- i mikronutrijenata kako bi se održalo zdravlje organizma. Raznolikost u prehrani postiže se konzumiranjem namirnica iz različitih skupina hrane, a samim time otklanja se i strah od nedovoljnog unosa nekog nutrijenta. Najzastupljeniji makronutrijenti u prehrani jesu ugljikohidrati s obzirom da zadovoljavaju više od pola energetske dnevne potrebe čovjeka. Dije se na monosaharide (jednostavne šećere) i polisaharide koji, osim prehranbene, mogu imati i spremišnu ulogu (npr. celuloza u biljkama i glikogen u jetri). Biokemijski gledano, ugljikohidrati su važne gradivne jedinice različitih molekula bez kojih život stanice ne bi bio moguć. Tako šećer riboza gradi RNA, a deoksiriboza DNA – nositeljicu gena. Putem voća i povrća koji su svojim najvećim dijelom upravo ugljikohidrati, unose se esencijalni vitamini i minerali te se na taj način uspostavlja homeostaza cjelokupnog ljudskog bića. Kako bi ti nutrijenti stanicama bili dostupni, po ulasku u organizam prolaze kroz niz biokemijskih reakcija.

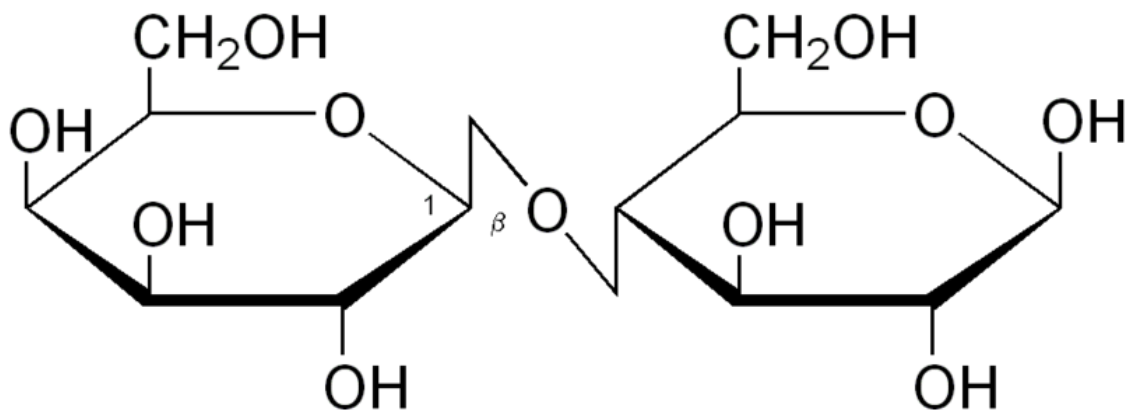
Razgradnja ugljikohidrata je u ovome radu opisana uz pomoć matematičkog modela koji objedinjuje sve reakcije te kao rezultat daje brza i razumljiva rješenja. Prednost ovakvih modela je zasigurno mogućnost lakog mijenjanja ulaznih podataka (npr. količine unesenog šećera laktoze) čime se postiže ono što se u nutricionizmu sve češće naglašava, a to je individualni pristup. Model koji objašnjava razgradnju ugljikohidrata uz posredovanje mikroorganizama ljudskog crijeva, opisan je korištenjem programa Mathematica 10.0 (Wolfram Reserch, Inc., Champaign, SAD).

Cilj ovoga rada bio je pokušati simulirati model metabolizma laktoze i glukoze korištenjem različitih početnih koncentracija na temelju isplaniranih jelovnika. U konačnici, svrha modela je prilagođavanje prehrane pojedincu, tj. ostvarivanje težnje individualnom pristupu u nutricionizmu.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. LAKTOZA

Laktoza je disaharid sastavljen od dvije aldoheksoze, D-glukoze i D-galaktoze povezane 1,4-glikozidnom vezom (Szilagyi i Ishayek, 2018). Na slici 1 nalazi se prikaz kemijske strukture molekule laktoze. Kod velike većine sisavaca, glavni ugljikohidrat iz mlijeka je upravo laktoza pa je stoga poznata i pod nazivom mliječni šećer. Sintezu laktoze u mliječnim žlijezdama omogućava hormon prolaktin čije se lučenje povećava nakon poroda, a smanjuje zajedno sa razinama progesterona po prestanku dojenja. S biokemijske strane, sinteza ovisi o aktiviranoj uridin difosfat galaktozi koja se spaja s glukozom pomoću enzima galaktozil transferaze. Udio laktoze u mlijeku nije uniforman za sve sisavce pa tako npr. ljudsko mlijeko je sadrži 7 %, a kravlje 4,6 %. Osim što zauzima oko 30 % kalorija koje novorođenče unosi, laktoza i galaktooligosaharidi potiču rast korisnih mikrobnih zajednica u crijevima (Bode, 2012).



Slika 1. Strukturalni prikaz laktoze (Tratnik i Božanić, 2012)

## 2.2. RAZGRADNJA LAKTOZE

Laktaza,  $\beta$ -galaktozidaza ili laktaza-florizin hidrolaza (LPH) je enzim prisutan u epitelu tankoga crijeva, a zadužen je za razgradnju laktoze na monosaharide, glukozu i galaktozu. S obzirom na to da se enzim nalazi na vrškovima crijevnih resica, bilo kakvo oštećenje istih uzrokovat će i gubitak određene koncentracije laktaze. Najveća koncentracija LPH je u proksimalnom dijelu jejunuma pri čemu ta koncentracija progresivno opada prema ileumu. Slijedi transport ovih produkata kroz crijevne resice pomoću transportnih proteina. Glukoza uglavnom ulazi u proces glikolize kako bi se dobila energija potrebna za rad stanica, a apsorbirana galaktoza ima višestruke uloge. Ona se također može upotrijebiti kao izvor energije poput glukoze, ali otkriveno je da ju organizam koristi i kao posrednika u komunikaciji između stanica, u brojnim imunološkim reakcijama i za neurološki razvoj (Brüssow, 2013).

Već u majčinoj utrobi, tj. tijekom trećeg tromjesečja, aktivnost crijevne laktaze ploda se počinje povećavati, a vrhunac doseže u trenutku rođenja. Spomenuto je kako je prolaktin zaslužan za sintezu laktoze u mliječnim žlijezdama, a budući da se on postepeno prestaje lučiti, posljedično će se smanjivati i udio laktoze u mlijeku. U korelaciji s tim, razine intestinalne laktaze dojenčeta se smanjuju. Stoga, smatra se kako je jedan od razloga pada razine enzima laktaze u organizmu zapravo odvikavanje novorođenčeta od dojenja (Brüssow, 2013).

Dugo se istraživalo na koji način funkcionira laktaza i u drugoj polovici 20. stoljeća, otkriveno je kako je LPH genetski kontroliran (Swallow, 2003). Budući da je genom svake osobe jedinstven, geni koji kodiraju ovaj enzim također mogu rezultirati distribucijom različitih fenotipa laktaze. Osobe čija je laktaza postojana, odnosno osobe kojima aktivnost laktaze ostaje na visokoj razini tijekom života, mogu konzumirati velike količine mlijeka bez ikakvih zdravstvenih komplikacija. Suprotno tomu, pojedinci sa smanjenom aktivnošću laktaze (što se još naziva i hipolaktazija odraslih) imaju puno nižu sposobnost probave laktoze zbog čega često dolazi do pojave simptoma nepodnošenja laktoze nakon konzumacije mliječnih proizvoda

Njihov genotip naziva se CC genotip, dok ljudi sa normolaktazijom imaju TT genotip. Osim homozigota, postoje i heterozigoti genotipa C/T koji u najvećem broju slučajeva imaju postojanu laktazu, ali je njezina aktivnost niža u usporedbi sa TT genotipom. Iako je genetska slika laktaze podosta kompletna, mehanizmi koji stoje u pozadini programiranog pada ekspresije laktaze nisu do kraja razjašnjeni (Swallow, 2003).

Uz endogenu laktazu, postoji i tzv. bakterijska laktaza koja omogućava probavu laktoze. Kao što samo ime kaže, bakterije mliječne kiseline (iz roda *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*) u kolonu su te koje posjeduju aktivnost  $\beta$ -galaktozidaze te hidroliziraju laktozu do glukoze i galaktoze. Potom ti produkti fermentiraju u laktat, kratkolančane masne kiseline (engl. *short-chain fatty acids*, SCFAs,) i plinove od kojih se izdvajaju vodik, ugljikov dioksid i metan. Kada je laktaza u tankom crijevu visoke koncentracije, tj. kada razgrađuje laktozu efikasno, većina laktoze unesene hranom će se probaviti, a tek mali dio će otići do debelog crijeva. Ukoliko velike količine laktoze stignu do kolona, što je posljedica niske koncentracije crijevne laktaze, dolazi do pojačane fermentacije. Razliku također rade i fekalne bakterije koje u intolerantnih subjekata provode fermentaciju puno brže što dovodi do brzog nakupljanja njezinih produkata. Sve to za posljedicu ima povećanje osmotskog opterećenja lumena debelog crijeva i uzrok je različitih simptoma intolerancije na laktozu (Forsgård, 2019).

### **2.3. INTOLERANCIJA NA LAKTOZU**

Preosjetljivost na hranu smatra se skupom neželjenih reakcija koje se javljaju neposredno nakon unosa određenih namirnica. Postoji mogućnost da je ta reakcija imunološki posredovana pa se kao takva svrstava u skupinu alergije na hranu. Suprotno, odgovor organizma na unos neke hrane koji ne pokreće imunološki sustav, a uključuje metaboličke, toksične i farmakološke mehanizme, definira se kao intolerancija, nepodnošenje ili preosjetljivost (NIAID-Sponsored Expert Panel i sur., 2010).

Pojam intolerancija na laktozu upotrebljava se za razvoj gastrointestinalnih simptoma kao što su plinovi, nadutost, grčevi u trbuhu i bolovi u abdomenu koji mogu dovesti do proljeva, mučnine i povraćanja nakon konzumacije određene količine laktoze. Pojava simptoma obično nastupa u periodu od 30 minuta do 2 sata nakon konzumacije mliječnog obroka, a mogu biti blagi ili jaki ovisno o osjetljivosti osobe i unesenoj količini. Za razvoj dijareje ključan je osmotski učinak loše probavljene laktoze. Metaboliti koji nastaju procesom fermentacije mogu uzrokovati nepravilnosti vezane uz apsorpciju vode u debelom crijevu kao i peristaltiku pa su zbog toga česti simptomi poput mučnine i rijetkih stolica (He i sur., 2008).

Nerijetko se događa da se miješaju pojmovi malapsorpcije i intolerancije na laktozu, no oni nisu sinonimi. Ako osoba ne apsorbira laktozu efikasno, u velikom broju slučajeva se klinički simptomi neće ispoljiti jer ovise o više čimbenika (prehrani, brzini pražnjenja želudca, fermentacijskom kapacitetu crijevne mikroflore itd.) (Misselwitz i sur., 2013).

Uočavanje i klasifikacija simptoma najbolja je tijekom provođenja testova na toleranciju. Intenzitet spomenutih simptoma ovisi o nekoliko varijabli, a jedna od najvažnijih je zasigurno je doza koju osoba unese u organizam. Istraživanja provedena na osobama sa hipolaktazijom pokazuju da oni ipak mogu podnijeti količinu laktoze prisutne u otprilike jednoj šalici mlijeka uz manifestaciju minimalnih simptoma ili čak uopće ne dolazi do njihove pojave (Szilagyi i Ishayek, 2018). Na temelju toga, potpuno isključivanje proizvoda bogatih laktozom iz prehrane nije potrebno, dovoljno je smanjiti konzumiranu količinu kako bi se ublažili simptomi.

Poznato je kako neka dojenčad pokazuju intoleranciju na različite ugljikohidrate, a najčešća je upravo ona na laktozu. Određena fiziološka stanja čovjeka poput razvoja bolesti (dijabetesa, poremećaja vezanih uz štitnjaču i kardiovaskularnih bolesti) te trudnoća mogu promijeniti brzinu pražnjenja želuca i crijevnog transporta zbog čega će se nedvojbeno promijeniti brzina fermentacije neapsorbirane laktoze i sama pojava simptoma (Szilagyi i Ishayek, 2018).

### 2.3.1. Vrste intolerancija na laktozu

S obzirom na čimbenike koji uzrokuju nedostatak laktaze u gastrointestinalnom sustavu, razlikuju se tri tipa intolerancije (Di Costanzo i Berni Canani, 2018):

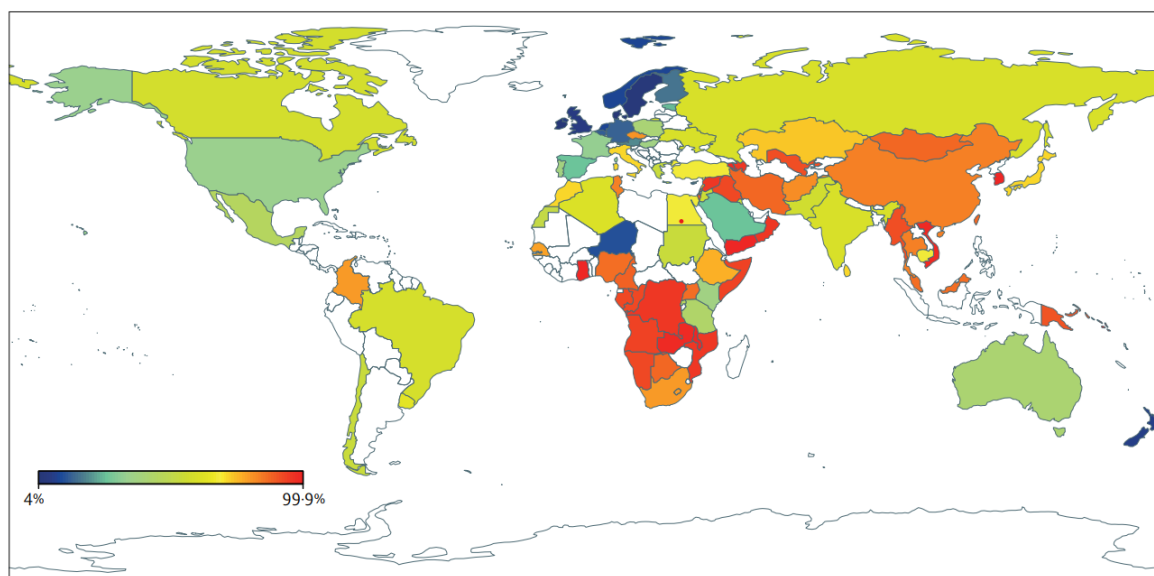
- kongenitalna deficijencija laktaze (autosomno recesivna bolest koja se rijetko pojavljuje a definirana je nedostatkom enzima ili njegovom smanjenom aktivnosti u pojedinca od samog rođenja),
- primarna laktoza intolerancija (najčešći oblik kojeg karakterizira postupna promjena u ekspresiji gena za enzim laktazu zbog čega se javlja njegov manjak koji zahtjeva prehranbenu intervenciju u vidu ograničavanja unosa laktoze) i
- sekundarna laktoza intolerancija (privremena pojava simptoma intolerancije zbog oštećenja stijenke tankog crijeva uzrokovane infekcijom, celijakijom, Crohnovom bolesti, kemoterapijom itd.).

### 2.3.2. Laktoza intolerancija u svijetu

Globalno je intolerancija upravo na laktozu najpoznatija jer od nje pati čak 70-ak posto svjetskog odraslog stanovništva (Di Costanzo i Berni Canani, 2018). Učestalost ove pojave ovisi o tome gdje se nalaze i kojoj etničkoj skupini ljudi pripadaju. Poznato je kako u Africi i Južnoj Americi više od 50 % stanovnika ima smanjenu aktivnost laktaze u gastrointestinalnom sustavu, dok na području Azije gotovo sveukupno stanovništvo ima ovakav problem. Države poput

Kanade i Australije nisu homogene, tj. imaju oscilacije u malapsorpciji laktoze između pokrajina unutar svojih granica što je posljedica velikog broja imigracija iz različitih dijelova svijeta.

Stopa laktoza intolerancije na sjeveru Europe je izrazito mala (slika 2), a postotak hipolaktazije u Skandinavskim zemljama manji je od 5 %. Objašnjenje ovog fenomena može se naći u dalekoj prošlosti kada su nomadska plemena pripitomljavala goveda i na taj način učinili mliječne proizvode ključnom komponentom svoje prehrane. Tako je tekao evolucijski razvoj perzistentnosti laktaze u ljudi s tog područja i oni danas rijetko razvijaju intoleranciju (Storhaug i sur., 2017). Spomenuto je kako je djelovanje laktaze genetski kontrolirano pa tako postoji i genetska teorija koja objašnjava zašto je raspodjela intolerancije u svijetu baš ovakva. Europljani u svom genomu nose varijantu gena za laktazu koja se razlikuje od one u Azijata što im omogućuje veću postojanost laktaze kroz njihov životni vijek. Tome u prilog ide podatak da djeca s područja Azije simptome intolerancije razvijaju u dobi od 2-3 godine starosti, dok Europljani prve simptome dobivaju u prosjeku sa 6 godina ili kasnije u adolescenciji (Di Costanzo i Berni Canani, 2018).



**Slika 2.** Prikaz prevalencije intolerancije na laktozu u svijetu (Storhaug i sur., 2017)

## 2.4. APSORPCIJA LAKTOZE

Do sada je otkriveno nekoliko metoda za procjenu sposobnosti pojedinca da apsorbira unesenu laktozu. Sa kliničkog stajališta, ove metode važne su jer se mogu koristiti za otkrivanje ili isključivanje intolerancije na laktozu prilikom dijagnosticiranja određenih poremećaja vezanih uz gastrointestinalni sustav.

### 2.4.1. Mjerenje aktivnosti crijevne laktaze

Aktivnost intestinalne laktaze može se mjeriti izravno iz biopsije crijeva ili neizravno unošenjem određene količine laktoze kako bi se vidjela reakcija organizma. Usprkos tomu što je biopsija crijeva zlatni standard za mjerenje aktivnosti laktaze, ona se rijetko izvodi zbog toga što je invazivna pa se prilikom procjene prednost daje neizravnim metodama koje su puno praktičnije i prihvatljivije ljudima.

Dvije najčešće korištene neizravne metode jesu test tolerancije na laktozu (LTT) i H<sub>2</sub>-izdisajni test (Forsgård, 2019).

