

AUTOREFERAT

1. Imię i nazwisko

Barbara Pliszka

2. Posiadane stopnie naukowe

Doktor nauk rolniczych w dyscyplinie agronomia Akademii Rolniczo-Technicznej (obecnie Uniwersytet Warmińsko-Mazurski) w Olsztynie, 23 października 1992 roku na podstawie rozprawy pt. „Badanie struktury chlorofilu z kationami metali przejściowych”, promotor dr hab. Feliks Karczyński, prof. AR-T (UWM).

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

2012 - obecnie	Asystent - Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Katedra Chemii
2000 - 2011	Adiunkt - Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Katedra Chemii
1993 - 2000	Adiunkt - Akademia Rolniczo-Techniczna w Olsztynie, Wydział Rolniczy, Katedra Chemii
1984 - 1993	Asystent - Akademia Rolniczo-Techniczna w Olsztynie, Wydział Rolniczy, Katedra Chemii

4. Wskazane osiągnięcie w rozumieniu art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm., Dz. U. z 2011 r. nr 204, poz. 1200):

a) tytuł osiągnięcia naukowego

„Bioaktywne związki polifenolowe, kwas askorbinowy i składniki mineralne występujące w owocach czterech odmian bzu czarnego (*Sambucus nigra* L.)” - jest monografią.

b) autor, rok wydania, nazwa wydawnictwa:

Barbara Pliszka, 2013, Wydawnictwo Uniwersytetu Warmińsko Mazurskiego w Olsztynie

c) omówienie celu naukowego ww. pracy i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania:

Wprowadzenie

Bez czarny jest rośliną uprawianą w Danii, Niemczech, Rumunii, Słowacji i USA. Natomiast w Polsce jest jeszcze mało rozpowszechniony, a dotychczasowe badania nad nim mają charakter fragmentaryczny. Istnieje więc potrzeba wzbogacenia tej wiedzy, ponieważ bez czarny w przyszłości może uzupełnić asortyment roślin uprawianych w ogrodnictwie.

Zawartość związków polifenolowych, kwasu askorbinowego i składników mineralnych występujących w owocach bzu czarnego zależy od wielu czynników: warunków przyrodniczych i glebowych, technologii uprawy (zabiegów agrotechnicznych, odmiany) oraz sposobu przechowywania i przetwarzania surowca.

Przemysł farmaceutyczny, spożywczy i przechowalnictwo oczekuje szczegółowej wiedzy na temat właściwości fizykochemicznych ekstraktów z owoców bzu czarnego, ich jakości mikrobiologicznej oraz stabilności antocyjanów w ekstraktach. Ponadto dąży się do tego, aby zawartość antocyjanów była stabilna w czasie przetwarzania surowca. W dostępnej literaturze mało jest też informacji na temat zależności między zawartością związków polifenolowych i kwasu askorbinowego a właściwościami przeciwutleniającymi owoców oraz zależności między zawartością związków polifenolowych a zawartością składników mineralnych w owocach bzu czarnego.

Publikacja jest próbą poszerzenia wiedzy na temat związków i składników biologicznie aktywnych, występujących w owocach bzu czarnego.

Badania przedstawione w pracy miały na celu:

- ocenę zawartości związków polifenolowych, kwasu askorbinowego i składników mineralnych w owocach bzu czarnego oraz właściwości przeciwutleniających owoców, z uwzględnieniem wpływu warunków atmosferycznych, stanowiska uprawy i odmiany,
- analizę stabilności antocyjanów w ekstraktach i jakości mikrobiologicznej ekstraktów z owoców bzu czarnego,
- określenie zależności między zawartością związków polifenolowych i kwasu askorbinowego a właściwościami przeciwutleniającymi owoców oraz zależności między zawartością związków polifenolowych a zawartością składników mineralnych (Ca, Mg, Zn i Fe) w owocach bzu czarnego.

Część teoretyczna

Na początku tej części publikacji opisano reaktywne formy tlenu (RFT) i reaktywne formy azotu (RFA), a szczególnie niebezpieczne dla organizmu wolne rodniki. Wolne rodniki są bardzo reaktywne i na ogół „żyją” przez ułamek sekundy, reagując z białkami czy lipidami powodują zmiany w strukturze komórek i tkanek. Powstają pod wpływem różnych czynników środowiska. Chociaż organizm człowieka ma własny system obrony przed wolnymi rodnikami (enzymy antyoksydacyjne), to jednak musi być wzmacniany przez antyoksydanty pochodzące z żywności, np. związki polifenolowe występujące w owocach i warzywach.

W kolejnej części pracy scharakteryzowano związki polifenolowe określane jako naturalne substancje nieodżywcze (NSN), powstałe w wyniku wyspecjalizowanej przemiany materii. Zadaniem ich jest ochrona gatunków przed czynnikami zagrażającymi ich przetrwaniu w niesprzyjających warunkach. Szczególną uwagę zwrócono na antocyjany jako jedną z największych i najważniejszych grup barwników roślinnych, która występuje w kwiatach, owocach i warzywach. Opisano właściwości antocyjanów, ich stabilność i zastosowanie jako naturalne barwniki spożywcze (E 163). Omówiono również inną ważną grupę związków polifenolowych - kwasy fenolowe, które m.in. pełnią ważną funkcję ochronną w okresie wzrostu i dojrzewania ziaren oraz owoców, aż do ich dojrzałości konsumpcyjnej. W organizmie człowieka wykazują zróżnicowaną aktywność biologiczną.

Wyjaśniono na czym polega aktywność przeciwutleniająca, jaką wykazują związki polifenolowe w roślinach, i od czego ona zależy. Różnice we właściwościach przeciwutleniających zależą głównie od struktury związków polifenolowych, ich zawartości, oraz wzajemnego oddziaływania. Podkreślono w pracy, że ekstrakty otrzymane z owoców mają na ogół lepsze właściwości przeciwutleniające, aniżeli większość czystych polifenoli czy witamin. Może to być wynikiem synergistycznego oddziaływania przeciwutleniaczy względem siebie, czyli sumowania się działania różnych składników biologicznie czynnych. Zwrócono uwagę, że związki polifenolowe wykazują również właściwości antimikrobiologiczne oraz mogą hamować wzrost takich mikroorganizmów jak bakterie, pleśnie i pierwotniaki w produktach roślinnych.