Test tolerancije na laktozu provodi se opterećenjem od 20-50 g laktoze otopljene u vodi nakon čega se pacijentu mjeri koncentracija glukoze u krvi. Ovim testom se procjenjuje sposobnost crijevne laktaze da hidrolizira laktozu do glukoze i galaktoze. Konačno, ukoliko se koncentracija glukoze u krvi ne uspije povećati za 20 mg/dL u odnosu na početnu vrijednost, zaključuje se da osoba ima nedostatak laktaze. Mana ovakvog mjerenja je mogućnost krive interpretacije u slučaju osoba oboljelih od dijabetesa ili onih sa intolerancijom na glukozu zbog velikih fluktuacija glukoze u krvi nakon obroka (Misselwitz i sur., 2013).

Za razliku od testa tolerancije, izdisajni test intolerancije na laktozu temeljen je na uvidu u koncentraciju izdahnutog vodika i/ili metana. Pacijenta se optereti oralnom otopinom koja sadrži otprilike 25g laktoze u 200 ml vode te se potom u 0., 15., 30., 60., 90. i 120. minuti mjeri koncentracija H<sub>2</sub> u izdahnutom zraku. Ako ta koncentracija poraste za 20 i više ppm iznad vrijednosti početnog mjerenja, smatra se da je proces fermentacije ubrzan zbog dolaska neapsorbirane laktoze u debelo crijevo, tj. točnije, aktivnost laktaze je nedostatna. Može se dogoditi da ovaj test daje lažno pozitivan rezultat kao posljedica interferencije sa bakterijama koje uzrokuju kolonizaciju tankog crijeva, odnosno sindrom bakterijskog prerastanja poznatiji pod nazivom SIBO (engl. *Small Intestine Bacterial Overgrowth*) (Misselwitz i sur., 2013).

Osim opisanih testova, u kliničkoj praksi su dostupni i genetski testovi koji detektiraju genski



polimorfizam, nasljednu promjenu u genetičkom kodu pojedinca. Znajući da različite etničke skupine diljem svijeta imaju različite varijante gena (alela) za laktozu, nisu svi genetički testovi prikladni za sve ljude (Forsgård, 2019).

## 2.5. LIJEČENJE INTOLERANCIJE

Kroz povijest su korištene različite metode za sprječavanje simptoma intolerancije na laktozu, a jedan od načina bio je potpuno izbacivanje laktoze, odnosno mliječnih proizvoda iz prehrane. Danas se zna kako i većina intolerantnih osoba može probaviti određenu količinu laktoze (otprilike 12 do 15 g) unesene kroz dan. Međutim, kao i u svemu, postoje iznimke pa tako i slučajevi u kojima pojedinci ne mogu podnijeti spomenute količine već puno manje ili gotovo ništa što jasno daje do znanja da je individualni pristup u liječenju neophodan (Szilagy i Ishayek, 2018).

Važnu ulogu u svemu igra i ravnoteža između proizvodnje i ekskrecije osmotski aktivnih komponenti nastalih u debelom crijevu čovjeka. Kako bi se ta homeostaza zadržala što dulje, a samim time i ublažili simptomi intolerancije, bitno je stimulirati metaboličku aktivnost mikrobiote. Najlakši način za postizanje tog cilja je uvođenje suplementacije na bazi probiotika, sinbiotika i prebiotika (He i sur., 2008).

Probiotici su biopreparati sa kulturama živih mikroorganizama koji potiču rad probavnog i imunološkog sustava na način da stabiliziraju mikrobne zajednice koje žive u crijevima čovjeka.

Sojevi bakterija koji se najčešće koriste kao probiotici jesu rodovi *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* (He i sur., 2008). Nekoliko provedenih istraživanja pokazala su kako probiotici mogu poboljšati probavu laktoze i smanjiti simptome no mehanizmi po kojim se to odvija nisu do kraja poznati. Pretpostavlja se kako vjerojatno utječu na promjenu crijevne funkcije, mikrobiote debelog crijeva i pH vrijednosti crijeva, no potrebna su daljnja istraživanja kako bi se to potvrdilo (Rolfe, 2000).

Smatra se kako laktoza može biti i potencijalni prebiotik koji se definira kao neprobavljeni dio hrane s pozitivnim učinkom na crijevnu bakterijsku zajednicu. Dnevna konzumacija laktoze ili laktuloze može potaknuti adaptaciju debelog crijeva na unesene količine, a samim time i smanjenje simptoma. Povećava se sposobnost bakterija debelog crijeva da fermentiraju dospjelu laktozu, a proizvodnja vodika se smanjuje (Szilagy, 2002).

Osim što se nalazi u mliječnim proizvodima, laktoza se može pronaći i u pekarskim proizvodima, u smrznutim ili konzerviranim namirnicama gdje se skriva u obliku aditiva, u

instant proizvodima poput juhe i proizvodima od žitarica te u farmaceutskim pripravcima (lijekovi, dodaci prehrani). Budući da su u tim proizvodima količine laktoze jako male, njihova umjerena konzumacija ne bi trebala predstavljati problem osobama s intolerancijom. No, ukoliko se nakon konzumacije nekih od navedenih proizvoda pojave jaki simptomi, osobi se preporučuje da ga svakako izbjegava. Kliničko liječenje ova intolerancija ne zahtijeva jer je već i samo smanjenje unosa laktoze jedno od rješenja, a današnje tržište se pobrinulo za to da rješenja ima gotovo bezbroj. Različiti mliječni proizvodi bez laktoze dobar su odabir, a k tome su i široko dostupni svima. Najveći problem kojeg navodi Američki nacionalni institut za zdravlje (engl. *American National Institute of Health, NIH*) jest što, zbog izbjegavanja skupine mliječnih proizvoda u cijelosti, osobe s intolerancijom često imaju nedostatak esencijalnog kalcija i vitamina D (NIAID-Sponsored Expert Panel i sur., 2010).

Kao posljedica tog nedovoljnog unosa, u odraslih, ali i u djece se može utvrditi smanjena gustoća kostiju zbog čega postaju lako lomljive, a nije rijetka niti osteoporoza u kasnijoj životnoj dobi čovjeka (Cifelli i sur., 2023). Ovakvi ishodi samo su jedan od upozorenja da smanjeni ili ništavan unos mliječnih proizvoda može izazvati velike poteškoće te je u takvim slučajevima poželjno uvesti suplementaciju vitaminom D i kalcijem. Intolerantnim osobama se savjetuje konzumacija mliječnih proizvoda uz obroke bogate mastima kako bi se ublažili simptomi jer se na taj način usporava pražnjenja želudca te je smanjeno i vrijeme zadržavanja laktoze u tankom crijevu. Za razliku od masnih obroka, namirnice poput ljutih papričica ili kave mogu pospješiti tranzit laktoze u završni dio tankog crijeva gdje se ona zadržava i prouzrokuje jače simptome preosjetljivosti (Szilagyi i Ishayek, 2018). Također, preporučuje se konzumacija fermentiranih proizvoda jer je u njima koncentracija laktoze puno manja u usporedbi sa npr. mlijekom ili sladoledom. Starter kulture koje se koriste za proizvodnju fermentiranih proizvoda sadrže bakterije mliječne kiseline koje hidroliziraju laktozu i tako smanjuju njenu količinu u konačnom proizvodu.

## 2.6. CRIJEVNA MIKROBIOTA

Ljudski probavni sustav krije jedan čitavi svijet mikroba čija brojnost seže i do deset trilijuna. Mikrobiom svakog čovjeka je jedinstven poput otiska prsta i diktira različite funkcije u tijelu kao što su metaboličke, zaštitne i strukturne funkcije (Adak i Khan, 2019). Ti mikroorganizmi iznimno su važni u održavanju cjelokupnog zdravlja pa je stoga potrebno pobrinuti se da raznolikost i brojnost bakterija u crijevu bude što veća.

Domaćin i crijevni mikrobi u komenzalnom su odnosu što znači da jedan partner od tog odnosa dobiva različite koristi, a pritom se drugome ne nanosi nikakva šteta. Okružje puno hranjivih tvari kao što su crijeva čovjeka, pogodovat će rastu različitih virusa, parazita i bakterija. Od sedam različitih rodova bakterija (*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia* i *Cyanobacteria*), više od 90 % populacije čine pripadnici rodova *Bacteroidetes* i *Firmicutes* (Adak i Khan, 2019).

### 2.6.1. Mikrobne populacije tankog crijeva

Tanko crijevo se sastoji od tri dijela: duodenuma ili dvanaesnika, jejunuma i ileuma. S obzirom da se u njemu odvija probava i apsorpcija hrane, obiluje žučnim kiselinama, sokovima iz gušterače i kisikom što smanjuje i gustoću i raznolikost bakterijskog svijeta.

Svaki dio je specifičan gledajući rodove bakterija koji prevladavaju. U duodenemu su dominantne vrste *Firmicutes* i *Actinobacteria* dok je u jejunumu potaknut rast gram-pozitivnih aeroba i fakultativnih anaeroba (*Lactobacilli*, *Enterococci* i *Streptococci*). Na putu od jejunuma pa do distalnog dijela ileuma većinom se mogu naći aerobne vrste, a kraj ileuma nastanjuju anaerobi i gram-negativne bakterije koje se nalaze i u debelom crijevu (Adak i Khan, 2019).

### 2.6.2. Debelo crijevo

Na tanko se nastavlja debelo crijevo koje se sastoji od uzlaznog, poprečnog i silaznog kolona. U anaerobnom okruženju kolona, fermentiraju neprobavljene sastavnice hrane te se također apsorbira i voda. Bakterijski rodovi koji se ističu jesu *Firmicutes* i *Bacteroides*. Omjer koncentracija ovih mikrobnih vrsta je promjenjiv u različitim životnim fazama, a smatra se i markerom za predviđanje određenih bolesti. Kao vrlo malo zastupljeni (svega 0,1 %) u debelom crijevu nalaze se i patogeni mikroorganizmi poput *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enterica*,

*Vibrio cholera* i *Escherichia coli* (Adak i Khan, 2019).

Unutar debelog crijeva, ljudska mikrobiota uglavnom je raspoređena u dva mikrostaništa, u lumenu i u sluzi. Istraživanjem prisutnih bakterijskih vrsta otkriveno je kako se populacija lumena razlikuje od populacije bakterija prisutnih u sluzi (Muñoz-Tamayo i sur., 2010).

Ekosustav debelog crijeva naseljava i mirkoorganizam iz carstva *Archaea* a naziva se *Methanobrevibacter smithii* (Muñoz-Tamayo i sur., 2010). Specifičnost ove vrste krije se u sposobnosti razgradnje neprobavljenih polisaharida koji su dospjeli u debelo crijevo čime doprinosi zdravlju crijeva. Razgradnja se odvija putem fermentacije kojom se iz namirnica oslobađaju zaostali vitamini, a također doprinosi sa maksimalno 10% dnevnih energetske potreba (Muñoz-Tamayo i sur., 2010).

### 2.6.3. Uloga sluzi (mukusa) u debelom crijevu

Tkivo koje oblaže unutrašnjost crijeva naziva se epitel i specifičan je po lučenju tankog sloja sluzi čija je uloga iznimno važna. Sluz je sačinjena od mucina koji su po kemijskoj strukturi glikoproteini velike molekulske mase. Prije svega, matrica je za rast mikroorganizama kojima osigurava pričvršćivanje i otpornost na trenja koja se pojavljuju u crijevima. U slučaju nedovoljnog unosa hrane u organizam, crijevna mikroflora opstaje zahvaljujući upravo mukusu koji tada služi kao izvor ugljika za razvoj bakterija. Osim što se proizvodi, sluz se i razgrađuje pomoću bakterija koje imaju sposobnost metabolizma mucina (Derrien i sur., 2004).

Još jedna bitna uloga sluzi je da jamči uvjete pod kojima dolazi do agregacije mikroba, neophodne pojave za postizanje što učinkovitije razgradnje vlakana i povećanje brojnosti mikrobnih jedinki. Kada se govori o mikrobioti nastanjenj u sluzi, ne može se izostaviti niti ona koja naseljava lumen. Iako različite, postoji nešto što ih povezuje, a to je spoznaja da mikroorganizmi iz sluzi zapravo obogaćuju luminalnu mikrobnu zajednicu klizeći iz sluzi u lumen (Muñoz-Tamayo i sur., 2010).

## 2.7. FUNKCIJSKI MODELI PROBAVE

Ljudski organizam je vrlo složen sustav u kojem svaki pojedinačni dio surađuje u cilju održavanja zdravlja. Dio koji je daleko kompleksan, a isto tako i nedovoljno istražen je sigurno mikrobiom debelog crijeva. Kompleksnost se krije u raznolikosti same crijevne flore koja je drugačija ne samo kod svakog ponaosob, nego je i svaki dio probavnog trakta osobe povoljan supstrat različitim vrstama bakterijama.

### 2.7.1. *In vitro* i *in vivo* modeli probave

Istraživanja koja se provode na ljudima, a za cilj imaju saznati što više o svijetu probave, imaju ograničene mogućnosti zbog spomenute kompleksnosti probavnog sustava, ali i zbog etičkih razloga. Uzimajući to u obzir, tražio se način kako, bez ugrožavanja ljudi, doći do optimalnog rješenja. Tako su istraživači došli do *in vitro* modela koji bi, uz pomoć niza reaktora stvorio moguću shemu i simulirao ponašanje ljudskog probavnog sustava. Takav model povoljan je kada je u pitanju proces fermentacije ugljikohidrata, ali ne uzima u obzir čimbenike složenog ljudskog sustava kao što su npr. odnos sa domaćinom, interakcija lumena i mukoznog epitela crijeva i apsorpcija kratkolančanih masnih kiselina kao produkata fermentacije. Osim ovih, u sagledavanju ukupne slike učinka nekog procesa na organizam, bitna su i *in vivo* istraživanja koja su u najviše slučajeva vršena na životinjama (Fleming i sur., 1991).

Bilo da se radi o *in vitro* ili *in vivo* modelima, preslikavanje rezultata na ljudsko tijelo treba raditi s velikim oprezom ne vjerujući slijepo niti jednom dobivenom rješenju jer se svaki model u nekoj mjeri razlikuje od stvarnosti. Probava, gastrointestinalni trakt kao ni mikrobiota životinja nisu identični kao u ljudi, a samim time se ne mogu, na temelju životinjskih modela, donositi zaključci za organizam čovjeka. Isto to vrijedi i za ostale modele koji mogu aproksimirati svega 20-40 % ljudskog mikrobioma što nije dovoljno za bezrezervno vjerovanje rezultatima takvih istraživanja (Suau i sur., 1999).

### 2.7.2. Matematički modeli probave

Model koji se oslanja na *in vivo* i *in vitro* studije, a pritom ih i nadopunjuje novim saznanjima, jest matematički model. Njime je omogućen prikaz dinamike fluida bez utemeljenja na laboratorijskim eksperimentima koji nerijetko sa sobom povlače i niz grešaka. Osim toga, vrijeme potrebno za dobivanje rezultata je uporabom ovakvog modela smanjeno u odnosu na

ostala istraživanja koja uključuju eksperimente dugog trajanja.

Matematički pristup proučavanju ljudske probave u cijelosti, s naglaskom na mikrobiotu i njezin učinak u debelom crijevu, nije se primjenjivao nego je svrhu pronalazio u modeliranju pojedinih dijelova sustava. Tako su npr. Duncan i sur. (2004) modeliranjem procijenili kakav je doprinos acetata u formiranju butirata od strane fekalnih bakterija. Objavljen je i matematički model koji opisuje prostorni raspored bakterija u crijevima s obzirom na to jesu li one aerobne ili anaerobne (Wilkinson, 2002).

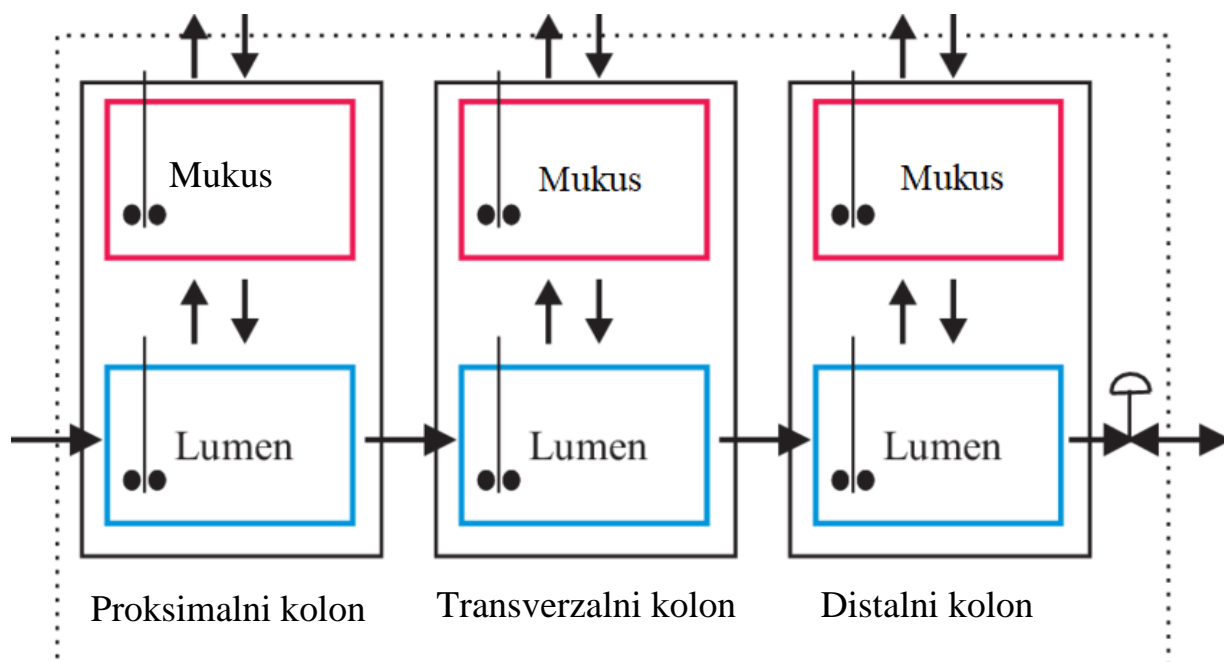
U usporedbi sa istraživanjima koja počivaju na laboratorijskim pokusima, ovi modeli dali su slične podatke i njihovim povezivanjem moguće je dobiti cjelovit matematički model fermentacije ugljikohidrata.