Oprócz związków polifenolowych opisano kwas askorbinowy, który jest ważnym przeciwutleniaczem, chociaż charakteryzuje się mniejszą aktywnością antyoksydacyjną niż związki polifenolowe. Kwas askorbinowy ma działanie terapeutyczne i zabezpieczające przed wieloma chorobami.

Omówiono w pracy składniki mineralne, które są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka i dlatego powinny być dostarczone w odpowiednich

ilościach z pożywieniem. Dzieli się je na makroelementy (np. wapń, magnez) oraz mikroelementy (np. cynk, żelazo).

Charakterystykę bzu czarnego przedstawiono w publikacji pod względem występowania, rozpowszechnienia w uprawie, wymagań glebowych i temperaturowych. Podkreślono, że odmiany szlachetne bzu czarnego uprawiane w warunkach przyrodniczych Olsztyna charakteryzowały się wyższym plonem i lepszymi cechami morfologicznymi owoców, w porównaniu do form dziko rosnących. Opisano skład chemiczny owoców bzu czarnego i jego właściwości prozdrowotne.

Część doświadczalna

W części doświadczalnej pracy opisano materiał badawczy - owoce bzu czarnego (*Sambucus nigra* L.) czterech odmian: Alleso, Korsor, Sampo i Samyl, pochodzące z doświadczenia polowego prowadzonego na dwóch stanowiskach uprawy w latach 2004-2006. Doświadczenie było założone przez Katedrę Ogrodnictwa w Ogrodzie Zakładu Dydaktyczno-Doświadczalnego Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. W pracy scharakteryzowano warunki glebowe i atmosferyczne podczas prowadzenia doświadczenia. Stanowisko S1 o glebie klasy R-IVa charakteryzowało się większą zawartością próchnicy i składników pokarmowych aniżeli stanowisko S2 o glebie klasy R-V. Opracowanie warunków atmosferycznych w okresie badań (temperatura powietrza, temperatura przy gruncie, opady i nasłonecznienie) dokonano na podstawie wyników pomiarów prowadzonych przez Instytut Meteorologii i Gospodarki Wodnej w Olsztynie.

W części doświadczalnej publikacji przedstawiono wyniki zawartości związków polifenolowych (fenole ogółem, antocyjany, flawonole i fenylopropanoidy), kwasu askorbinowego i składników mineralnych w owocach bzu czarnego oraz właściwości przeciwutleniających owoców. W tej części pracy zostały zawarte wyniki dotyczące stabilności antocyjanów w ekstraktach oraz jakości mikrobiologicznej ekstraktów z owoców bzu czarnego. Opisano również współzależności między zawartością związków bioaktywnych, składników mineralnych i właściwościami przeciwutleniającymi owoców. W metodyce badań zwrócono uwagę, że do analizy jakościowej i ilościowej związków polifenolowych w owocach bzu czarnego zastosowano metodę HPLC, a pozostałe badania przeprowadzono metodą spektrofotometryczną i pehametryczną. Jakość mikrobiologiczną ekstraktów określono wykonując posiewy bezpośrednie i po inkubacji do selektywnego podłoża YGC-agar.

Zawartość związków polifenolowych w owocach bzu czarnego

W pierwszym etapie badań została przeprowadzona identyfikacja jakościowa i ilościowa związków polifenolowych w owocach bzu czarnego. Analiza metodą HPLC wykazała, że w składzie związków polifenolowych znajdowały się glikozydy cyjanidyny oraz pochodne kwercetyny i kwasu cynamonowego. W grupie glikozydów cyjanidyny dominowały: 3-sambubiozyd cyjanidyny, 3-glukozyd cyjanidyny, 3-sambubiozydo-5-glukozyd cyjanidyny oraz 3,5-diglukozyd cyjanidyny. Do grupy o większej zawartości antocyjanów w owocach zaliczono odmiany Samyl i Korsor. W owocach odmiany Samyl zawartość obu głównych glikozydów cyjanidyny była zbliżona (wynosiła ok. 50%), natomiast w owocach odmiany Korsor, 3-glukozyd cyjanidyny stanowił 64% zawartości antocyjanów. Do grupy o mniejszej zawartości antocyjanów w owocach zaliczono odmiany Alleso i Sampo, w których znajdowało się ok. 52% 3-sambubiozydu cyjanidyny i 45% 3-glukozydu cyjanidyny. Największą zawartością pochodnych kwercetyny i kwasu cynamonowego wyróżniały się owoce odmiany Alleso. Ogólnie małą zawartość tych związków stwierdzono w owocach odmiany Sampo. Z doniesień literaturowych wynika, że dla tych samych odmian bzu czarnego uzyskano częściowo odmienną charakterystykę glikozydów cyjanidyny oraz pochodnych kwercetyny i kwasów cynamonowych w owocach. Zróżnicowanie w składzie i zawartości związków polifenolowych występujących w owocach przypisuje się różnym czynnikom. Może to być wynikiem oddziaływania genotypu, jak i czynników środowiska (światła, temperatury, opadów).

Przy rozpatrywaniu efektów głównych czynników doświadczenia stwierdzono, że zawartość fenoli ogółem, antocyjanów, flawonoli i fenylopropanoidów oraz wzajemna proporcja antocyjanów do fenoli ogółem w owocach bzu czarnego (współczynnik A_W/TP) zależała w sposób istotny od lat badań, stanowiska uprawy i odmiany.

Zawartość związków polifenolowych (fenole ogółem, antocyjany, flawonole, fenylopropanoidy) i współczynnika A_W/TP w owocach była zróżnicowana w latach. W roku 2004, chłodniejszym i wilgotnym, owoce bzu czarnego charakteryzowała mała zawartość fenoli ogółem i barwnych antocyjanów, natomiast duża była zawartość flawonoli i fenylopropanoidów. W latach 2005 i 2006, cieplejszych, z okresowo pojawiającą się suszą i o dużym nasłonecznieniu, wzrosła zawartość fenoli ogółem i antocyjanów, natomiast zmniejszyła się zawartość flawonoli i fenylopropanoidów. Wartość współczynnika A_W/TP była najwyższa w owocach bzu czarnego uprawianego w roku 2005, w którym to udział antocyjanów w ogólnej zawartości fenoli był największy w owocach bzu czarnego.

Z doniesień literaturowych wynika, że zawartość antocyjanów wzrasta wraz z dojrzewaniem owoców i zwiększeniem intensywności ich wybarwienia się, natomiast zawartość fenoli ogółem i flawonoli kształtuje się różnie w dojrzałych owocach, w zależności od gatunku owoców. Zawartość kwasów fenolowych (fenylopropanoidy) na ogół maleje wraz z pojawieniem się dojrzałości konsumpcyjnej owoców, co wiąże się sensorycznie z odczuwanym zmniejszeniem cierpkości tych owoców.

Ważnym czynnikiem wpływającym na zawartość związków polifenolowych było stanowisko uprawy. Więcej związków polifenolowych zawierały owoce roślin rosnących na glebie zasobniejszej w próchnicę i składniki pokarmowe, klasy R-IVa (S1) aniżeli na glebie uboższej w te składniki, klasy R-V (S2). Owoce roślin uprawianych na stanowisku S2 wykazywały około 50% niższą zawartość fenoli ogółem i antocyjanów. Jednocześnie w tych owocach zawartość fenylopropanoidów była mniejsza około 10%, a flawonoli 4%. Zawartość związków polifenolowych w owocach, oprócz zawartości flawonoli, uzależniona była od odmiany we współdziałaniu ze stanowiskiem uprawy i sezonem wegetacyjnym. Wpływ stanowiska uprawy był na ogół największy w przypadku owoców odmiany Samyl i równie duży w przypadku owoców odmiany Korsor, przy czym należy podkreślić, że owoce tych odmian wyróżniały się dużą zawartością fenoli ogółem, antocyjanów i fenylopropanoidów. Stanowisko uprawy w niewielkim stopniu modyfikowało wzajemną proporcję antocyjanów do fenoli ogółem (A_w/TP) w owocach bzu czarnego. Warto podkreślić, że wcześniejsze badania wskazywały, że odmiany bzu czarnego i formy dziko rosnące na glebie żyzniejszej dawały wyższy plon i lepszą jego jakość.

Oceniając z kolei wpływ odmiany na zawartość związków polifenolowych w owocach (średnio dla lat badań i stanowisk uprawy) stwierdzono, że owoce odmiany Samyl charakteryzowały się największą zawartością fenoli ogółem i antocyjanów, natomiast owoce odmiany Alleso najmniejszą. Zawartość flawonoli była większa w przypadku owoców odmian Korsor i Samyl aniżeli owoców odmian Alleso i Sampo. Natomiast zawartość fenylopropanoidów w owocach ocenianych odmian była niższa w odmianie Alleso, aniżeli w pozostałych odmianach. Dla porównania można podać, że w warunkach klimatu Danii, wyróżniającą się odmianą pod względem zawartości antocyjanów w owocach była odmiana Sampo, natomiast najniższą wartość omawianego wskaźnika miały także owoce odmiany Alleso.

Zawartość kwasu askorbinowego w owocach bzu czarnego

Kolejną cechą owoców, rozpatrywaną jako efekty główne doświadczenia, była zawartość kwasu askorbinowego. Największą zawartością kwasu askorbinowego odznaczały się owoce w pierwszym roku doświadczenia, istotnie mniejszą - w ostatnim, a najmniejszą - pochodzące z drugiego roku badań. Wpływ na zawartość kwasu askorbinowego w owocach bzu czarnego miały warunki atmosferyczne. W chłodniejszym roku 2004, zawartość kwasu askorbinowego w owocach była największa a najmniejsza w pozostałych cieplejszych latach. Wysoka temperatura i duże nasłonecznienie w latach 2005-2006 wpływały korzystnie na dojrzewanie i wybarwienie się owoców, natomiast nie sprzyjały powstawaniu kwasu askorbinowego w owocach. Na ogół wysoka temperatura i duża intensywność światła prowadzi do gromadzenia się większych ilości tego związku w roślinach, natomiast wysoka temperatura w okresie poprzedzającym zbiór owoców może ograniczać gromadzenie się witaminy C w owocach. Dokładne wyjaśnienie przyczyn gromadzenia się kwasu askorbinowego w owocach bzu czarnego wymaga przeprowadzenia dokładniejszych badań z uwzględnieniem wielu czynników.

Owoce pochodzące ze stanowiska o glebie klasy R-V (S2) wykazywały istotnie wyższą zawartość kwasu askorbinowego niż owoce ze stanowiska o glebie klasy R-IVa (S1), mimo, że wpływ stanowiska uprawy (oceniany średnio dla sezonów badań i odmian) był relatywnie mały. Stanowisko uprawy w niewielkim stopniu modyfikowało zawartość kwasu askorbinowego w owocach bzu czarnego.

Oceniając wpływ odmiany na zawartość kwasu askorbinowego (średnio dla lat badań i stanowisk uprawy) stwierdzono, że największą zawartością tego związku wyróżniały się owoce odmiany Alleso, istotnie mniejszą - owoce Sampo, zaś istotnie najmniejszą - owoce Korsor i Samyl. Owoce odmiany Alleso charakteryzowały się największą zawartością kwasu askorbinowego i najmniejszą zawartością związków polifenolowych. Natomiast owoce odmian Samyl i Korsor wyróżniały się dużą zawartością związków polifenolowych a małą kwasu askorbinowego.

Zawartość kwasu askorbinowego w owocach zależy od takich czynników jak: gatunek, odmiana i stopień dojrzałości owoców, warunki klimatyczne, nawożenie, metody uprawy, warunki przechowywania i metody przetwarzania owoców.