## **2.8. MATEMATIČKI MODEL RAZGRADNJE UGLJIKOHIDRATA**

Ovaj model predstavljen je kao jedan bioreaktor koji objedinjuje hidraulički pristup, opis procesa prijenosa tvari i mehanizme reakcija koje se odvijaju tijekom probave ugljikohidrata (Muñoz-Tamayo i sur., 2010).

### **2.8.1. Hidraulički prikaz debeloga crijeva**

Hidraulički prikaz (slika 3) objedinjuje sva tri dijela debelog crijeva: uzlazni, silazni i poprečni dio. U svakom od njih razlikuju se mikroflora lumena i sluzi.



**Slika 3.** Hidraulički prikaz debelog crijeva u ljudi (prema Muñoz-Tamayo i sur., 2010)

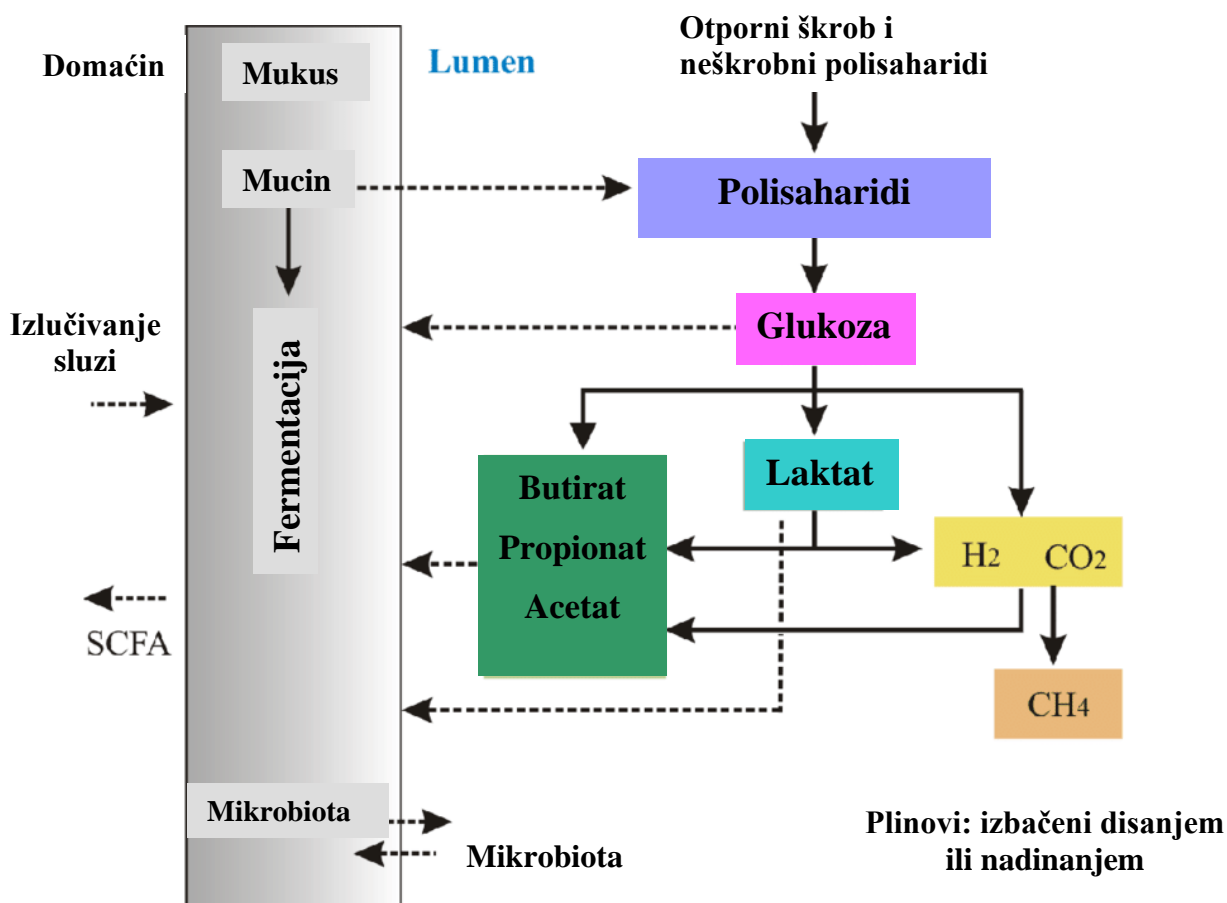
Reaktori lumena međusobno su serijski povezani i njih se hidraulički najbolje može opisati pomoću protočnih reaktora cilindrične geometrije. Budući da ljudsko debelo crijevo ima oblik cilindra, a himus (djelomično prerađena hrana koja stiže u crijevo) postaje sve viskoziji jer dolazi do apsorpcije vode pa je njegovo kretanje otežano, ovaj model protočnog reaktora pokazao se idealnim za aproksimaciju zbivanja u crijevima. Protok hrane i tekućine u crijevu može biti poguban za mikroorganizme koji, zbog nedovoljno jake pričvršćenosti, lako mogu biti odneseni silinom protoka. Kako bi se oduprli tim hidrodinamičkim silama i ostali u svom mediju, mikrobi se agregiraju. Stvorene nakupine, osim mikroba, sadrže i epitelne stanice, njihovu sluz te čestice hrane (Sonnenburg i sur., 2004).

### 2.8.2. Transport tvari u debelom crijevu

Najvažniji transportni fenomen u debelom crijevu čovjeka jest apsorpcija tvari i vode jer se upravo time održava homeostaza organizma. U matematički model uvršteni su procesi difuzije jednostavnih šećera između mukusa i lumena, apsorpcija laktata i vode, kretanje tekućine i nastalih plinskih komponenti te spomenuta pojava gubitka dijela mikroba zbog brzine protoka (Minekus i sur., 1999).

### 2.8.3. Razgradnja ugljikohidrata u debelom crijevu

Dugo godine se već zna da su mikroorganizmi probavnog sustava zaslužni su za razgradnju čestica hrane koje dopijaju u crijeva. Slike 3 i 4 tvore srž ovog matematičkog modela.



**Slika 4.** Shematski prikaz fermentacije ugljikohidrata i transporta produkata tog procesa (prema Muñoz-Tamayo i sur., 2010)

Prilikom modeliranja sustava, u obzir se uzima to da za svaki supstrat postoji skupina bakterija koja provodi njegovu pretvorbu u produkte. Složeni proces razgradnje uspješno se provodi ukoliko je komunikacija među mikrobnim zajednicama sigurna i ispravna. To znači da je mogućnost nesporazuma svedena na minimalnu razinu što se postiže opetovanim slanjem signala (Egert i sur., 2006).

Proučavanjem povijesnog razvoja ljudskog organizma, izveden je zaključak kako svi ljudi imaju istu građu jezgre mikroba koji nastanjuju donji dio probavnog trakta (Tap i sur., 2009). Provođenjem daljnjih studija, potvrđeno je da postoji uniformni centralni mikrobiom crijeva u



zdravih osoba koji je zaslužan za provođenje metaboličkih procesa unatoč činjenici da je raznolikost bakterija individualna komponenta (Turnbaugh i sur., 2009).

Ova saznanja bitna su za potvrdu izvedivosti i efikasnosti matematičkog modela koji bi dao relevantne rezultate za opću populaciju.

## 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. MATERIJALI

#### 3.1.1. WR Mathematica

Za izradu ovog modela koristio se softverski sustav Mathematica 10.0 (Wolfram Reserch, Inc., Champaign, SAD). Osmišljen je od strane britanskog znanstvenika Stephena Wolframa, a obuhvaća više od 6000 različitih funkcija i simbola napisanih na Wolfram programskom jeziku. Program temeljen na tehničkom računarstvu omogućuje manipulaciju podacima, statističke izračune, kreiranje algoritama, grafičke prikaze funkcija i mnoge druge matematičke radnje. Funkcionira na principu unošenja podataka u radno sučelje te se potom uz pomoć jezgre sustava računski obrađuju. Prva verzija programa izdana je 1988. godine (Wolfram, 2003).

Osim što omogućuje pristup velikom broju podataka i funkcija, sustav je i rastuća zbirka alata koji se koriste u strojnom učenju (Wolfram, 2023a). Na gotovo svim postojećim operativnim sustavima omogućen je protokol naziva *Wolfram Symbolic Transfer Protocol* (WSTP) koji osigurava prijenos i prevođenje podataka sa Wolfram programskog jezika na jezik razumljiv nekom drugom sustavu ili aplikaciji (Wolfram, 2023b).

Korisna funkcija Mathematica-e je i mogućnost dohvaćanja podataka iz različitih baza te ažuriranje tih podataka u skladu sa promjenama na primarnom izvoru s kojeg su preuzeti. Podržava više od 200 različitih formata podataka uključujući i slike, audio i video zapise, animacije, tablice itd. (Wolfram, 2003).

#### 3.1.2. Matematički model razgradnje ugljikohidrata pod utjecajem mikrobiote debeloga crijeva

Matematički model razgradnje ugljikohidrata pod utjecajem mikrobiote debeloga crijeva (Muñoz-Tamayo i sur., 2010) sastoji se od šest segmenata. Za svaki od tri dijela debelog crijeva (proksimalni, transverzalni i distalni dio), razlikuju se reakcije koje se odvijaju u lumenu i u mukusu, odnosno sluzi. Volumeni odjeljaka crijeva dani su u tablici 1.

**Tablica 1.** Dimenzije ljudskog debelog crijeva

Segmenti	Duljina (cm)	Volumen mikrostaništa lumena (l)	Volumen mikrostaništa mukusa (l)
Proksimalni dio	21	0,41	0,017
Transverzalni dio	50	0,98	0,042
Distalni dio	83	1,63	0,070
<b>Ukupno</b>	154	3,02	0,129

Vektor stanja u svakom od odjeljaka definira se sljedećom formulom:

$$\zeta = (\mathbf{s}^T, \mathbf{z}, \mathbf{x}^T, \mathbf{s}_g^T)^T. \quad [1]$$

Oznaka  $\mathbf{s}$  predstavlja vektor koncentracije topivih komponenti (glukoze, laktata, vodika, acetata, propionata, butirata, metana, ugljikovog dioksida i vode), a definira se kao:

$\mathbf{s} = (s_{su}, s_{la}, s_{H_2}, s_{ac}, s_{pro}, s_{bu}, s_{CH_4}, s_{CO_2}, s_{H_2O})^T$ . Kompleksni polisaharidi koji se unose hranom označeni su sa  $\mathbf{z}$ , a  $\mathbf{x}$  predstavlja vektor koncentracije mikrobnih populacija koje za svoje funkcioniranje koriste glukozu, laktat, vodik proizveden acetogenezom ili vodik nastao metanogenezom ( $\mathbf{x} = (x_{su}, x_{la}, x_{H_2a}, x_{H_2m})^T$ ).

Na kraju ostaje vektor koncentracije komponenti u plinovitoj fazi,  $\mathbf{s}_g = (s_{g,H_2}, s_{g,CH_4}, s_{g,CO_2})^T$ .

Budući da se na tanko nastavlja proksimalni dio debelog crijeva, s njim započinje matematički opis mikrobne razgradnje.

### Proksimalni i transverzalni dio debelog crijeva

Ove dvije regije debelog crijeva mogu se gledati kao cjelina s obzirom na to da imaju gotovo istu strukturu pa samim time reakcije koje se odvijaju u jednom, vrijede i za drugi dio. Bitno je razlikovati komponente lumen od komponenti u mukozii, a u tome važnu ulogu igraju oznake pojedinih članova. Tako razlikujemo volumen tekuće i plinske faze lumena označene sa  $V_l$  i  $V_g$ , dok su oznake  $v_m$  i  $v_g$  pridružene volumenu gel faze, odnosno plinovite faze mukusa.

#### (1) Tekućinska faza lumena

Za topive komponente u lumenu vrijedi:

$$\frac{ds_i}{dt} = \frac{q_{ulaz}}{V_l} s_{i,ulaz}^l - \frac{q_{izlaz}}{V_l} s_i^l - \gamma_i^l s_i^l + \sum_{j=1}^5 Y_{i,j}^l \rho_j(\xi^l) - Q_i^l; \quad [2]$$

$i = su$  (glukoza),  $la$  (laktat),  $H_2$  (vodik),  $ac$  (acetat),  $pro$  (propionat),  $bu$  (butirat),  $CH_4$  (metan),  $CO_2$  (ugljikov dioksid) i  $H_2O$  (voda).

U izraz su uvrštena dva protoka tekuće faze, ulazni ( $q_{ulaz}$ ) i izlazni protok ( $q_{izlaz}$ ).  $\gamma$  je koeficijent transporta, a  $Y_{i,j}$  stehiometrijski koeficijent definiran za svaku komponentu sustava. Oznaka  $\rho_j(\xi^l)$  predstavlja vektor brzine reakcije, a  $Q_i^l$  jest brzina prijenosa na granici tekuće i plinske faze. Stehiometrija i brzine iskorištavanja pojedinog supstrata opisani su u tablici 2.

**Tablica 2.** Matrica biokemijskih reakcija

Komponenta	Kinetički izraz
S <sub>su</sub>	$Y_{su,z} k_{hyd,z} \frac{z x_{su}}{K_{x,z} x_{su} + z} - k_{m,su} \frac{s_{su} x_{su}}{K_{s,su} + s_{su}}$
S <sub>la</sub>	$Y_{la,su} k_{m,su} \frac{s_{su} x_{su}}{K_{s,su} + s_{su}} - k_{m,la} \frac{s_{la} x_{la}}{K_{s,la} + s_{la}}$
S <sub>H2</sub>	$Y_{H2,su} k_{m,su} \frac{s_{su} x_{su}}{K_{s,su} + s_{su}} + Y_{H2,la} k_{m,la} \frac{s_{la} x_{la}}{K_{s,la} + s_{la}} - k_{m,H2a} \frac{S_{H2a} x_{H2a}}{K_{s,H2a} + S_{H2a}} -$ $k_{m,H2m} \frac{S_{H2m} x_{H2m}}{K_{s,H2m} + S_{H2m}} I_p H$
S <sub>ac</sub>	$Y_{ac,su} k_{m,su} \frac{s_{su} x_{su}}{K_{s,su} + s_{su}} + Y_{ac,la} k_{m,la} \frac{s_{la} x_{la}}{K_{s,la} + s_{la}} + Y_{ac,H2a} k_{m,H2a} \frac{S_{H2a} x_{H2a}}{K_{s,H2a} + S_{H2a}}$
S <sub>pro</sub>	$Y_{pro,su} k_{m,su} \frac{s_{su} x_{su}}{K_{s,su} + s_{su}} + Y_{pro,la} k_{m,la} \frac{s_{la} x_{la}}{K_{s,la} + s_{la}}$
S <sub>bu</sub>	$Y_{bu,su} k_{m,su} \frac{s_{su} x_{su}}{K_{s,su} + s_{su}} + Y_{bu,la} k_{m,la} \frac{s_{la} x_{la}}{K_{s,la} + s_{la}}$
S <sub>CH4</sub>	$Y_{CH4,H2m} k_{m,H2m} \frac{S_{H2m} x_{H2m}}{K_{s,H2m} + S_{H2m}} I_p H$
S <sub>CO2</sub>	$Y_{CO2,su} k_{m,su} \frac{s_{su} x_{su}}{K_{s,su} + s_{su}} + Y_{CO2,la} k_{m,la} \frac{s_{la} x_{la}}{K_{s,la} + s_{la}} + Y_{CO2,H2a} k_{m,H2a} \frac{S_{H2a} x_{H2a}}{K_{s,H2a} + S_{H2a}} +$ $Y_{CO2,H2m} k_{m,H2m} \frac{S_{H2m} x_{H2m}}{K_{s,H2m} + S_{H2m}} I_p H$
S <sub>H2O</sub>	$Y_{H2O,su} k_{m,su} \frac{s_{su} x_{su}}{K_{s,su} + s_{su}} + Y_{H2O,la} k_{m,la} \frac{s_{la} x_{la}}{K_{s,la} + s_{la}} + Y_{H2O,H2a} k_{m,H2a} \frac{S_{H2a} x_{H2a}}{K_{s,H2a} + S_{H2a}} +$ $Y_{H2O,H2m} k_{m,H2m} \frac{S_{H2m} x_{H2m}}{K_{s,H2m} + S_{H2m}} I_p H$
Z	$-k_{hyd,z} \frac{z x_{su}}{K_{x,z} x_{su} + z}$
X <sub>su</sub>	$Y_{su} k_{m,su} \frac{s_{su} x_{su}}{K_{s,su} + s_{su}} - k_d x_{su}$
X <sub>la</sub>	$Y_{la} k_{m,la} \frac{s_{la} x_{la}}{K_{s,la} + s_{la}} - k_d x_{la}$
X <sub>H2a</sub>	$Y_{H2a} k_{m,H2a} \frac{S_{H2a} x_{H2a}}{K_{s,H2a} + S_{H2a}} - k_d x_{H2a}$
X <sub>H2m</sub>	$Y_{H2m} k_{m,H2m} \frac{S_{H2m} x_{H2m}}{K_{s,H2m} + S_{H2m}} I_p H - k_d x_{H2m}$

Popis kinetičkih parametra dan je u tablici 3.

**Tablica 3.** Kinetički parametri

	Parametar	Vrijednost		Parametar	Vrijednost
1.	$k_{hyd,z}$	$1,20 \cdot 10^3$ 1/d	20.	$Y_{pro,la}$	$0,267$ mol <sub>spro</sub> /mol <sub>s<sub>la</sub></sub>
2.	$K_{x,z}$	29,99 mol/L	21.	$Y_{bu,su}$	$0,270$ mol <sub>s<sub>bu</sub></sub> /mol <sub>s<sub>su</sub></sub>
3.	$k_{m,su}$	7,92 1/d	22.	$Y_{bu,la}$	$0,200$ mol <sub>s<sub>bu</sub></sub> /mol <sub>s<sub>la</sub></sub>
4.	$K_{s,su}$	0,0026 mol/L	23.	$Y_{CH_4,H_2m}$	$0,095$ mol <sub>s<sub>CH4</sub></sub> /mol <sub>s<sub>H2m</sub></sub>
5.	$k_{m,la}$	103 1/d	24.	$Y_{CO_2,su}$	$1,100$ mol <sub>s<sub>CO2</sub></sub> /mol <sub>s<sub>su</sub></sub>
6.	$K_{s,la}$	$6,626 \cdot 10^{-3}$ mol/L	25.	$Y_{CO_2,la}$	$0,533$ mol <sub>s<sub>CO2</sub></sub> /mol <sub>s<sub>la</sub></sub>
7.	$k_{m,H_2a}$	108,837 1/d	26.	$Y_{CO_2,H_2a}$	$-0,5$ mol <sub>s<sub>CO2</sub></sub> /mol <sub>s<sub>H2a</sub></sub>
8.	$K_{s,H_2a}$	0,0017 mol/L	27.	$Y_{CO_2,H_2m}$	$-0,450$ mol <sub>s<sub>CO2</sub></sub> /mol <sub>s<sub>H2m</sub></sub>
9.	$k_{m,H_2m}$	22,581 1/d	28.	$Y_{H_2O,su}$	$1,440$ mol <sub>s<sub>H2O</sub></sub> /mol <sub>s<sub>su</sub></sub>
10.	$K_{s,H_2m}$	$1,563 \cdot 10^{-6}$ mol/L	29.	$Y_{H_2O,la}$	$0,493$ mol <sub>s<sub>H2O</sub></sub> /mol <sub>s<sub>la</sub></sub>
11.	$k_d$	0,01 1/d	30.	$Y_{H_2O,H_2a}$	$0,629$ mol <sub>s<sub>H2O</sub></sub> /mol <sub>s<sub>H2a</sub></sub>
12.	$Y_{su,z}$	$0,005$ mol <sub>s<sub>su</sub></sub> /mol <sub>s<sub>z</sub></sub>	31.	$Y_{H_2O,H_2m}$	$0,686$ mol <sub>s<sub>H2O</sub></sub> /mol <sub>s<sub>H2m</sub></sub>
13.	$Y_{la,su}$	$0,499$ mol <sub>s<sub>la</sub></sub> /mol <sub>s<sub>su</sub></sub>	32.	$Y_{su}$	$0,120$ mol <sub>s<sub>su</sub></sub> /mol <sub>s<sub>su</sub></sub>
14.	$Y_{H_2,su}$	$1,440$ mol <sub>s<sub>H2</sub></sub> /mol <sub>s<sub>su</sub></sub>	33.	$Y_{la}$	$0,120$ mol <sub>s<sub>la</sub></sub> /mol <sub>s<sub>la</sub></sub>
15.	$Y_{H_2,la}$	$0,400$ mol <sub>s<sub>H2</sub></sub> /mol <sub>s<sub>la</sub></sub>	34.	$Y_{H_2a}$	$0,043$ mol <sub>s<sub>H2a</sub></sub> /mol <sub>s<sub>H2a</sub></sub>
16.	$Y_{ac,su}$	$0,567$ mol <sub>s<sub>ac</sub></sub> /mol <sub>s<sub>su</sub></sub>	35.	$Y_{H_2m}$	$0,062$ mol <sub>s<sub>H2m</sub></sub> /mol <sub>s<sub>H2m</sub></sub>
17.	$Y_{ac,la}$	$0,133$ mol <sub>s<sub>ac</sub></sub> /mol <sub>s<sub>la</sub></sub>	36.	$K_{H,H_2}$	$7,29 \cdot 10^{-4}$ mol/L
18.	$Y_{ac,H_2a}$	$0,143$ mol <sub>s<sub>ac</sub></sub> /mol <sub>s<sub>H2a</sub></sub>	37.	$K_{H,CO_2}$	0,0255 mol/L
19.	$Y_{pro,su}$	$0,240$ mol <sub>s<sub>pro</sub></sub> /mol <sub>s<sub>su</sub></sub>	38.	$K_{H,CH_4}$	0,0011 mol/L

Uneseni ugljikohidrati se prema sljedećoj formuli razlažu na jednostavne šećere:

$$\frac{dz^l}{dt} = \frac{q_{ulaz}}{V_l} z_{ulaz}^l + \frac{q_{izlaz}^m}{V_l} z^m - \frac{q_{izlaz}}{V_l} z^l - \rho_1(\xi^l), \quad [3]$$

a pritom  $q_{izlaz}^m$  označava brzinu protoka mucina u lumen crijeva.

Koncentracija mikrobnje populacije može se opisati izrazom:

$$\frac{dx_i^l}{dt} = \frac{q_{ulaz}}{V_l} x_{i,ulaz}^l - \frac{1}{\tau_i + \frac{q_{out}}{v_m}} x_i^l + b_i \frac{v_m}{V_l} x_i^m - a_i x_i^l + \sum_{j=2}^9 Y_{i,j}^l \rho_1(\xi^l); \quad [4]$$

$i =$  su (glukoza), la (laktat), H<sub>2</sub>a (koncentracija acetogenih bakterija), H<sub>2</sub>m (koncentracija metanogenih bakterija).

U izrazu se pojavljuju koeficijenti  $a_i$  i  $b_i$  koji predstavljaju fenomen pričvršćivanja i odnošenja mikrobnih kultura pod utjecajem protoka.  $v_m$  je volumen mukoze, a vrijeme potrebno za adaptaciju mikroorganizama na uvijete u crijevu označeno je sa  $\tau_i$ . Koncentracija polisaharida izražena je u g/l, a ostale koncentracije su izražene pomoću molarne mase tvari (M). Empirijska molekulska masa bakterijske populacije je konstanta vrijednost i iznosi 113 g/mol (Batstone i sur., 2002).

U modelu je bila potrebna korekcija izlaznog protoka tako da volumen lumena ( $V_l$ ) bude konstantan;

$$q_{izlaz} = q_{in} + \sum_{i=11}^{14} \frac{b_i x_i^m v_m w_i}{r_i} + q_{izlaz}^m - \sum_{i=2, i \neq 3, 7, 8}^9 \frac{\gamma_i^l s_i^l V_l w_i}{r_i} - \sum_{i=11}^{14} \frac{a_i x_i^l V_l w_i}{r_i}. \quad [5]$$

Koeficijent  $r_i$  predstavlja gustoću tekućine koja prolazi crijevom, a za potrebe ovog modela podešena je na vrijednost gustoće vode (1000g/l). Budući da su gustoće kratkolančanih masnih kiselina i laktata blizu te vrijednosti, a mikroorganizmi su najvećim dijelom građeni od vode, ova pretpostavka se može primijeniti.  $w_i$  je molekulska masa komponente  $i$  koja može biti glukoza, laktat, vodik iz acetogeneze ili vodik dobiven metanogenezom.

## (2) Plinovita faza lumena

U plinovitoj fazi lumena za topljive komponente vrijedi:

$$\frac{ds_{g,i}^l}{dt} = \frac{q_{g,ulaz}}{V_g} s_{g,i,ulaz}^l - \frac{q_{g,izlaz}}{V_g} s_{g,i}^l + Q_i^l \frac{V_l}{V_g}. \quad [6]$$

Brzina prijenosa tvari iz tekuće u plinsku fazu ( $Q_i^l$ ) može se definirati izrazom;

$$Q_i^l = k_l a (s_i^l - K_{H,i} R T s_{g,i}^l). \quad [7]$$

Konstanta brzine prijenosa se krije pod oznakom  $k_l a$ . U jednadžbu su uključene i Henryjeva konstanta ( $K_H$ ), idealna plinska konstanta ( $R$ ) te termodinamička temperatura ( $T$ ).

I u ovom slučaju je potrebna korekcija protoka;

$$q_{g,izlaz} = q_{g,ulaz} + q_{g,transfer}. \quad [8]$$

Brzinu plinskog protoka s obzirom na transfer tekućina-plin označava  $q_{g,transfer}$  i računa se prema formuli:

$$q_{g,transfer} = \frac{RT}{P_{atm} - p_{H_2O}} V_l (Q_{H_2} + Q_{CH_4} + Q_{CO_2}). \quad [9]$$

U jednadžbi se pojavljuju dva tlaka, atmosferski ( $P_{atm}$ ) i tlak vodene pare ( $p_{H_2O}$ ) koji pri temperaturi od 37°C iznosi 0,08274 bar.

### (3) Tekućinska faza mukusa

Topive komponente i razlažu se u mukusu prema modelu:

$$\frac{ds_i^m}{dt} = \gamma_i^l s_i^l \frac{V_l}{v_m} - \gamma_i^m s_i^m + \sum_{j=1}^5 Y_{i,j}^m \rho_j(\xi^m) - Q_i^m; \quad [10]$$

$i$  = su (glukoza), la (laktat), H2 (vodik), ac (acetat), pro (propionat), bu (butirat), CH4 (metan), CO2 (ugljičkov dioksid) i H2O (voda).

Jednadžba je slična onoj koja vrijedi za topive komponente u lumenu, a članovi su umjesto oznake  $l$  dobili oznaku  $m$  čime se pokazuje da se reakcija odvija u mukozi.

Mucin kojeg proizvodi domaćin je u ovom mediju glavni polisaharid, a koncentracija mucina se izražava ovako:

$$\frac{dz^m}{dt} = \frac{\Gamma}{v_m} - \frac{q_{izlaz}^m}{v_m} z^m - \rho_1(\xi^m). \quad [11]$$

Oznaka  $\Gamma$  je brzina proizvodnje mukoze i konstantna je vrijednost u ljudskom organizmu.

Koncentraciju mikrobne populacije moguće je opisati izrazom:

$$\frac{dx_i^m}{dt} = a_i \frac{V_l}{v_m} x_i^l - b_i x_i^m + \sum_{j=2}^9 Y_{i,j}^m \rho_j(\xi^m). \quad [12]$$

Izlazni protok iz predjela mukusa u lumen računa se ovako:

$$q_{izlaz}^m = \frac{\Gamma}{1000 \cdot 0,05} + \sum_{i=11}^{14} \frac{a_i x_i^l V_l w_i}{r_i} + q_{izlaz}^m - \sum_{i=2, i \neq 3, 7, 8}^9 \frac{\gamma_i^m s_i^m v_m w_i}{r_i} - \sum_{i=11}^{14} \frac{b_i x_i^m v_m w_i}{r_i}. \quad [13]$$

Član  $\Gamma$  se u ovom slučaju dijeli sa nazivnikom  $1000 \cdot 0,05$  jer se pretpostavlja kako 5 % sluzi zauzimaju mucini pa gustoća sluzi ne odgovara u potpunosti gustoći vode od 1000 g/L.

### (4) Plinovita faza mukusa

U plinovitoj fazi reakcije se odvijaju prema istim jednadžbama kao što se odvijaju u lumenu sa izmijenjenim oznaka ( $V_l$  se mijenja u  $v_m$ ,  $V_g$  u  $v_g$ , a eksponent  $l$  u  $m$  što označava da je radnja

smještena u mukus).

Za topive komponente:

$$\frac{ds_{g,i}^m}{dt} = \frac{q_{g,ulaz}}{v_g} s_{g,i,ulaz}^m - \frac{q_{g,izlaz}}{v_g} s_{g,i}^m + Q_i^m \frac{v_m}{v_g}. \quad [14]$$

Brzina prijenosa tvari iz tekuće u plinsku fazu ( $Q_i^m$ ) u mukozi:

$$Q_i^m = k_l a (s_i^m - K_{H,i} RT s_{g,i}^m). \quad [15]$$

Korekcija protoka:

$$q_{g,izlaz} = q_{g,ulaz} + q_{g,transfer}. \quad [16]$$

$q_{g,transfer}$  je brzina plinskog protoka s obzirom na transfer tekućina-plin, a računa se pomoću sljedećeg izraza:

$$q_{g,transfer} = \frac{RT}{P_{atm} - p_{H_2O}} v_m (Q_{H_2} + Q_{CH_4} + Q_{CO_2}). \quad [17]$$

Konstante koje sadrži izraz imaju identične vrijednosti u mukusu kao i u lumenu crijeva.

## Distalni dio debelog crijeva

(1) Lumen distalnog dijela

Ukupni volumen distalnog dijela kolona ( $V_d$ ) je konstanta, dok su vrijednosti za volumen plinovite i tekuće faze, koji zadovoljavaju uvjet  $V^g + V^l = V_d$ , promjenjive.

Za topive komponente može se definirati:

$$\frac{ds_i}{dt} = \frac{q_{ulaz}}{V_{l,d}} s_{i,ulaz}^l - \frac{q_n}{V_{l,d}} s_i^l - \gamma_i^l s_i^l + \sum_{j=1}^5 Y_{i,j}^l \rho_j(\xi^l) - Q_i^l, \quad [18]$$

pri čemu se  $q_n$  izračunava kao  $q_{out}$  u luminalnom dijelu proksimalnog i transverzalnog segmenta crijeva.

$$q_n = q_{in} + \sum_{i=11}^{14} \frac{b_i x_i^m v_m w_i}{r_i} + q_{izlaz}^m - \sum_{i=2, i \neq 3, 7, 8}^9 \frac{\gamma_i^l s_i^l V_l w_i}{r_i} - \sum_{i=11}^{14} \frac{a_i x_i^l V_l w_i}{r_i} \quad [19]$$

Polisaharidi  $z$  opisani su sljedećom jednačinom:

$$\frac{dz^l}{dt} = \frac{q_{ulaz}}{V_{l,d}} z_{ulaz}^l + \frac{q_{izlaz}^m}{V_{l,d}} z^m - \frac{q_n}{V_{l,d}} z^l - \rho_1(\xi^l), \quad [20]$$

Matematički opis mikrobne skupine:

$$\frac{dx_i^l}{dt} = \frac{q_{ulaz}}{V_{l,d}} x_{i,ulaz}^l - \frac{q_n}{V_{l,d}} x_i^l + b_i \frac{v_m}{V_{l,d}} x_i^m - a_i x_i^l + \sum_{j=2}^9 Y_{i,j}^l \rho_1(\xi^l) \quad [21]$$



## (2) Mukoza distalnog dijela

Matematičke jednačbe koje opisuju stanja u mukusu proksimalnog dijela debelog crijeva vrijede i za distalni dio.

### Tekuća faza mukusa

Topive komponente i:

$$\frac{ds_i^m}{dt} = \gamma_i^l s_i^l \frac{V_{l,d}}{v_{m,d}} - \gamma_i^m s_i^m + \sum_{j=1}^5 Y_{i,j}^m \rho_j(\xi^m) - Q_i^m; \quad [22]$$

$i = su$  (glukoza),  $la$  (laktat),  $H_2$  (vodik),  $ac$  (acetat),  $pro$  (propionat),  $bu$  (butirat),  $CH_4$  (metan),  $CO_2$  (ugljikov dioksid) i  $H_2O$  (voda).

Koncentracija polisaharida se izražava ovako:

$$\frac{dz^m}{dt} = \frac{\Gamma}{v_{m,d}} - \frac{q_{izlaz}^m}{v_{m,d}} z^m - \rho_1(\xi^m). \quad [23]$$

Opis koncentracije mikrobne populacije:

$$\frac{dx_i^m}{dt} = a_i \frac{V_{l,d}}{v_{m,d}} x_i^l - b_i x_i^m + \sum_{j=2}^9 Y_{i,j}^m \rho_1(\xi^m). \quad [24]$$

Izlazni protok iz predjela mukusa u lumen računa se isto kao i u proksimalnom dijelu:

$$q_{izlaz}^m = \frac{\Gamma}{1000 \cdot 0,05} + \sum_{i=11}^{14} \frac{a_i x_i^l V_{l,d} w_i}{r_i} + q_{izlaz}^m - \sum_{i=2, i \neq 3,7,8}^9 \frac{\gamma_i^m s_i^m v_{m,d} w_i}{r_i} - \sum_{i=11}^{14} \frac{b_i x_i^m v_{m,d} w_i}{r_i}. \quad [25]$$

### Plinovita faza mukusa

U plinovitoj fazi reakcije se odvijaju prema istim jednačbama kao što se odvijaju u lumenu sa izmijenjenim oznakama ( $V_{l,d}$  se mijenja u  $v_{m,d}$ ,  $V_{g,d}$  u  $v_{g,d}$ , a eksponent  $l$  u  $m$  što označava da je radnja smještena u mukus).

Za topive komponente:

$$\frac{ds_{g,i}^m}{dt} = \frac{q_{g,ulaz}}{v_{g,d}} s_{g,i,ulaz}^m - \frac{q_{g,izlaz}}{v_{g,d}} s_{g,i}^m + Q_i^m \frac{v_{m,d}}{v_{g,d}}. \quad [26]$$

Brzina prijenosa tvari iz tekuće u plinsku fazu ( $Q_i^m$ ) u mukozi distalnog dijela:

$$Q_i^m = k_l a (s_i^m - K_{H,i} RT s_{g,i}^m). \quad [27]$$

Korekcija protoka:

$$q_{g,izlaz} = q_{g,ulaz} + q_{g,transfer}. \quad [28]$$

$$q_{g,transfer} = \frac{RT}{p_{atm} - p_{H_2O}} v_{m,d} (Q_{H_2} + Q_{CH_4} + Q_{CO_2}). \quad [29]$$

Filološki parametri za simulaciju modela dani su u tablici 4 dok su, parametri fenomena prijenosa dani u tablici 5, vrijednosti transportnih koeficijenata u tablici 6, a vrijednosti molekulskih masa komponenti u tablici 7.