Zawartość składników mineralnych w owocach bzu czarnego

Efekty główne czynników doświadczenia wykazały, że zawartość wapnia, magnezu i cynku w owocach bzu czarnego zależała w sposób istotny zarówno od lat badań, jak i stanowiska uprawy oraz odmiany. Zawartość tych składników w owocach była zróżnicowana w latach badań. Ogólnie, dużą zawartość wapnia i magnezu w owocach stwierdzono w roku 2004, a w kolejnych latach 2005 i 2006 zawartość wapnia była niska, natomiast zawartość magnezu była najwyższa w roku 2006. Zawartość cynku była większa w owocach zebranych w roku 2005 niż w pozostałych latach. Zawartość żelaza stwierdzono tylko w 2005 roku w owocach roślin rosnących na glebie żyzniejszej, klasy R-IVa (S1). W pozostałych latach badań zawartość Fe w owocach była poniżej czułości aparatury

Stanowisko uprawy miało istotny wpływ na kumulowanie się składników mineralnych w owocach bzu czarnego. Zawartość tych składników była istotnie większa w owocach roślin rosnących na glebie zasobniejszej w składniki pokarmowe, klasy R-IVa (S1), aniżeli na glebie mniej zasobnej, klasy R-V (S2). Zawartość cynku była niższa o około 60% w owocach roślin uprawianych na stanowisku S2 aniżeli w owocach pochodzących ze stanowiska S1. Jednocześnie była mniejsza zawartość wapnia o około 30% i magnezu o około 20% w owocach zebranych ze stanowiska S2. Zawartość składników mineralnych (Ca, Mg, Zn) w owocach była wynikiem współdziałania odmiany z sezonem badań i stanowiskiem uprawy roślin. Największy wpływ stanowiska uprawy stwierdzono w przypadku owoców odmiany Samyl - o dużej zawartości wapnia, oraz owoców odmiany Alleso - o dużej zawartości cynku.

Zbadano wpływ odmiany na zawartość wapnia, magnezu i cynku w owocach bzu czarnego (średnio dla dwóch pozostałych czynników doświadczenia). W owocach odmiany Samyl stwierdzono największą zawartość wapnia i magnezu, a najmniejszą cynku. Ogólnie dużą zawartością cynku a małą wapnia i magnezu charakteryzowały się owoce odmiany Alleso. Natomiast wyniki uzyskane w 2005 roku podczas oznaczania zawartości żelaza wskazują, że najwięcej tego składnika było w owocach odmiany Alleso a najmniej w owocach odmiany Samyl (wskaźnik ten był poniżej czułości aparatury pomiarowej).

Zawartość składników mineralnych nie jest liniowo zależna od ich zawartości w glebie ale jest wynikiem wzajemnych oddziaływań wielu czynników środowiska, np. pH gleby, zawartości składników pokarmowych, warunków atmosferycznych, a także genotypu.

Właściwości przeciwutleniające owoców bzu czarnego

Analizowano wpływ lat na aktywność antyoksydacyjną owoców bzu czarnego oznaczaną metodą ABTS (średnio dla dwóch pozostałych czynników doświadczenia). Stwierdzono, że aktywność antyoksydacyjna owoców oznaczona metodą ABTS była największa w 2006 roku, a najmniejsza w 2004, podobnie też kształtowała się zawartość fenoli ogółem w owocach. Właściwości przeciwutleniające owoców mają bezpośredni związek z zawartością fenoli ogółem i antocyjanów w owocach jagodowych. Ogólnie można stwierdzić, że owoce z dużą zawartością związków polifenolowych działają jako silne antyoksydanty.

Owoce roślin rosnące na glebie żyzniejszej (S1) miały większą aktywność antyoksydacyjną (w teście ABTS), podobnie jak zawartość związków polifenolowych, aniżeli na glebie mniej żyznej (S2). W roku badań 2005 aktywność antyoksydacyjna owoców zmalała w największym stopniu pod wpływem miejsca uprawy (ok. 17%) niż w dwóch pozostałych latach badań (ok. 8%).

Oceniono wpływ odmiany na zdolność neutralizacji wolnego rodnika ABTS^{®•+} w owocach (średnio dla lat badań i stanowisk uprawy). Odnotowano istotnie większą aktywność antyoksydacyjną owoców odmian Samyl i Korsor niż owoców odmian Alleso i Sampo. W dostępnej literaturze brakuje informacji na temat aktywności antyoksydacyjnej owoców ocenianych odmian.

Przy rozpatrywaniu efektów głównych czynników doświadczenia stwierdzono, że aktywność antyoksydacyjna owoców bzu czarnego oznaczona metodą DPPH nie zależała w sposób istotny od lat badań, stanowiska uprawy i odmiany. Analiza statystyczna nie wykazała interakcji badanych czynników na zdolność neutralizacji wolnego rodnika DPPH[•] w owocach bzu czarnego. Należy więc stwierdzić, że bez względu na sezon wegetacji, stanowisko uprawy i odmianę, aktywność antyoksydacyjna owoców bzu czarnego w teście DPPH kształtowała się podobnie. Owoce badanych odmian bzu czarnego cechowały się wysoką efektywnością „zmiatania” wolnych rodników DPPH[•], w granicach od 87,3% do 88,0%.

Stabilność antocyjanów w ekstraktach z owoców bzu czarnego

Parametrem określającym stabilność antocyjanów w ekstraktach jest wskaźnik rozpadu antocyjanów (DI). Jest on określany jako proporcja antocyjanów, które uległy rozpadowi, w stosunku do antocyjanów zawartych w całej próbce. Zwiększenie wartości wskaźnika DI oznacza obniżenie stabilności antocyjanów w badanej próbce.

Nie stwierdzono istotnych różnic w wartości wskaźnika rozpadu antocyjanów w ekstraktach z owoców ocenianych odmian (DI wynosił 1,033). Odnotowano natomiast istotny wzrost wartości DI w ekstraktach z owoców przechowywanych w warunkach chłodzenia. Średnia wartość DI wzrosła z 1,033 do 1,035, co wskazuje, że zmiany związane z rozpadem antocyjanów w ekstraktach z owoców bzu czarnego były stosunkowo małe. Wartość DI w ekstraktach z owoców bzu czarnego była najbardziej zbliżona do wyników własnych uzyskanych w ekstraktach z aronii, borówki amerykańskiej i jagody leśnej (DI wynosił odpowiednio 1,025, 1,033 i 1,019). Na podstawie analizy HPLC stwierdzono, że w grupie antocyjanów dominującymi glikozydami były: 3-sambubiozyd cyjanidyny i 3-glukozyd cyjanidyny, które prawdopodobnie decydowały o stabilności barwników antocyjanowych. Większość owoców zawiera mieszaninę kilku różnych antocyjanów, z których jeden lub dwa dominują, decydując o stabilności barwy.