**Tablica 4.** Fiziološki parametri

Parametar	Vrijednost
$p_{atm}$	1,013 bar
pH	5,5 (proks.) 6,2 (transv.) 6,8 (dist.)
$p_{H_2O}$	0,08274 bar
R	0,08314 L bar/(mol K)
T	310,15 K
$q_{ulaz}$	1,5 L/d
$\Gamma$	5 g/d

**Tablica 5.** Parametri fenomena prijenosa

Parametar	Vrijednost
$k_L a$	200 1/d
$K_{H,H_2}$	$7,29 \cdot 10^{-4}$ mol/L bar
$K_{H,CO_2}$	01,0255 mol/L bar
$K_{H,CH_4}$	0,0011 mol/L bar

**Tablica 6.** Vrijednosti transportnih koeficijenata

Parametar	Vrijednost		
	Proksimalni dio	Transverzalni dio	Distalni dio
$\gamma_{su}^l$	1,60 L/d	3,80 L/d	6,30 L/d
$\gamma_{la}^l$	0,88 1/d	0,43 1/d	2,03 1/d
$\gamma_{ac}^l$	1,32 1/d	0,64 1/d	3,05 1/d
$\gamma_{pro}^l$	1,07 1/d	0,62 1/d	2,47 1/d
$\gamma_{bu}^l$	0,90 1/d	0,57 1/d	2,49 1/d
$\gamma_{H_2O}^l$	1,60 1/d	0,77 1/d	3,66 1/d
$\gamma_{su}^m$	1,60 1/d	3,80 L/d	6,30 1/d
$\gamma_{la}^m$	12,60 1/d	12,60 1/d	12,60 1/d
$\gamma_{ac}^m$	18,90 1/d	18,90 1/d	18,90 1/d
$\gamma_{pro}^m$	15,32 1/d	15,32 1/d	15,32 1/d
$\gamma_{bu}^m$	12,88 1/d	12,88 1/d	12,88 1/d
$\gamma_{H_2O}^m$	0,01 1/d	0,01 1/d	0,01 1/d

**Tablica 7.** Vrijednosti molekulskih masa komponenti

Parametar	Vrijednost (g/mol)
$w_{bu}$	88,10
$w_{ac}$	60,05
$w_{pro}$	74,08
$w_{la}$	90,08
$w_{H_2O}$	18,00
$w_{x_i}$	113,00

### 3.1.3. Preporuke za razvoj jelovnika

U okviru ovoga rada razvijeni su jelovnici za 4 dana u skladu s preporukama unosa makro- i mikronutrijenata za prosječnog odraslog čovjeka. Korištene se smjernice Odjela za poljoprivredu SAD-a (engl. *United States Department of Agriculture, USDA*) koje opisuju pravilan obrazac prehrane zdravog čovjeka s energetske unosom od 2000 kcal na dan. Smjernice također definiraju zastupljenost pojedine skupine hrane, odnosno govore o tome koliko jedinica iz koje skupine treba konzumirati (npr. u jelovniku od 2000 kcal/dan potrebno je konzumirati 2 šalice voća) (Gov, 2020).

Prilikom same izrade jelovnika koristila se USDA baza kemijskog sastava hrane (v. 19) u kojoj je sadržan velik broj namirnica što je omogućilo veću raznolikost samog jelovnika (U.S. Department of Agriculture, 2006).

## 3.2. METODE

### 3.2.1. Simulacija matematičkog model razgradnje ugljikohidrata pod utjecajem mikrobiote debeloga crijeva

U računalnom programu WR Mathematica razvijen je model razgradnje ugljikohidrata pod utjecajem mikrobiote debeloga crijeva, prema radu Muñoz-Tamayo i sur. (2010). Simulacije modela provedena su s različitim početnim koncentracijama laktoze i glukoze prema razvijenim jelovnicima (tablica 8). Početne vrijednosti za ostale varijable modela preuzete su iz rada Muñoz-Tamayo i sur. (2010).

**Tablica 8.** Početne vrijednosti koncentracija laktoze i glukoze prema razvijenim jelovnicima korištene u simulaciji modela razgradnje ugljikohidrata pod utjecajem mikrobiote debeloga crijeva

	$C_{glukoza}$ (mol/L)	$C_{laktoza}$ (mol/L)
Jelovnik 1	2,1454	0,0119
Jelovnik 2	2,7869	0,1968
Jelovnik 3	2,5417	0,2453
Jelovnik 4	2,8033	0,5144

Provedbom simulacija analizirana je promjena koncentracije laktoze, glukoze, butirata, mikroorganizama koji razgrađuju laktozu i mikroorganizama koji razgrađuju glukozu u lumenu proksimalnog dijela debelog crijeva. Provedena je simulacija promjena koncentracija u vremenskome intervalu od 5 dana.

### 3.2.2. Analiza globalne parametarske osjetljivosti

Budući da su modeli bioloških sustava kompleksni i sadrže velik broj slobodnih parametara, kao koristan alat u detektiranju nesigurnosti sustava pokazala se metoda analize osjetljivosti (Qian i Mahdi, 2020). Nepouzdana izlazna funkcija često može biti rezultat pojedinih početnih uvjeta čije vrijednosti uvelike odstupaju od ostalih zadanih parametara. Ovom metodom je omogućen pronalazak tih kritičnih ulaznih parametara koji najviše utječu na krajnji rezultat i vjerodostojnost istoga. S obzirom na to da se sustav obično sastoji od puno podataka, ovakav alat olakšava i ubrzava dolazak do pouzdanog krajnjeg ishoda.

Općenito, razlikuju se analiza lokalne i globalne parametarske osjetljivosti. Analiza lokalne parametarske osjetljivosti temelji se na modificiranju ulaznih faktora tako da se smanje nesigurnosti izlaznog modela. Sama promjena ulaznih parametara je vrlo blizu nominalne vrijednosti, a postupak analize počiva na mijenjanju jednog po jednog parametra simulacije pri čemu svi ostali ostaju isti.

Osim lokalne, postoji i globalna osjetljivost parametara. Za razliku od lokalne, ova metoda se koristi za veće nesigurnosti, tj. omogućuje veću promjenu vrijednosti parametara u odnosu na zadanu (Marino i sur., 2008). Najčešće korištena metoda za analizu je test osjetljivosti Fourierove amplitude (FAST) kojim se mjeri amplituda pojedinog parametra kod različitih frekvencija. Pomoću nje, izvedena je i jednačba 30 koja prati promjenu  $x_i$  normaliziranih parametara. Ta promjena nije linearna i uključuje frekvenciju  $\omega_i$  i fazni kut  $\varphi_i$ .

$$x_i = \frac{1}{2} + \frac{1}{\pi} \arcsin(\sin(\pi\omega_i s + \varphi_i)) \quad [30]$$

Realni parametar  $k_i$  nastao promjenom  $x_i$  normaliziranih parametara definiran je jednačbom 31.

$$k_i = \frac{k_i}{2} [10^n + 10^{-n} + x(10^n - 10^{-n})] \quad [31]$$

Nadalje, kada se dobiju parametri na kraju modela, potrebno ih je nadograditi Fourierovom serijom. Jednačbe 32, 33 i 34 opisuju varijancu izlazne funkcije (D) i Fourierove koeficijente ( $A_\omega$  i  $B_\omega$ ). Oznaka  $s$  u jednačbi 30 je parcijalni zbroj svakog člana Taylorovog niza.

$$D = 2 \sum_{\omega=1}^{\infty} (A_\omega^2 + B_\omega^2) \quad [32]$$

$$A_\omega = \frac{1}{2\pi} \cdot \int_{-\pi}^{\pi} y(s) \cdot \cos(\omega s) \cdot ds \quad [33]$$

$$B_\omega = \frac{1}{2\pi} \cdot \int_{-\pi}^{\pi} y(s) \cdot \sin(\omega s) \cdot ds \quad [34]$$

$$D_i = 2 \sum_{p=1}^M A_{p\omega_i}^2 + B_{p\omega_i}^2 \quad [35]$$

$$S_i = \frac{D_i}{D} \quad [36]$$

Koeficijenti osjetljivosti definirani su jednačbama 35 i 36 pri čemu se oznaka M odnosi na maksimalnu frekvenciju na kojoj se mjeri amplituda.

Analiza globalne parametarske osjetljivosti provedena je u programu *WR Mathematica 10*.

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

U ovom radu provedena je simulacija matematičkog modela metabolizam ugljikohidrata u debelom crijevu korištenjem različitih početnih koncentracija glukoze i laktoze na temelju razvijenih jelovnika. Razvijeni jelovnici s različitim udjelom laktoze prikazani u poglavlju 4.1. U poglavlju 4.2. prikaza je analiza razvijenih jelovnika na osnovi maktonutrijenata. U poglavlju 4.3. prikazani su rezultati simulacije matematičkog modela metabolizma ugljikohidrata u debelom crijevu s različitim početnim koncentracijama glukoze i laktoze, dok su u poglavlju 4.4. prikazani rezultati analize globalne parametarske osjetljivosti matematičkog modela metabolizama ugljikohidrata u debelom crijevu.

### **4.1. JELOVNICI S RAZLIČITIM UDJELIMA LAKTOZE**

Budući da rad proučava degradaciju laktoze, u osmišljene jelovnike su ukomponirane i smjernice za konzumaciju laktoze kod intolerantnih osoba jer za zdravu populaciju ne postoje posebne upute. Kao što je spomenuto, količina laktoze koju prosječni intolerantni pojedinac može podnijeti bez pojave simptoma je maksimalno 15 grama (Szilagyi i Ishayek, 2018). Prema toj smjernici su isplanirana 4 jelovnika koji sadrže različite količine mliječnog šećera. Jelovnik 1 (tablica 8) ima svega 0,44 g laktoze što je ujedno i najmanja količina uspoređujući sve ostale dane. Sva količina laktoze u tom jelovniku dolazi iz tvrdog sira koji, zbog načina proizvodnje, osigurava gotovo neznatan unos laktoze. Jelovnici 2 i 3 (tablice 9 i 10) planirani su tako da sadrže podnošljive količine laktoze (manje od 15 g). U njima su izvori laktoze jogurt, sirni namaz i svježi sir koji jelovniku donosi više laktoze u odnosu na tvrdi. Maksimalnu količinu ima jelovnik 4 (tablica 11) i to čak 19 grama što ovaj jelovnik čini nepogodan za većinu osoba s intolerancijom na laktozu. Razlog zbog kojeg je to učinjeno je uvid u specifičnosti mikrobne razgradnje pod uvjetima različitog unosa laktoze. Mlijeko i sladoled zastupljeni u jelovniku 4 predstavljaju namirnice sa najvećim udjelom laktoze.

**Tablica 9.** Jelovnik 1

<i>Obrok</i>	<i>Naziv</i>	<i>Sastojci</i>
<i>Doručak</i>	Omlet sa sirom i povrćem	2 jaja (120 g) Svježa paprika (90 g) Sir (40 g) Integralni kruh (30 g) Suncokretovo ulje (5 g)
<i>Užina 1</i>	Jagode i orasi	Jagode (150 g) Orasi (30 g)
<i>Ručak</i>	Pečena puretina s krumpirima i zelenom salatom	Puretina (90 g) Krumpir (240 g) Zelena salata (54 g) Integralni kruh (60 g) Suncokretovo ulje (10 g) Sok od naranče (240 g)
<i>Užina 2</i>	Keks sa cimetom	Keks (40 g)
<i>Večera</i>	Riblji štapići i rajčica	Rajčica (180 g) Riblji štapići (86 g) Integralni kruh (30 g) Suncokretovo ulje (10 g)
	<b>Ukupno:</b>	<b>Energija:</b> 2006,06 kcal <b>Proteini:</b> 94,46 g <b>Masti:</b> 101,13 g <b>Ukupni ugljikohidrati:</b> 193,01 g <b>Prehrambena vlakna:</b> 34,68 g <b>Laktoza:</b> 0,44 g



**Tablica 10.** Jelovnik 2

<i>Obrok</i>	<i>Naziv</i>	<i>Sastojci</i>
<i>Doručak</i>	Krekeri sa sirnim namazom, medom i smokvama	Integralni krekeri (60 g) Sirni namaz (30 g) Svježe smokve (75 g) Med (15 g)
<i>Užina 1</i>	Bademi	Bademi (30 g)
<i>Ručak</i>	Tjestenina s mljevenim mesom i umakom od rajčice	Mljeveno juneće meso (90 g) Pasirana rajčica (244 g) Tjestenina (94 g) Zelena salata (54 g) Suncokretovo ulje (15 g)
<i>Užina 2</i>	Keksi i naranča	Keks (50 g) Naranča (150 g)
<i>Večera</i>	Sendvič sa šunkom i jogurt	Jogurt (240 g) Šunka (112 g) Integralni kruh (60 g) Margarin (5 g)
	<b>Ukupno:</b>	<b>Energija:</b> 1988,17 kcal <b>Proteini:</b> 85,83 g <b>Masti:</b> 86,64 g <b>Ukupni ugljikohidrati:</b> 242,52g <b>Prehrambena vlakna:</b> 36,84 g <b>Laktoza:</b> 7,27 g

**Tablica 11.** Jelovnik 3

<i>Obrok</i>	<i>Naziv</i>	<i>Sastojci</i>
<i>Doručak</i>	Sendvič sa šunkom i svježi sir	Svježi sir (210 g) Šunka (112 g) Integralni kruh (30 g)
<i>Užina 1</i>	Banana	Banana (110 g)
<i>Ručak</i>	Salata od tune	tuna u ulju (60 g) integralna tjestenina (188 g) masline (30 g) rajčica svježa (90 g) Zelena salata (54 g) Suncokretovo ulje (15 g) sok od limuna (120 g) Integralni kruh (30 g)
<i>Užina 2</i>	Palačinke s marmeladom	Palačinke (100 g) Suncokretovo ulje (10 g) Marmelada (20 g)
<i>Večera</i>		Jogurt (240 g) kuhano jaje (120 g) kruh integralni (60 g)
	<b>Ukupno:</b>	<b>Energija:</b> 1965,86 kcal <b>Proteini:</b> 111,25 g <b>Masti:</b> 80,39 g <b>Ukupni ugljikohidrati:</b> 215,83 g <b>Prehrambena vlakna:</b> 28,25 g <b>Laktoza:</b> 9,06 g

**Tablica 12.** Jelovnik 4

<i>Obrok</i>	<i>Naziv</i>	<i>Sastojci</i>
<i>Doručak</i>	Omlet	Integralni kruh (60 g) sok od naranče (240 g) omlet od jaja (120 g) ulje suncokretovo (5 g)
<i>Užina 1</i>	Banana	Banana (11 g)
<i>Ručak</i>	Losos sa špinatom i krumpirom	Špinat (30 g) Krumpir (78 g) kruh integralni (30 g) losos (60 g) ulje suncokretovo (12 g) sladoled (115 g)
<i>Užina 2</i>	Zobene pahuljice sa borovnicama	Borovnice (74 g) zobene pahuljice (60 g) mlijeko (240 g)
<i>Večera</i>	Piletina s rižom i sladoled	Riža (30 g) Piletina (45 g) zelena salata (36 g) ulje suncokretovo (10 g) Orasi (30 g)
	<b>Ukupno:</b>	<b>Energija:</b> 2010,7 kcal <b>Proteini:</b> 74,88 g <b>Masti:</b> 93,82 g <b>Ukupni ugljikohidrati:</b> 228,93 g <b>Prehrambena vlakna:</b> 22,05 g <b>Laktoza:</b> 19 g

## 4.2. ANALIZA JELOVNIKA

Kao što je spomenuto, razvijen je jelovnik koji se sastoji od 4 dana i zadovoljava potrebe prosječnog čovjeka odrasle dobi. Za svaki od 4 dana osmišljeno je 5 obroka: doručak, užina 1, ručak, užina 2 i večera. Prilikom planiranja jelovnika, osobita pažnja je bila posvećena zadovoljavanju preporuka, odnosno DRI (engl. *Dietary Reference Intake*) smjernica (USDHHS, 2023). Tako je svaki od osmišljenih doručaka nastojao zadovoljiti 20 % ukupnih dnevnih energetske potrebe kao i pojedine večere. Energetski najbogatiji obrok je bio ručak i njime je bilo potrebno pojedincu osigurati 35% energetske potrebe, a na obje užine ukupno otpada 25 % potreba za energijom tijekom dana. Gledajući prosječne vrijednosti obroka za sva četiri dana, najveća odstupanja od ovih preporuka vidljiva su kod doručaka i večera koji premašuju preporučene vrijednosti za 3%. Energetska zastupljenost pojedinog obroka u danu kao i preporuke dane su u tablici 13.

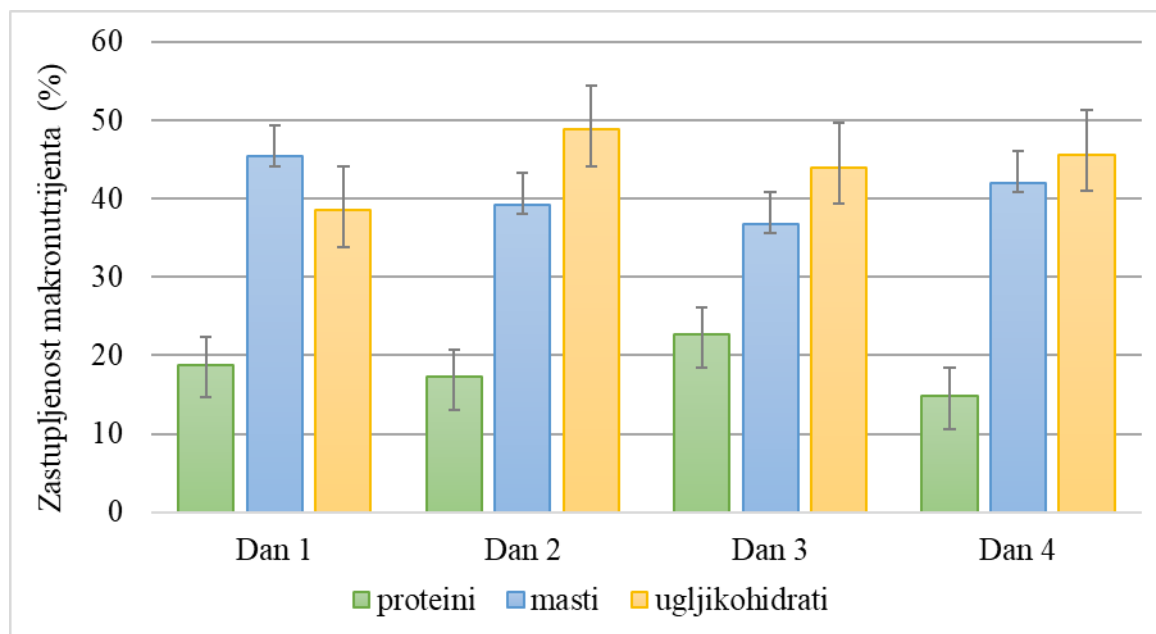
**Tablica 13.** Prikaz udjela pojedinog obroka u jelovnicima 1 – 4, prosječnih vrijednosti zastupljenosti isplaniranih obroka te usporedba sa preporučenim vrijednostima

Obrok	Jelovnik 1 (%)	Jelovnik 2 (%)	Jelovnik 3 (%)	Jelovnik 4 (%)	Prosjek (%)	Preporuka (%)
Užine	19,3	22,4	21,8	24,7	22	25
Doručak	22,9	21,5	22,8	22,8	23	20
Ručak	35,9	31,6	32,3	30,0	33	35
Večera	21,9	24,4	23,0	22,5	23	20

Budući da su jelovnici planirani s ciljem da zadovolje unos od 2000 kilokalorija, analizom je utvrđeno kako je prosječni energetski unos bio  $1992,7 \pm 20,4$  kcal/dan. To znači da su odstupanja vrlo mala, a zacrtani cilj je u velikoj mjeri postignut.

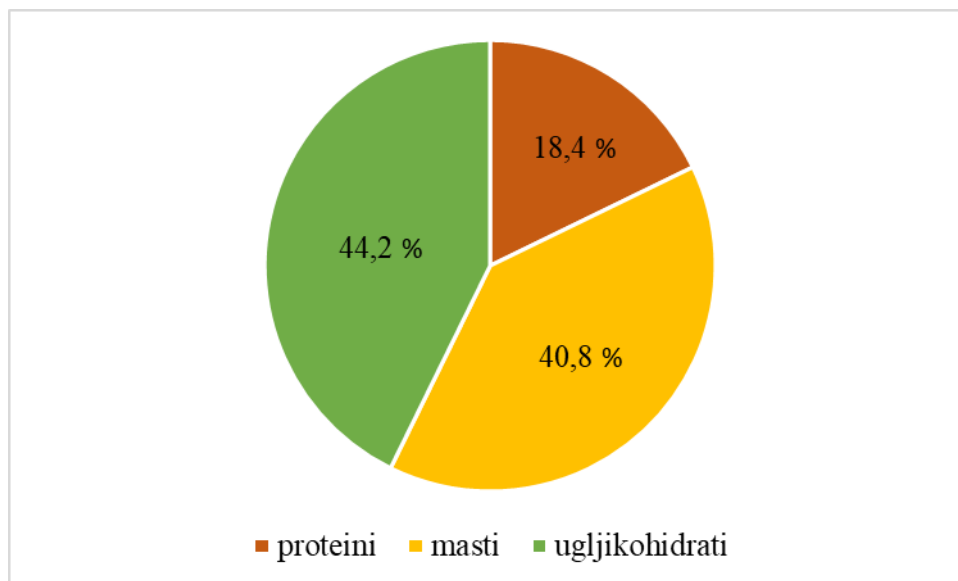
Nešto veća odstupanja od preporuka primijećena su prilikom uvida u udjele makronutrijenata konzumiranih kroz dan. Na slici 5 nalazi se stupčasti grafikon koji prikazuje postotak pojedinog makronutrijenta u svakom isplaniranom danu. Tako su primjerice u Danu 1 masti najzastupljeniji makronutrijent sa čak 45 % zastupljenosti, a preporuke nalažu kako bi se udio masti trebao kretati u rasponu od 20 do 35 % ukupnog unosa energije kroz dan. Kao posljedica tog neslaganja, prosječna zastupljenost ugljikohidrata u Danu 1 iznosila je svega 38

% što je daleko ispod preporučene donje granice od 45 % energetske potrebe. Unutar raspona danog u smjernicama (10 – 35%) nalaze se proteini i taj raspon uspješno je zadovoljen u sva 4 dana (slika 5).



**Slika 5.** Udio proteina, masti i ugljikohidrata u pojedinom danu

Prosječni udio masti u četverodnevnoj energetskej ponudi iznosi 40,8 %, udio ugljikohidrata 44,2 %, a proteina 18,4 % (slika 6). Iz toga se može zaključiti kako su masti one koje najviše odstupaju od smjernica, odnosno njihov unos je konzumacijom ovog jelovnika prevelik. Ovaj nesrazmjer može se korigirati smanjenjem količine ulja koje se koristilo u pripremi obroka ili zamjenom punomasnih proizvoda sa onima koji imaju smanjen postotak masti.



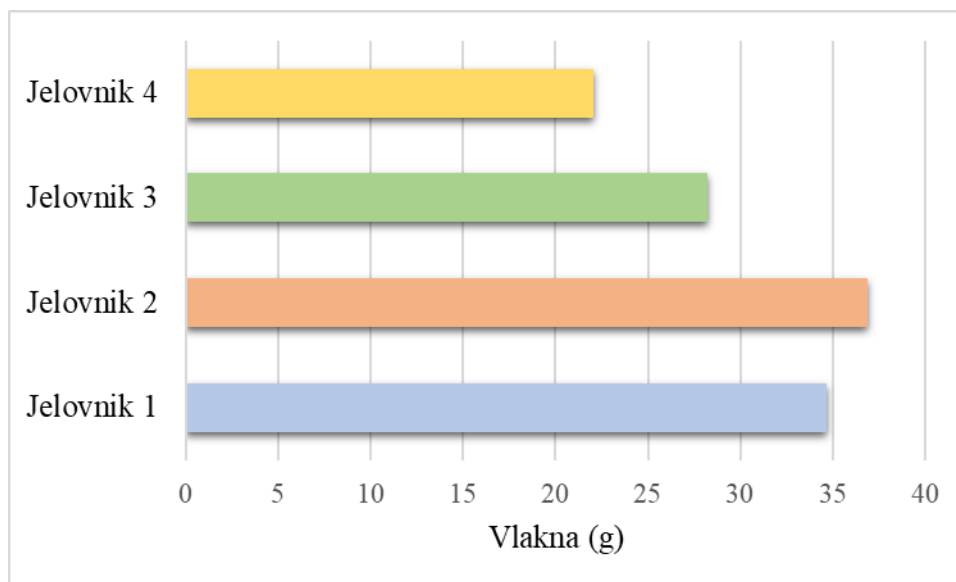
**Slika 6.** Prosječne zastupljenosti makronutrijenata za sva četiri jelovnika s obzirom na ukupni unos energije kroz dan

Podaci o energetskej vrijednosti, ali i nutritivnom sastavu svake namirnice pronađeni su u USDA bazi o kemijskom sastavu namirnica. Osim makronutrijenata, vitamini i minerali su neizostavni segmenti koje je potrebno analizirati jer su baš oni ti koji pridonose postizanju i održavanju zdravlja svakog čovjeka. U Prilogu 1 nalazi se primjer jelovnika (Dan 4) napisanog u USDA bazi sa pripadajućim izračunima.

Ova baza omogućila je velik izbor namirnica pa je tako osim ravnoteže nutrijenata zadovoljeno i još jedno načelo pravilne prehrane – raznolikost. Budući da je jelovnik pratio smjernice koje govore koliko se jedinica odabrane namirnice iz pojedine skupine hrane treba konzumirati kroz dan, zastupljenost svih skupina je odgovarajuća, a izbor namirnica raznovrstan.

Jedna od prvih asocijacija koje ljudi povezuju s temom zdravlja i pravilne prehrane jesu zasigurno vlakna. Uz to što pospješuju probavu, adekvatan unos vlakana smanjuje rizik od razvoja kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa, karcinoma i povezuju se sa uspješnijim mršavljenjem (Dahl i Stewart, 2015). Preporuke nalažu da bi svaki čovjek dnevno trebao prehranom osigurati 14 g vlakana na 1000 unesenih kilokalorija (Dahl i Stewart, 2015). Primijenjeno na ovaj rad i jelovnike od 2000 kcal, bilo je potrebno osigurati 28 g vlakana/dan. Tako je prosječni unos vlakana za osmišljene jelovnike iznosio 30,45 g što u potpunosti sukladno danoj preporuci. Gledajući svaki dan pojedinačno, na slici 7 može se uočiti kako su uspješno zadovoljena prva tri dana jelovnika dok je 4. dan sa 22,05 g vlakana jedini kojeg je u ovom kontekstu potrebno korigirati. U kombinaciji sa unosom voća i povrća te integralnog umjesto

bijelog kruha svaki dan, intervencija se može poduzeti u vidu obogaćivanja jelovnika mahunarkama poput boba, leće, mahuna, graha, ali i sjemenkama ( npr. chia i lanene sjemenke) koje obiluju vlaknima.



**Slika 7.** Zatupljenost vlakana izraženi kao masa vlakana u gramima po danu

Zabrinutost koja postoji zbog nedovoljnog unosa kalcija u intolerantnih osoba djelomično se može potvrditi i analizom jelovnika iz ovoga rada. Srednja vrijednost količine unesenog kalcija u sva 4 dana iznosila je 741,73 mg što je podosta ispod preporuka od 1000 mg za odraslu osobu (USDHHS, 2023). Najveći unos je postignut jelovnikom 3 i on iznosi 862,58 mg kalcija, a tome su najviše pridonijele sljedeće namirnice: jogurt, integralni kruh, integralna tjestenina i kuhano jaje. Minimalne količine kalcija (661,62 mg) pronađene su u jelovniku 1 koji je također i jelovnik sa najmanje laktoze. Međutim, osim manjka mlijeka i mliječnih proizvoda u tome danu, nedostajalo je i hrane bogate kalcijem iz drugih skupina namirnica. Proučavajući jelovnik 4 otkriveno je kako maksimalan unos laktoze ne znači nužno i maksimalan unos kalcija toga dana. Prilikom analize količine kalcija koju netko unosi, bitno je, osim na skupinu mliječnih proizvoda, fokusirati se i na ostale namirnice koje su izvor ovoga minerala.

Kako se uz kalcij usko veže i vitamin D, rad se kratko osvrnuo i na njega. Prosječno je kroz ova 4 jelovnika uneseno 4,11 mikrograma vitamina D, a smjernice navode preporučenu dozu od 5 mikrograma na dan (HZJZ, 2020). Identično kao i u slučaju kalcija, mnoštvo je namirnica iz ostalih skupina hrane bogatih ovim vitaminom pa se ne može sa sigurnošću tvrditi kako smanjen

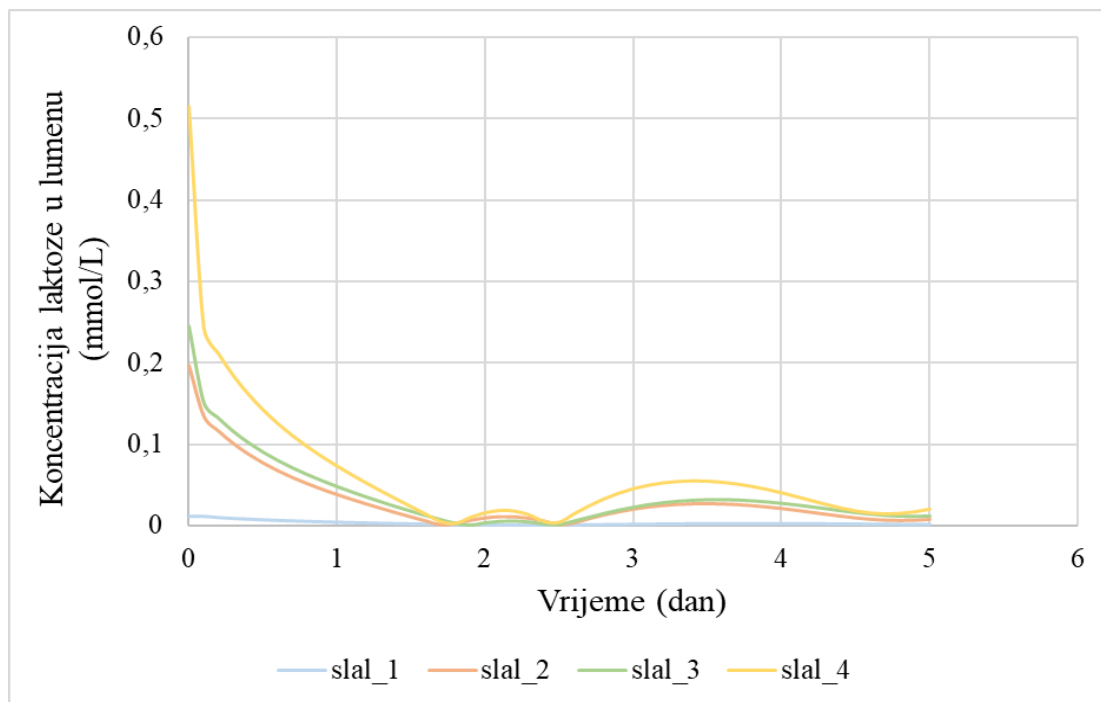
unos laktoze, odnosno mliječnih proizvoda, jedini ima utjecaj na nedostatak vitamina D ili kalcija.

#### **4.3. SIMULACIJA MATEMATIČKOG MODEL RAZGRADNJE UGLJIKOHIDRATA POD UTJECAJEM MIKROBIOTE DEBELOGA CRIJEVA**

Model dobiven pomoću programa WR Mathematica 10 uključuje ukupno 14 biokemijskih reakcija koje opisuju promjenama u koncentraciji unesenih reaktanata i dobivenih produkata. Osim spomenutih reakcija, ovaj model objedinjuje i kompletnu fiziologiju ljudskog debelog crijeva, saznanja o mikroorganizmima prisutnim u njemu te fenomen prijenosa tvari između mukusa i lumena crijeva. S obzirom na to da se simulacija odvija u debelom crijevu, bitno je poznavati karakteristike svakog dijela crijeva te s obzirom na njih definirati uvijete fermentacije. Razgradnje unesene laktoze, odnosno promjene koje su se događale sa koncentracijama pojedinih metabolita, promatrane su u vremenskom razdoblju od 5 dana.

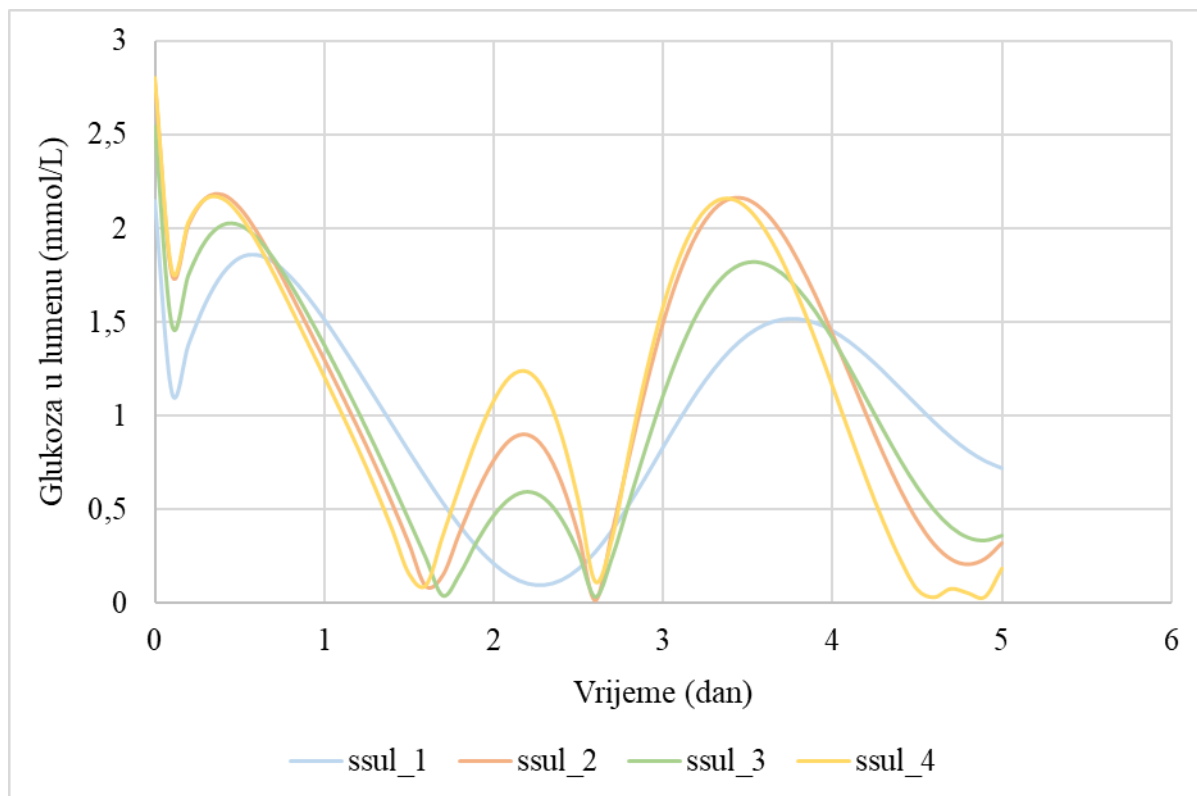
Slika 8 prikazuje kako se mijenjala koncentracija unesene laktoze kroz vrijeme. Kako se radi o razgradnji, očekivan je nagli pad koncentracije laktoze kako što je i dobiveno na slici. Svaki od osmišljenih jelovnika sadrže različitu količinu laktoze pa ovaj grafički prikaz prati promjene pojedinog dana. Označene različitim bojama, svaka od 4 krivulje prikazuje jedan jelovnik. Posebno se ističu krivulje jelovnika 1 i 4. Poznato je kako jelovnik 1 (tablica 9) ima najmanju, a jelovnik 4 (tablica 12) najveću količinu laktoze. Stoga su koncentracije laktoze unesene jelovnikom 4 uvijek veće u usporedbi sa drugim jelovnicima. U jelovniku 1 je količina laktoze bila svega 0,44 g što objašnjava kretanje pripadajuće mu krivulje.