Jakość mikrobiologiczna ekstraktów z owoców bzu czarnego

Podczas badania stabilności antocyjanów w ekstraktach z owoców bzu czarnego przechowywanych w warunkach chłodzenia, pojawiły się kolonie drobnoustrojów, dlatego ekstrakty poddano badaniom mikrobiologicznym. Posiewy bezpośrednie i po inkubacji pozwoliły stwierdzić stopień zanieczyszczenia ekstraktów drobnoustrojami (bakterie, pleśnie i drożdże). Nie stwierdzono żywych form wegetatywnych bakterii (*Bacillus sp.*), można więc przypuszczać, że ekstrakty z owoców bzu czarnego działały hamująco na rozwój bakterii, ze względu na obecność flawonoli (pochodne kwercetyny). W ekstraktach z owoców bzu czarnego wykryto drobnoustroje z rodzaju pleśni (*Penicillium sp.* i *Aspergillus sp.*) i drożdży (*Rhodotorula sp.*, *Torulopsis sp.*, *Trichosporon sp.* i *Saccharomyces sp.*). Zarodniki *Penicillium sp.* i *Aspergillus sp.* przenoszone są z ruchami powietrza i stanowią najczęstsze zanieczyszczenia wszystkich surowców spożywczych, jak również materiałów, opakowań i pomieszczeń. Drożdże z rodzaju *Torulopsis sp.*, *Trichosporon sp.* i *Saccharomyces sp.* miały swoje źródło w owocach bzu czarnego, a drożdże z rodzaju *Rhodotorula sp.* występowały w powietrzu i tą drogą często zanieczyszczały surowce i produkty spożywcze.

Wartości pH ekstraktów zwiększyła się istotnie w czasie inkubowania w przypadku owoców odmian Korsor i Samyl, natomiast w przypadku owoców odmian Alleso i Sampo wartość tego wskaźnika była zbliżona do wartości początkowej pH. Zmiany tego wskaźnika były relatywnie małe, co może świadczyć o niskim stopniu zanieczyszczenia ekstraktów drobnoustrojami. Intensywny rozwój drożdży i pleśni na ogół powoduje duże zmiany pH ekstraktów z owoców.

Ekstrakty z owoców bzu czarnego charakteryzowały się dużą stabilnością antocyjanów i niewielkim stopniem zanieczyszczenia drobnoustrojami. Można przypuszczać, że na właściwości ekstraktów miała wpływ nie tylko obecność związków polifenolowych ale również kwas cytrynowy użyty do ekstrakcji tych związków z owoców. Kwas cytrynowy zwiększa stabilność antocyjanów oraz zabezpiecza przetworzone owoce i soki przed patogenicznymi mikroorganizmami. Ponadto jest naturalnym antyoksydantem.

Korelacja między zawartością związków polifenolowych, kwasu askorbinowego a aktywnością antyoksydacyjną

Zawartość związków polifenolowych (fenoli ogółem, antocyjanów, flawonoli i fenylopropanoidów) w owocach bzu czarnego była ze sobą dodatnio skorelowana. Szczególnie wysoce istotna była zależność między zawartością fenoli ogółem a zawartością antocyjanów (r od 0,89 do 0,90), co znalazło potwierdzenie w badaniach wielu autorów. Wyniki zamieszczone w pracy wskazują na istotną zależność między zawartością antocyjanów a zawartością flawonoli i fenylopropanoidów (r od 0,44 do 0,58).

Właściwości przeciwutleniające owoców skorelowane były dodatnio z zawartością związków polifenolowych (w testach ABTS i DPPH). Spośród związków polifenolowych to głównie fenole ogółem i antocyjany determinowały aktywność antyoksydacyjną owoców (w 67%), natomiast udział flawonoli i fenylopropanoidów był o połowę mniejszy. Zależność między aktywnością antyoksydacyjną a zawartością fenoli ogółem i antocyjanów została stwierdzona przez autorów wielu prac, którzy prowadzili badania dla owoców jagodowych. Natomiast zależność między właściwościami przeciwutleniającymi a zawartością flawonoli i kwasów fenolowych w owocach jagodowych jest nadal mało poznana.

W niniejszych badaniach stwierdzono ujemną korelację między zawartością kwasu askorbinowego a zawartością związków polifenolowych i aktywnością antyoksydacyjną w owocach bzu czarnego. W literaturze nie ma jednoznacznego poglądu na temat zależności między zawartością kwasu askorbinowego a właściwościami przeciwutleniającymi owoców. Za właściwości przeciwutleniające owoców odpowiedzialne są głównie związki polifenolowe, natomiast udział kwasu askorbinowego w procesie antyoksydacyjnym jest niewielki. Właściwości przeciwutleniające owoców bzu czarnego, oznaczane dwiema metodami (ABTS i DPPH) były ze sobą istotnie skorelowane ($r = 0,55$), co wskazuje, że antyoksydanty zawarte w owocach posiadały zdolność wychwytywania wolnych rodników.

Analiza korelacji i regresji między zawartością związków polifenolowych a zawartością składników mineralnych

W dostępnej literaturze stosunkowo mało jest informacji na temat korelacji między zawartością związków polifenolowych a zawartością składników mineralnych w owocach jagodowych. Jednak ze względu na rolę, jaką składniki mineralne odgrywają w biosyntezie antocyjanów oraz tworzeniu z antocyjanami (flawonoidami) związków kompleksowych, badanie zależności między zawartością związków polifenolowych a zawartością składników mineralnych wydaje się uzasadnione. Wyniki uzyskane w niniejszej pracy wskazywały na istotną korelację między zawartością związków polifenolowych a zawartością wapnia, magnezu i cynku w owocach bzu czarnego. Takiej prawidłowości nie odnotowano jedynie między zawartością antocyjanów a zawartością magnezu i cynku. Współczynniki determinacji wskazują, że zawartość związków polifenolowych w owocach bzu czarnego była w największym stopniu uwarunkowana zawartością wapnia, w mniejszym stopniu zawartością magnezu, a w najmniejszym cynku. Mechanizmy wpływu składników mineralnych na syntezę związków polifenolowych w owocach są nadal mało znane i wymagają dalszych badań.

Wyniki badań zawartości i właściwości związków i składników bioaktywnych w owocach bzu czarnego mogą być przydatne w doborze odmian i opracowaniu warunków technologii przetwarzania surowca, w celu uzyskiwania wartościowszych produktów stosowanych w suplementacji żywności.