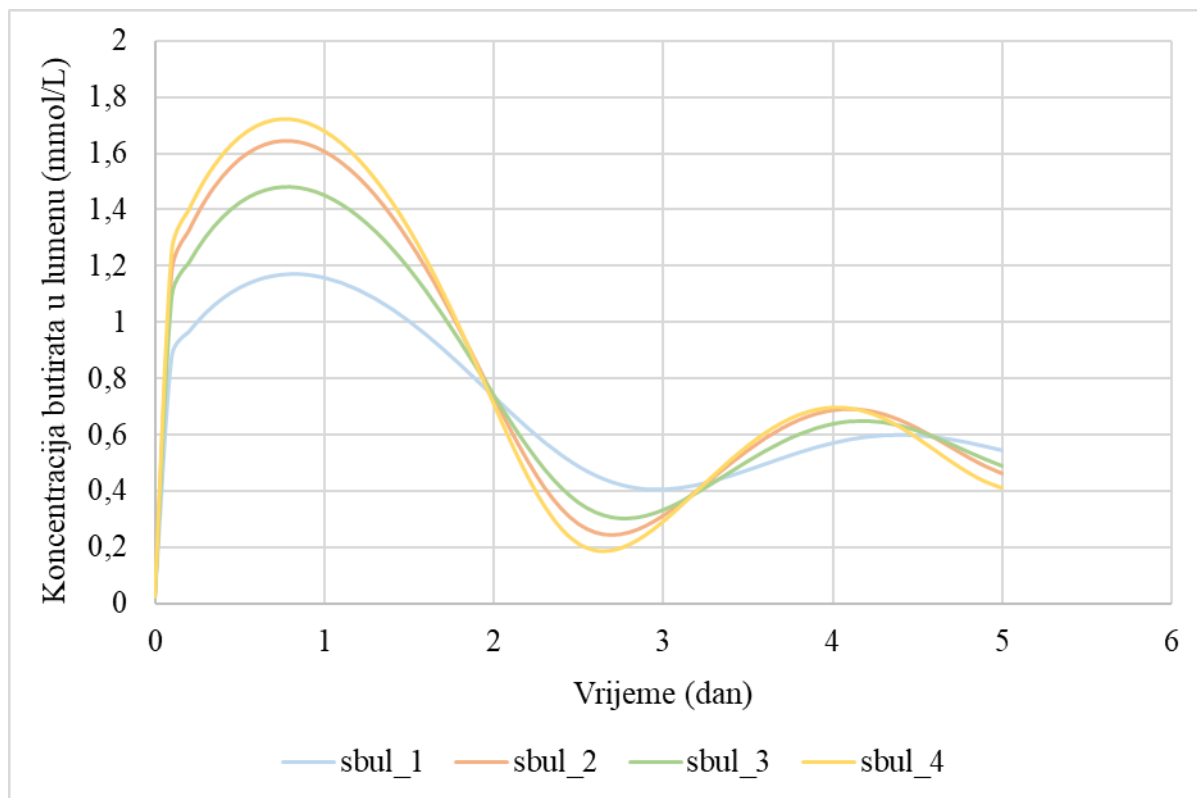
**Slika 8.** Grafički prikaz promjene koncentracije laktoze u lumenu proksimalnog dijela debeloga crijeva tijekom vremena (slal\_1 = koncentracija laktoze u lumenu crijeva za jelovnik 1, slal\_2 = koncentracija laktoze u lumenu crijeva za jelovnik 2, slal\_3 = koncentracija laktoze u lumenu crijeva za jelovnik 3, slal\_4 = koncentracija laktoze u lumenu crijeva za jelovnik 4)

Kako se tijekom vremena mijenjala koncentracija glukoze unesene hranom, ali i nastale razgradnjom laktoze prikazuje slika 9. Sličan trend promjene koncentracije glukoze pod utjecajem crijevne mikrobiote uočen je i u radu Capilla i sur. (2022). Graf (kao i na slici 5) sadrži 4 linije različitih boja od koje svaka predstavlja jedan jelovnik. Najmanju količinu laktoze ima jelovnik 1 (Tablica 9) pa su i koncentracije glukoze u promatranih 5 dana niže od koncentracija glukoze iz ostalih jelovnika. Izgled samog grafa može objasniti model protočnog reaktora koji najbolje opisuje debelo crijevo čovjeka. Zbog konstantnog protoka tvari, ulaska laktoze i izlaska njenih produkata, dolazi do izmjene padajućih i rastućih dijelova krivulja.



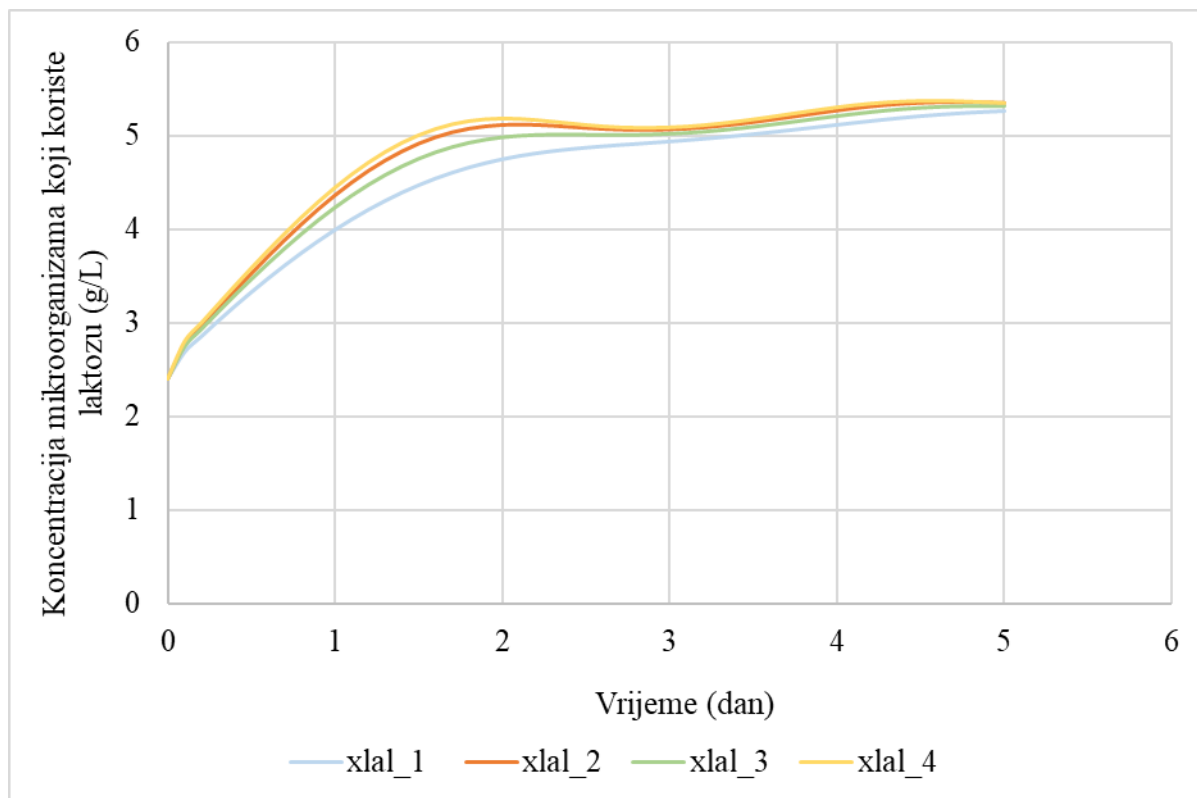
**Slika 9.** Grafički prikaz promjene koncentracije glukoze u lumenu proksimalnog dijela debelog crijeva tijekom vremena (ssul\_1 = koncentracija glukoze u lumenu za jelovnik 1, ssul\_2 = koncentracija glukoze u lumenu za jelovnik 2, ssul\_3 = koncentracija glukoze u lumenu za jelovnik 3, ssul\_4 = koncentracija glukoze u lumenu za jelovnik 4)

Sljedeći metabolit kojeg obrađuje model je butirat. Na slici 10 jasno je vidljivo da je početna koncentracija butirata 0, a zatim se s vremenom koncentracija povećava jer on nastaje kao posljedica razgradnje unesene laktoze. Zbog neprestanog protoka tvari, izmjenjuju se nastajanje i daljnje razlaganje butirata što se jasno može vidjeti i iz slike.



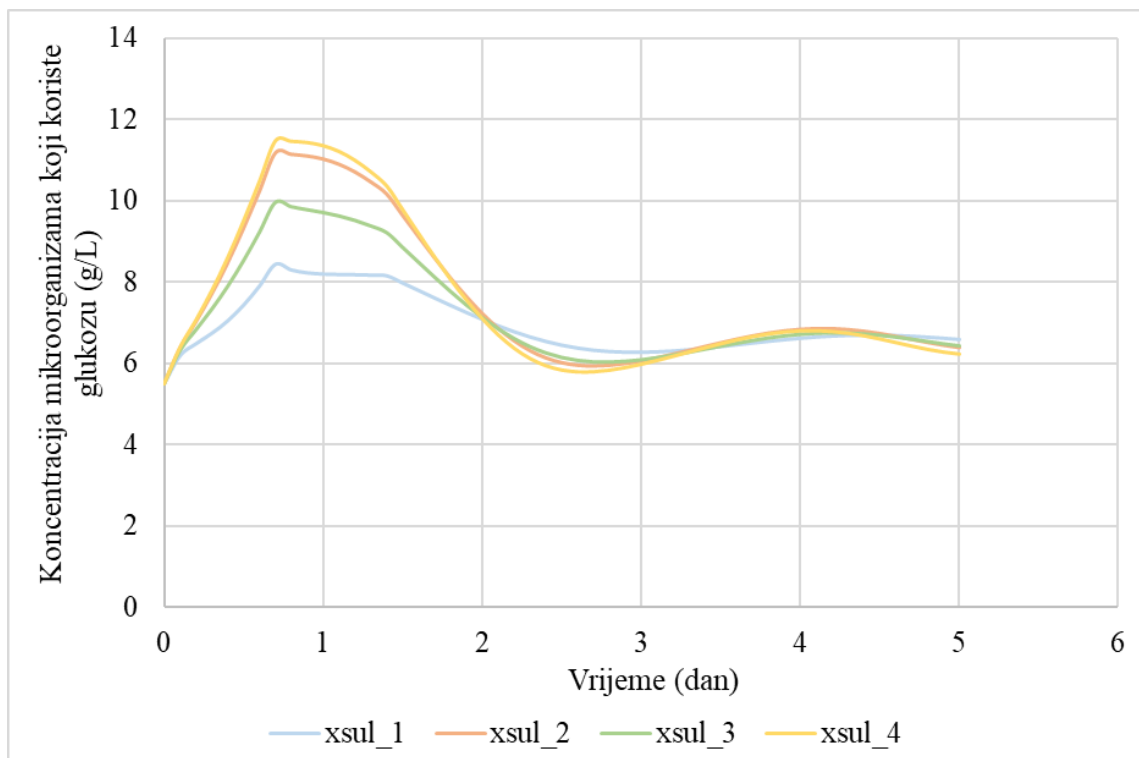
**Slika 10.** Grafički prikaz promjene koncentracije butirata u lumenu proksimalnog dijela debeloga crijeva tijekom vremena (sbul\_1 = koncentracija butirata u lumenu za jelovnik 1, sbul\_2 = koncentracija butirata u lumenu za jelovnik 2, sbul\_3 = koncentracija butirata u lumenu za jelovnik 3, sbul\_4 = koncentracija butirata u lumenu za jelovnik 4)

Pratile su se i koncentracije mikroorganizama koji za svoj rast koriste različite metabolite obuhvaćene modelom. Prva opisana mikrobna zajednica bit će ona koja koristi laktozu (Slika 11). Unos laktoze potiče rast bakterija koje upravo nju razgrađuju. Najviša koncentraciju mikroorganizama može se uočiti prateći krivulju koja opisuje jelovnik 4, a to je i očekivano s obzirom na to da ovaj jelovnik sadrži najviše laktoze (tablica 12).



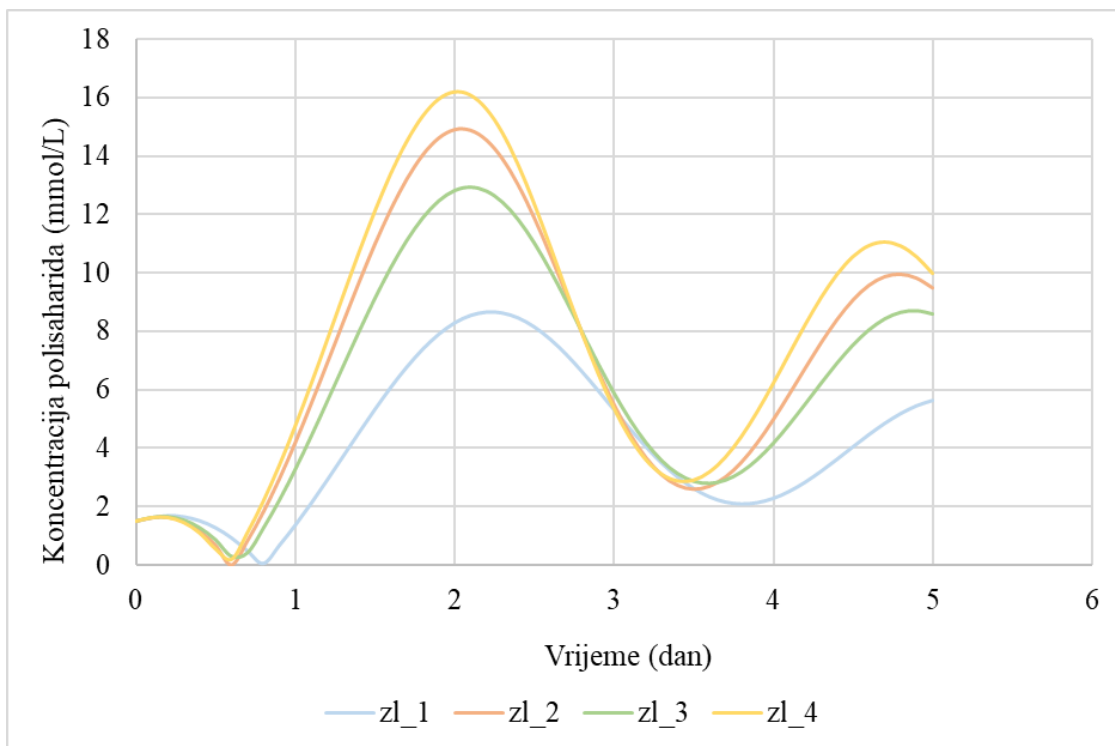
**Slika 11.** Grafički prikaz promjene koncentracije mikroorganizama koji koriste laktozu u lumenu proksimalnog dijela debelog crijeva tijekom vremena (xlal\_1 = koncentracija bakterija koje koriste laktozu u lumenu za jelovnik 1, xlal\_2 = koncentracija bakterija koje koriste laktozu u lumenu za jelovnik 2, xlal\_3 = koncentracija bakterija koje koriste laktozu u lumenu za jelovnik 3, xlal\_4 = koncentracija bakterija koje koriste laktozu u lumenu za jelovnik 4)

Mikrobna zajednica koja razgrađuje glukozu mijenja koncentraciju prema slici 12. Porast početne koncentracije mikroba vidi se tijekom prvog dana kada je i razgradnja laktoze najbrža. Kasnije se, što zbog protoka, što zbog manje količine glukoze, smanjuje i koncentracija populacije mikroba. Studija koja proučava fermentaciju bakterija iz rodova *Bifidobacterium* i *Bacillus*, modeliranjem predviđa kretanje koncentracije bakterija slično rezultatima ovoga rada (Evdokimova i sur., 2022).



**Slika 12.** Grafički prikaz promjene koncentracije mikroorganizama koji koriste laktozu u lumenu proksimalnog dijela debelog crijeva tijekom vremena (xsul\_1 = koncentracija bakterija koje koriste glukozu u lumenu za jelovnik 1, xsul\_2 = koncentracija bakterija koje koriste glukozu u lumenu za jelovnik 2, xsul\_3 = koncentracija bakterija koje koriste glukozu u lumenu za jelovnik 3, xsul\_4 = koncentracija bakterija koje koriste glukozu u lumenu za jelovnik 4)

Sljedeća slika daje uvid u to što se događa sa koncentracijom polisaharida prilikom fermentacije u periodu od 5 dana (slika 13). Budući da su polisaharidi ugljikohidrati velike molekulske mase izgrađeni od mnoštva monosaharidnih jedinica, ova krivulja zapravo prati trend razgradnje glukoze u ljudskom debelom crijevu koje funkcionira po principu modela protočnog reaktora.



**Slika 13.** Grafički prikaz promjene koncentracije polisaharida u lumenu proksimalnog dijela debeloga crijeva tijekom vremena (zl\_1 = koncentracija polisaharida u lumenu za jelovnik 1, zl\_2 = koncentracija polisaharida u lumenu za jelovnik 2, zl\_3 = koncentracija polisaharida u lumenu za jelovnik 3, zl\_4 = koncentracija polisaharida u lumenu za jelovnik 4)

#### 4.4. ANALIZA GLOBALNE PARAMETARSKE OSJETLJIVOSTI

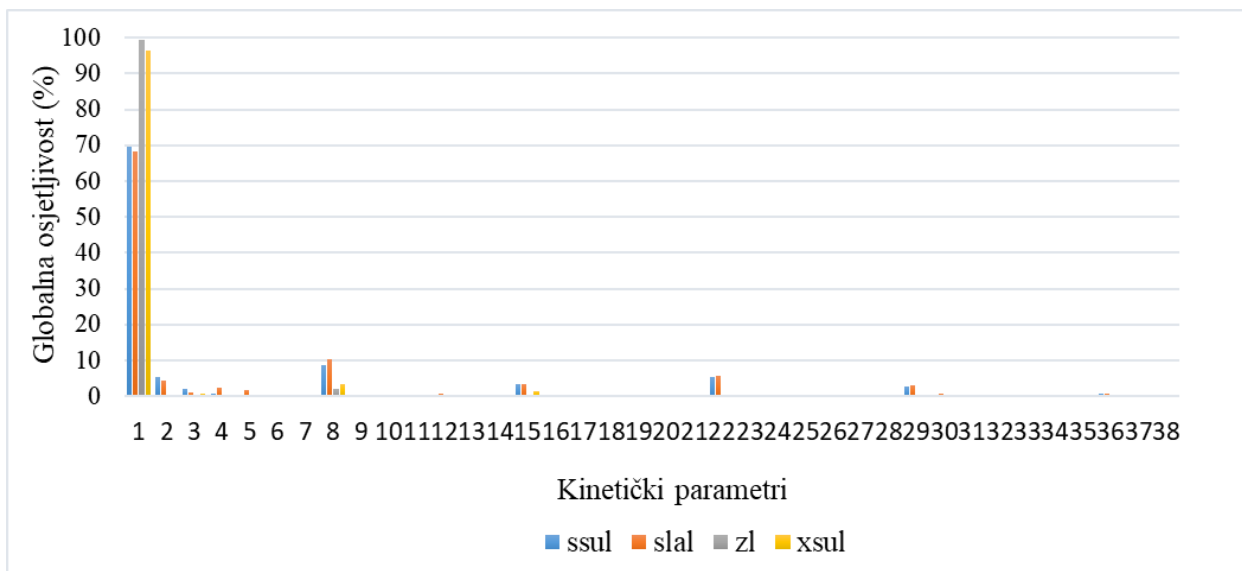
U ovom radu provedena je analiza globalne parametarske osjetljivosti kinetičkih parametara matematičkog model razgradnje ugljikohidrata pod utjecajem mikrobiote debeloga crijeva.