Podsumowanie

Stwierdzono, że w grupie antocyjanów zawartych w owocach bzu czarnego dominują glikozydy cyjanidyny: 3-sambubiozyd cyjanidyny, 3-glukozyd cyjanidyny, 3-sambubiozyd-5-glukozyd cyjanidyny oraz 3,5-diglukozyd cyjanidyny. W owocach odmian Alleso i Sampo przeważa zawartość 3-sambubiozydu cyjanidyny, a w przypadku owoców odmiany Korsor 3-glukozydu cyjanidyny, natomiast w owocach odmiany Samyl zawartość obu glikozydów cyjanidyny jest podobna. Największa zawartość pochodnych kwercetyny i kwasu cynamonowego występuje w owocach odmiany Alleso.

Wykazano, że owoce bzu czarnego zawierają więcej związków polifenolowych i składników mineralnych oraz mają wyższą aktywność antyoksydacyjną, gdy rośliny uprawiane są na glebie żyzniejszej. Wpływ stanowiska uprawy jest na ogół większy w owocach odmian wyróżniających się dużą zawartością związków polifenolowych i składników mineralnych. Owoce odmiany Samyl wyróżniają się wysoką zawartością

związków polifenolowych i aktywnością antyoksydacyjną, natomiast owoce odmiany Alleso mają dużą zawartość kwasu askorbinowego. Ponadto owoce odmiany Samyl charakteryzują się również wysoką zawartością wapnia i magnezu a niską cynku, natomiast owoce odmiany Alleso mają mało wapnia i magnezu a dużo cynku.

Stwierdzono, że antocyjany zawarte w ekstraktach z owoców bzu czarnego cechują się dużą stabilnością, niezależnie od odmiany. Duża stabilność antocyjanów w ekstraktach oraz mały stopień zanieczyszczenia ekstraktów drobnoustrojami zapewnia wysoką wartość surowca w przetwórstwie spożywczym i farmaceutycznym.

Wykazano, że w owocach bzu czarnego aktywność antyoksydacyjna jest dodatnio skorelowana z zawartością związków polifenolowych a ujemnie z zawartością kwasu askorbinowego, można więc przepuszczać, że za procesy oksydacyjno-redukcyjne w owocach bzu czarnego odpowiedzialne są głównie związki polifenolowe. Zawartość fenoli ogółem, antocyjanów, flawonoli i fenylopropanoidów w owocach bzu czarnego warunkowana jest w największym stopniu zawartością wapnia, co potwierdzają współczynniki determinacji.

5. Działalność naukowa

5.1. Główne osiągnięcia naukowe przed uzyskaniem stopnia doktora

5.1.1. Badanie biologicznych związków kompleksowych z jonami metali przejściowych

Po skończeniu studiów na Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu (kierunek chemia) w roku 1984, rozpoczęłam pracę w Katedrze Chemii Akademii Rolniczo-Technicznej w Olsztynie. Na początku pracy zawodowej w zespole dr. hab. prof. AR-T Feliksa Karczyńskiego podjęłam badania dotyczące biologicznie czynnych związków kompleksowych. Problem badawczy został sformułowany szeroko w nawiązaniu do nauk rolniczych. W związku ze stosowaniem dolistnego i doglebowego nawożenia mikroelementami w postaci koordynacyjnych kompleksów lub chelatów podjęto problem przyswajalności bioskładników przez roślinę w charakterze skoordynowanego nawozu. Praktyka rolnicza pokazała, że nawozy stosowane w postaci koordynacyjnych kompleksów prostych lub chelatów odznaczały się dużą skutecznością. Mikroelementy występujące w nawozach są najczęściej skompleksowane wielokleszczowym ligandem o charakterze biostymulatora.

Zasadniczym celem badań było zbadanie wpływu wielokleszczowego liganda na proces biosorpcji niektórych mikroelementów. Stwierdzono, że cząsteczki o budowie liniowej i płaskiej ulegają słabszej sorpcji fizycznej w środowisku glebowym niż cząsteczki (lub jony)

o budowie tetraedrycznej. Sorpcja fizyczna jest zależna od typu hybrydyzacji w cząsteczce i wzrasta najczęściej w kierunku sp , sp^2 , sp^3 (**A2.2; B2.7**). Realizację zasadniczego tematu rozpoczęłam od badań wstępnych. Jednym z nich była synteza kompleksów aminokwasów z jonami Cu(II) i Ni(II) i badanie ich rozpuszczalności z racemicznymi i optycznie czynnymi α aminokwasami (glicyna, walina, seryna). Uzyskane wyniki wskazywały, że rozpuszczalność badanych kompleksów w roztworach wodnych zależała od rodzaju i konfiguracji dodanego aminokwasu (**A2.1**). Badania przedstawione w pracach (**A1.1; B2.6**) dotyczyły rozdziału mieszanin izomerów α i β kompleksów aminokwasów z jonami Co(II) metodą chromatografii cienkowarstwowej oraz diastereoizomerycznych di- i tripeptydów poprzez ekstrakcję ich kompleksów z jonami Cu(II). Wyniki przedstawiające właściwości kompleksotwórcze mocznika i jego pochodnych z jonami Cr(III) zamieszczono w materiałach konferencyjnych (**A2.3**).

5.2. Rozprawa doktorska

W kolejnym etapie mojej pracy naukowej zainicjowałam badania dotyczące ustalenia warunków wymiany między jonami magnezu w strukturze chlorofilu a jonami metali przejściowych: Cu(II), Co(II), Ni(II), Fe(II). Chlorofil otrzymałam przez ekstrakcję zielonych liści wybranych roślin. Badania wykazały, że w środowisku kwaśnym ($pH=2$) następuje częściowe usunięcie jonów magnezu z układu porfirynowego, a do atomów azotu przyłączają się jony wodorowe, co powoduje powstanie nowej struktury cząsteczkowej związku. Tworzenie się kompleksów jonów metali z pochodną chlorofilu zależy od stężenia chlorofilu, stosunku molowego chlorofilu do jonów metali i pH roztworu. Największe właściwości kompleksotwórcze w stosunku do pochodnej chlorofilu wykazywały jony Cu(II). Uzyskane wyniki mogą mieć znaczenie w związku ze stosowaniem w procesie dolistnego dokarmiania roślin syntetycznych nawozów zawierających mikroelementy w postaci chelatów, które stosunkowo szybko przenikają przez tkanki roślin i wpływają w zróżnicowany sposób na procesy zachodzące w zielonych częściach liści. Wyniki przeprowadzonych badań stanowiły podstawę mojej rozprawy doktorskiej i zostały opublikowane w artykułach (**A1.2; A1.3; A2.4; B2.5**).