Matematički modeli omogućuju integraciju informacija prikupljenih iz različitih izvora koristeći uobičajene matematičke metode. Povećanjem dostupnosti informacija o metaboličkoj aktivnosti organizma primjenom naprednih molekularnih tehnika, povećava se i složenost predloženih matematičkih modela (Nguyen Quang i sur., 2019). Matematički modeli bioloških sustava najčešće se izvode u obliku diferencijalnih jednadžbe koje opisuju promjene u jednoj varijabli tijekom vremena (Kent i sur., 2013). Prilikom razvijanja modela bioloških sustava, najveći izazov je izbor, odnosno procjena vrijednosti parametara modela (maksimalne brzine reakcije, konstante zasićenja, itd.). Ovaj problem se posebno odnosi na parametre koji opisuju kinetički izrazi reakcija kataliziranih enzimima. Konkretno, procjena parametra vrijednosti kinetičkih modela reakcija kataliziranih enzimima obično se provodi na temelju podaci prikupljeni u *in vitro* eksperimentima, a često, *in vitro* uvjeti ne simuliraju *in vivo* uvjetima s

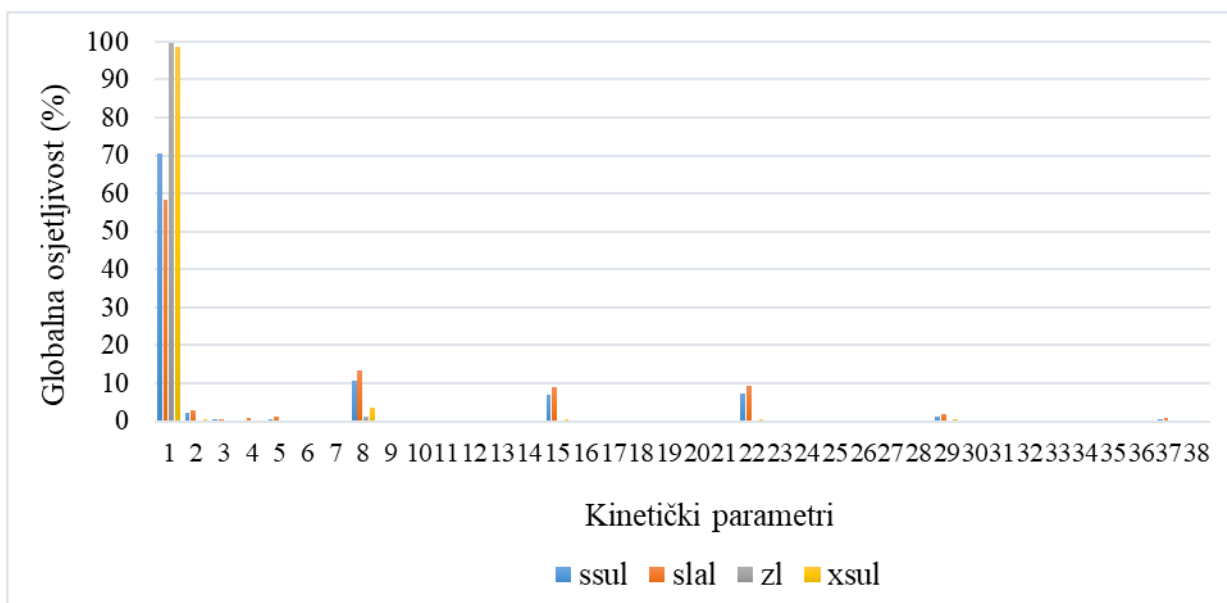
potpunom točnošću (Wang i sur., 2012). Kako bi se ispitaio utjecaj promjene u vrijednost parametra modela na odabrane izlazne varijable primjenjuju se analiza parametarska osjetljivosti. Prema Li i sur. (2010) cilj globalne analize osjetljivosti je rangiranje važnosti ulaza sustava s obzirom na njihovu nesigurnost i utjecaj koji imaju na nesigurnost izlaza sustava, obično u velikom području ulaznog prostora. Analizirani model u ovom radu sastoji se od 102 varijable, 14 biokemijskih reakcija i 38 kinetičkih parametra.

U ovom radu ispitan je utjecaj promjena vrijednosti kinetičkih parametara od 3 % na koncentraciju glukoze, koncentraciju laktoze, koncentraciju polisaharida i koncentraciju mikroorganizama koji koriste laktozu u vremenskom trenutku u  $t = 5$  dan za dvije različite početne koncentracije glukoze i laktoze prema razvijenim jelovnicima: (i)  $c_{\text{glukoza},u} = 2,1454 \text{ mol/L}$  i  $c_{\text{laktoza},u} = 0,0119 \text{ mol/L}$  (slika 14) ; (ii)  $c_{\text{glukoza},u} = 2,8033 \text{ mol/L}$  i  $c_{\text{laktoza},u} = 0,5144 \text{ mol/L}$  (slika 15).

Rezultati pokazuju da neovisno o promjeni početnih koncentracije glukoze i laktoze kao najosjetljiviji parametra modela je maksimalna specifična brzina hidrolize polisaharida ( $k_{\text{hyd},z}$ ) uključena u kinetički izraz koji opisuje hidrolizu polisaharida u jednostavnije šećere. Rezultat pokazuje da i mala promjena brzine hidrolize polisaharida značajnu utječe na promjenu koncentracije polisaharida i koncentracije mikroorganizma koji koriste glukozu; koeficijenti osjetljivosti za navedene varijabli model iznose više od 99 % za obje početne koncentracije glukoze i laktoze. Nadalje vidljivo je da koncentracije glukoze, laktoze, polisaharida i mikroorganizama koji koriste polisaharide ovise još o promjeni vrijednosti konstante zasićenja u reakciji homoacetogeneze ( $K_{s,H2a}$ ), o koeficijentu prinosa vodika u procesu potrošnje laktata ( $Y_{H2,la}$ ), o koeficijentu prinosa butirata u procesu potrošnje laktata ( $Y_{bu,la}$ ) te o koeficijentu prinosa vode u procesu potrošnje laktata ( $Y_{H2O,la}$ ). Navedeni rezultati uopćuju na značajan doprinos metabolizma laktata u procesu razgradnje ugljikohidrata pod utjecajem crijevne mikroflore debeloga crijeva.



**Slika 14.** Rezultati analize globalne parametarske osjetljivosti kinetičkih parametara modela razgradnje ugljikohidrata pod utjecajem mikrobiote debeloga crijeva za navedene početne uvjete  $c_{glukoza,u} = 2,1454 \text{ mol/L}$  i  $c_{laktosa,u} = 0,0119 \text{ mol/L}$  (vrijednosti kinetičkih parametara na x osi označenih brojevima 1 – 38 na nalaze se u tablici 3; ssul = koncentracija glukoze u lumenu crijeva, slal = koncentracija laktoze u lumenu crijeva, zl = koncentracija polisaharida u lumenu crijeva, xsul = koncentracija mikroorganizama koji koriste glukozu u lumenu crijeva)



**Slika 15.** Rezultati analize globalne parametarske osjetljivosti kinetičkih parametara prilikom razgradnje ugljikohidrata pomoću mikroorganizama debelog crijeva čovjeka uz početne uvjete  $c_{glukoza,u} = 2,8033 \text{ mol/L}$  i  $c_{laktosa,u} = 0,5144 \text{ mol/L}$  (vrijednosti kinetičkih parametara na x osi označenih brojevima 1 – 38 na nalaze se u tablici 3; ssul = koncentracija glukoze u lumenu crijeva, slal = koncentracija laktoze u lumenu crijeva, zl = koncentracija polisaharida u lumenu crijeva, xsul = koncentracija mikroorganizama koji koriste glukozu u lumenu crijeva)



## 5. ZAKLJUČCI

Na temelju opisane simulacije i provedene analize modela razgradnje ugljikohidrata može se zaključiti sljedeće:

1. Jelovnici osmišljeni po principu pravilne prehrane uz modifikaciju količine laktoze omogućuju pregled razgradnje ugljikohidrata pomoću crijevne mikrobiote.
2. U analizu jelovnika su uključeni i makronutrijenti te su izdvojena vlakna čiji unos zadovoljava preporuke, a analizom unesenog kalcija zaključeno je kako, osim mlijeka i mliječnih proizvoda, i puno namirnica iz drugih skupina hrane u jelovniku pridonose optimalnom unosu kalcija.
3. Nakon provedene simulacije uočeno je kako se dinamika razgradnje laktoze mijenja u ovisnosti o tome kolika je bila početna koncentracija laktoze u jelovniku.
4. Analiza globalne parametarske osjetljivosti pokazala je da promjena koncentracije laktoze, glukoze, polisaharida i mikroorganizama zaduženih za razgradnju najviše ovisi o maksimalnoj specifičnoj brzini hidrolize polisaharida ( $k_{hyd,z}$ ), kinetičkom parametru sadržanom u izrazu za hidrolizu polisaharida.
5. Koncept primjene računalne biologije u nutricionizmu značajno može pridonijeti razvoju personalizirane prehrane.

## 6. LITERATURA

- Adak A, Khan MR (2019) An insight into gut microbiota and its functionalities. *Cell Mol Life Sci* **76**, 473–493. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2943-4>
- Batstone DJ, Keller J, Angelidaki I, Kalyuzhnyi S V, Pavlostathis SG, Rozzi A, i sur. (2002) The IWA anaerobic digestion model No 1 (ADM1). *Water Sci Technol* **45**, 65–73.
- Bode L (2012) Human milk oligosaccharides: every baby needs a sugar mama. *Glycobiology* **22**, 1147–1162. <https://doi.org/10.1093/GLYCOB/CWS074>
- Brüssow H (2013) Nutrition, population growth and disease: a short history of lactose. *Environ Microbiol* **15**, 2154–2161. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12117>
- Capilla M, Silvestre C, Valles A, Álvarez-Hornos FJ, San-Valero P, Gabaldón C (2022) The influence of sugar composition and ph regulation in batch and continuous acetone–butanol–ethanol fermentation. *Fermentation* **8**, 226. <https://doi.org/10.3390/fermentation8050226>
- Cifelli CJ, Fulgoni K, Fulgoni VL, Hess JM (2023) Disparity in dairy servings intake by ethnicity and age in NHANES 2015-2018. *Curr Dev Nutr* **7**, 100010. <https://doi.org/10.1016/j.cdnut.2022.100010>
- Dahl WJ, Stewart ML (2015) Position of the academy of nutrition and dietetics: Health implications of dietary fiber. *J Acad Nutr Diet* **115**, 1861–1870. <https://doi.org/10.1016/J.JAND.2015.09.003>
- Derrien M, Vaughan EE, Plugge CM, de Vos WM (2004) *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol* **54**, 1469–1476. <https://doi.org/10.1099/IJS.0.02873-0>
- Di Costanzo M, Berni Canani R (2018) Lactose intolerance: Common misunderstandings. *Ann Nutr Metab* **73**, 30–37. <https://doi.org/10.1159/000493669>
- Duncan SH, Holtrop G, Lobley GE, Calder AG, Stewart CS, Flint HJ (2004) Contribution of acetate to butyrate formation by human faecal bacteria. *Br J Nutr* **91**, 915–923. <https://doi.org/10.1079/BJN20041150>
- Egert M, De Graaf AA, Smidt H, De Vos WM, Venema K (2006) Beyond diversity: functional microbiomics of the human colon. *Trends Microbiol* **14**, 86–91. <https://doi.org/10.1016/J.TIM.2005.12.007>
- Evdokimova SA, Karetkin BA, Guseva EV., Gordienko MG, Khabibulina NV., Panfilov VI, i sur. (2022) A study and modeling of bifidobacterium and bacillus coculture continuous fermentation under distal intestine simulated conditions. *Microorganisms* **10**, 929. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050929>

Fleming SE, Choi SY, Fitch MD (1991) Absorption of short-chain fatty acids from the rat cecum *in vivo*. *J Nutr* **121**, 1787–1797. <https://doi.org/10.1093/JN/121.11.1787>

Forsgård RA (2019) Lactose digestion in humans: Intestinal lactase appears to be constitutive whereas the colonic microbiome is adaptable. *Am J Clin Nutr*, **110**, 273–279.

He T, Venema K, Priebe MG, Welling GW, Brummer RJM, Vonk RJ (2008) The role of colonic metabolism in lactose intolerance. *Eur J Clin Invest* **38**, 541–547.

HZJZ (2023) Vitamin D i preporuke za nadomjesnu primjenu vitamina D od jeseni | Hrvatski zavod za javno zdravstvo. HZJZ – Hrvatski zavod za javno zdravstvo, <https://www.hzjz.hr/sluzba-zdravstvena-ekologija/vitamin-d-i-preporuke-za-nadomjesnu-primjenu-vitamina-d-od-jesenii/>. Pristupljeno 8. kolovoza 2023.

Kent E, Neumann S, Kummer U, Mendes P (2013) What Can We Learn from Global Sensitivity Analysis of Biochemical Systems? *PLoS ONE* **8**, e79244. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079244>

Li G, Rabitz H, Yelvington PE, Oluwole OO, Bacon F, Kolb CE, Schoendorf J (2010). Global sensitivity analysis for systems with independent and/or correlated inputs. *J Phys Chem* **114**, 6022–6032. <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2010.05.131>

Marino S, Hogue IB, Ray CJ, Kirschner DE (2008) A methodology for performing global uncertainty and sensitivity analysis in systems biology. *J Theor Biol* **254**, 178–196.

Minekus M, Smeets-Peeters M, Havenaar R, Bernalier A, Fonty G, Marol-Bonnin S, i sur. (1999) A computer-controlled system to simulate conditions of the large intestine with peristaltic mixing, water absorption and absorption of fermentation products. *Appl Microbiol Biotechnol* **53**, 108–114. <https://doi.org/10.1007/S002530051622>

Misselwitz B, Pohl D, Frühauf H, Fried M, Vavricka SR, Fox M (2013) Lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and treatment. *United Eur Gastroent J* **1**, 151. <https://doi.org/10.1177/2050640613484463>

Muñoz-Tamayo R, Laroche B, Walter É, Doré J, Leclerc M (2010) Mathematical modelling of carbohydrate degradation by human colonic microbiota. *J Theor Biol* **266**, 189–201. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2010.05.040>

Nguyen Quang M, Rogers T, Hofman J, Lanham AB (2019) Global sensitivity analysis of metabolic models for phosphorus accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal. *Front Bioeng Biotechnol* **7**, 234. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00234>

NIAID-Sponsored Expert Panel, Boyce JA, Assa'ad A, Burks AW, Jones SM, Sampson HA, i sur. (2010) Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States: report of the NIAID-sponsored expert panel. *J Allergy Clin Immunol* **126**, S1–58.

<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.10.007>

Qian G, Mahdi A (2020) Sensitivity analysis methods in the biomedical sciences. *Math Biosci* **323**, 108306. <https://doi.org/10.1016/j.mbs.2020.108306>

Rolfe RD (2000) The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J Nutr* **130**. <https://doi.org/10.1093/JN/130.2.396S>

Sonnenburg JL, Angenent LT, Gordon JI (2004) Getting a grip on things: how do communities of bacterial symbionts become established in our intestine? *Nat Immunol* **5**, 569–573. <https://doi.org/10.1038/NI1079>

Storhaug CL, Fosse SK, Fadnes LT (2017) Country, regional, and global estimates for lactose malabsorption in adults: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol* **2**, 738–746. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(17\)30154-1](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(17)30154-1)

Suau A, Bonnet R, Sutren M, Godon JJ, Gibson GR, Collins MD, i sur. (1999) Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Appl Environ Microbiol* **65**, 4799–4807. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.11.4799-4807.1999>

Swallow DM (2003) Genetics of lactase persistence and lactose intolerance. *Annu Rev Genet* **37**, 197–219. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.37.110801.143820>

Szilagyi A (2002) Review article: lactose--a potential prebiotic. *Aliment Pharmacol Ther* **16**, 1591–1602. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2036.2002.01321.X>

Szilagyi A, Ishayek N (2018) Lactose intolerance, dairy avoidance, and treatment options. *Nutrients* **10**, 1994. <https://doi.org/10.3390%2Fnu10121994>

Tap J, Mondot S, Levenez F, Pelletier E, Caron C, Furet JP, i sur. (2009) Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core. *Environ Microbiol* **11**, 2574–2584. <https://doi.org/10.1111/J.1462-2920.2009.01982.X>

Tratnik Ljubica, Božanić Rajka (2012) Mlijeko i mliječni proizvodi. Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.

Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, i sur. (2009) A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* **457**, 480–484. <https://doi.org/10.1038/NATURE07540>

USDA (2006) Composition of Foods Raw, Processed, Prepared USDA National Nutrient Database for Standard Reference, 19.izd. U.S. Department of Agriculture, Maryland.

USDA (2020) Dietary Guidelines for Americans (2020 – 2025). USDA – U.S. Department of Agriculture, [https://www.dietaryguidelines.gov/sites/default/files/2020-12/Dietary\\_Guidelines\\_for\\_Americans\\_2020-2025.pdf](https://www.dietaryguidelines.gov/sites/default/files/2020-12/Dietary_Guidelines_for_Americans_2020-2025.pdf) . Pristupljeno 2. kolovoza 2023.

USDHHS (2023) Dietary Reference Intakes. U.S. Department of Health and Human Service. <https://health.gov/our-work/nutrition-physical-activity/dietary-guidelines/dietary->

reference-intakes. Pristupljeno 10. kolovoza 2023.

Wang J, Ye J, Yin H, Feng E, Wang L (2012) Sensitivity analysis and identification of kinetic parameters in batch fermentation of glycerol. *J. Comput. Appl. Math* **236**, 2268–2276. <https://doi.org/10.1016/j.cam.2011.11.015>

Wilkinson MHF (2002) Model intestinal microflora in computer simulation: a simulation and modeling package for host-microflora interactions. *IEEE Trans Biomed Eng* **49**, 1077–1085. <https://doi.org/10.1109/TBME.2002.803548>

Wolfram S (2003) *The Mathematica Book*, 5.izd. Wolfram Media, Inc., Champaign.

Wolfram (2023a) Wolfram Neural Net Repository of Neural Network Models. <https://resources.wolframcloud.com/NeuralNetRepository/>. Pristupljeno 1. kolovoza 2023.

Wolfram (2023b) WSTP (Wolfram Symbolic Transfer Protocol). <https://www.wolfram.com/wstp/>. Pristupljeno 1. kolovoza 2023.



## IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja Ines Pranjić izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

---

Vlastoručni potpis