Dane literaturowe i wstępne badania doświadczalne prowadzone w latach 1985-1995 potwierdziły konieczność kontynuowania dalszych badań w wybranym kierunku, szczególnie uwzględniając wpływ struktury na proces tworzenia się złożonych związków kompleksowych z elementami składowymi roślin i przyswajalność niektórych mikroelementów. Podjęłam starania o finansowanie w KBN projektu badawczego pt. „Badanie składu i struktury

biologicznych i rolniczych związków chelatowych”. Jednak nie uzyskałam odpowiednich funduszy na ten cel i temat został zakończony w roku 1995.

5.3. Działalność naukowa po osiągnięciu stopnia doktora

5.3.1. Badanie związków kompleksowych antocyjanów z jonami Cu(II)

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk rolniczych nadal pracowałam w Katedrze Chemii AR-T, realizując swoje zainteresowania naukowe dotyczące związków biologicznie aktywnych występujących w roślinach. Powróciłam do tematu naturalnych związków kompleksowych podczas badania właściwości barwników antocyjanowych. Antocyjany, podobnie jak porfiryny, zawierają grupy funkcyjne zdolne do koordynacji jonu metalu. Ze względu na zdolności kompleksotwórcze, antocyjany mogą stanowić pewnego rodzaju biokatalizatory lub mogą być swoistymi nośnikami metali w różnych procesach i układach biologicznych. Fakt ten nabiera szczególnego znaczenia, jeśli rozpatrywać zjawisko chelatowania metali w aspekcie pierwiastków toksycznych.

W opublikowanych pracach (**B1.9; B2.15; B2.19**) przedstawiłam wyniki badań dotyczące oddziaływania jonów Cu(II) ze związkami antocyjanowymi zawartymi w ekstraktach z owoców aronii i w układzie modelowym z 3-glukozydem cyjanidyny. Z badań wynikało, że antocyjany (w tym 3-glukozyd cyjanidyny) w odpowiednich warunkach fizykochemicznych tworzą kompleksy z jonami Cu(II). Ekstrakty z owoców aronii mogą być „nośnikami” jonów Cu(II) w środowisku naturalnym.

Badania prowadzone przez autorów wielu prac donosiły, że 3-glukozyd cyjanidyny, który jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych antocyjanów występujących w wielu roślinach, jest absorbowany w formie niezmienionej przez organizm ludzki. Największa przyswajalność antocyjanów zachodzi w jelicie cienkim (pH 7.4), choć antocyjany w tym środowisku ulegają szybko przemianie pod wpływem bakterii. Przyswajalność antocyjanów może być zmniejszona w organizmie człowieka w wyniku nagromadzenia się jonów metali podczas skażenia środowiska. Utlenianie związków antocyjanowych przez jony metali odbywa się już na etapie produkcji i przechowywania żywności, dlatego jest to ważny problem zarówno w aspekcie technologicznym jak i medycznym, który postanowiłam podjąć w swoich badaniach.

Zbadałam stechiometrię i kinetykę tworzenia się związków kompleksowych 3-glukozydu cyjanidyny z jonami Cu(II) przy współpracy z Katedrą Fizyki i Biofizyki UWM. Wyniki badań wskazywały, że w czasie przebiegu całego procesu wiązania jonów Cu(II) do cząsteczki 3-glukozydu cyjanidyny zachodzą procesy „szybkie” i „wolne” (z różnymi stałymi

szybkości reakcji pierwszego rzędu). W procesie „szybkim” następuje bardzo szybkie przyłączenie jonu Cu(II), po czym zachodzą wolniejsze zmiany strukturalne w cząsteczce tego związku, prawdopodobnie jest to reakcja otwierania pierścienia C w cząsteczce 3-glukozydu cyjanidyny. Po obu tych przemianach w procesach „szybkich” zachodzi następny dużo wolniejszy proces związany prawdopodobnie z utlenianiem lub degradacją 3-glukozydu cyjanidyny (kinetyka „wolna”). Przeprowadzone badania zaowocowały powstaniem publikacji z wysokim Impact Factor i dużą liczbą cytowań (**B1.19**).

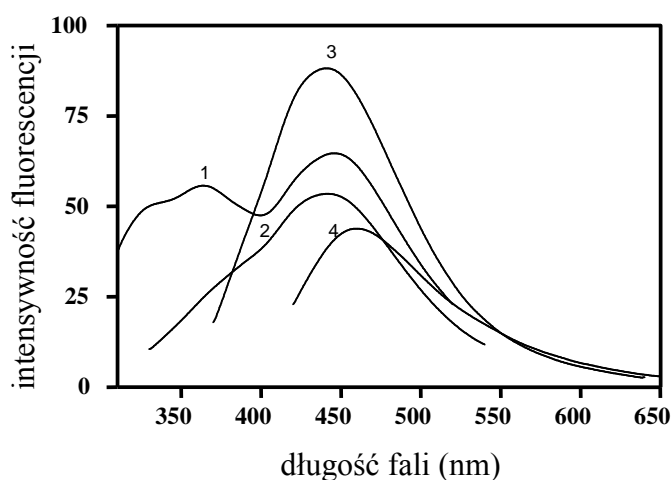
5.3.2. Analiza związków polifenolowych w ekstraktach roślinnych za pomocą spektroskopii absorpcyjnej, fluorescencyjnej i wysokosprawnej chromatografii ciekowej

W zespole Katedry Chemii oraz Katedry Fizyki i Biofizyki UWM została podjęta próba zastosowania fluorescencji, jako metody uzupełniającej spektroskopię absorpcyjną w analityce antocyjanów w ekstraktach roślinnych.

Zjawisko fluorescencji jest coraz częściej wykorzystywane w badaniach właściwości materiału roślinnego. Fluorescencję stosuje się zarówno w analityce jak i do badania procesów biochemicznych. Emisja światła przez cząsteczki, znajdujące się w odpowiednich warunkach fizykochemicznych, dostarcza bowiem szeregu bezpośrednich informacji na temat tego co się dzieje w badanej próbce na poziomie molekularnym. Sygnał fluorescencyjny informuje nie tylko o właściwościach badanych cząsteczek ale również o ich oddziaływaniu z otoczeniem. Stąd szereg właściwości środowiska, które nie wpływają na właściwości cząsteczek w stanie podstawowym (widma absorpcji) może ujawnić się w elektronowym stanie wzbudzonym, czyli zmieniać fluorescencję cząsteczek. To znacznie zwiększa czułość i selektywność metod fluorescencyjnych, w porównaniu z innymi metodami spektroskopowymi.

W dostępnej literaturze pojawiają się prace prezentujące wyniki systematycznych badań fluorescencji różnych grup flawonoidów. Wśród flawonoidów, stosunkowo silną i specyficzną fluorescencją charakteryzują się flawonole, co wyróżnia je z grupy innych flawonoidów. W naszym zespole postanowiliśmy zbadać metodą spektroskopii fluorescencyjnej związki antocyjanowe. Jako obiekt pierwszych badań wybrałam ekstrakty z kapusty czerwonej (*Brassica oleracea* L.). W badanym eksperymencie analizowałam związki antocyjanowe w ekstraktach z kapusty czerwonej przy różnych wartościach pH (2-7). Rezultaty badań spektralnych wskazują, że formy fluoryzujące antocyjanów (lub innych

związków zawartych w ekstraktach) zależą od pH środowiska. Właściwy dobór parametrów fluorescencji pozwala wyróżnić spektralnie dwa różne fluoryzujące związki antocyjanowe przy pH=2 i trzy różne fluoryzujące związki antocyjanowe przy pH=7 (**B1.5**). Prowadzone w tym temacie inne badania pozwoliły wyróżnić co najmniej dwa zakresy świecenia: fluorescencję krótkofalową ok. 360 nm i fluorescencję długofalową ok. 450 nm (rys. 1). Natomiast forma barwna antocyjanów o charakterystycznym paśmie absorpcji w zakresie widzialnym (530 nm) nie wykazywała fluorescencji (**B1.4; B1.5; B2.9**).

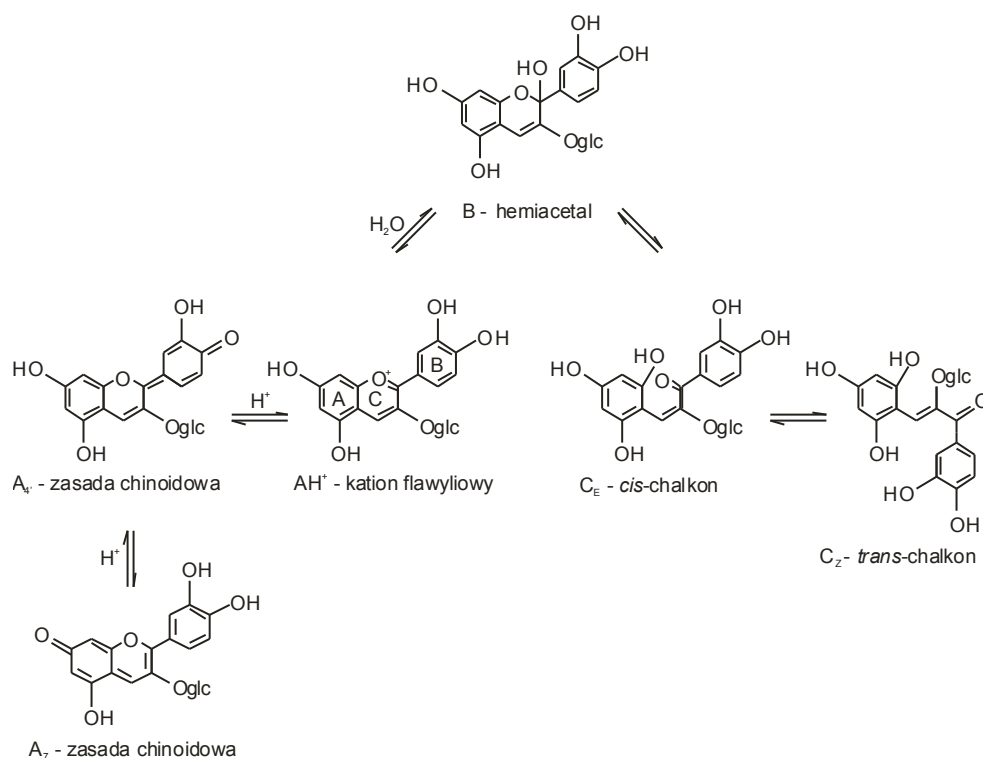


Rys. 1. Widma fluorescencji ekstraktów z czerwonej kapusty przy wzbudzeniu światłem o różnych długościach fal: $\lambda_{wzb}=280$ nm → krzywa 1; 300 nm → krzywa 2; 340 nm → krzywa 3; 390 nm → krzywa 4

Były to jedne z pierwszych badań związków antocyjanowych metodą spektroskopii fluorescencyjnej, co zaowocowało powstaniem publikacji (**B1.4**) z wysokim Impact Factor i dużą liczbą cytowań oraz wygłoszeniem referatów i komunikatów na konferencjach naukowych (**B.2.8, B2.9; B2.10; B2.11; B2.12; B2.17**).

W kolejnych badaniach spektroskopia fluorescencyjna pozwoliła oszacować skuteczność zastosowanych rozpuszczalników w celu uzyskania ekstraktów z owoców zawierających formy fluoryzujące. Zawartość form fluoryzujących antocyjanów lub innych flawonoidów w ekstraktach z owoców w nieznacznym stopniu zależało od pH rozpuszczalnika użytego do ekstrakcji (**B2.16**). Natomiast wyniki badań przedstawione materiałach konferencyjnych (**B2.18**) wskazywały na charakterystyczną fluorescencję o $\lambda_{max}^fl \approx 300$ nm, którą można przyporządkować dla 3-glukozydu cyjanidyny.

Zastosowanie fluorescencji, jako metody uzupełniającej inne metody spektroskopowe do badania związków antocyjanowych w ekstraktach roślinnych, okazało się uzasadnione, dlatego postanowiłam kontynuować dalsze, szczegółowe badania dotyczące struktury antocyjanów. Eksperyment okazał się trudny ze względu na właściwości antocyjanów, które są związkami nietrwałymi w środowisku wodnym i ulegają odwracalnym przemianom powodującym istotne zmiany barwy roztworów. Przebieg tych procesów zależy przede wszystkim od struktury cząsteczki barwnika oraz od pH środowiska (rys. 2). W silnie kwaśnych roztworach o $\text{pH} < 0,5$ występuje tylko czerwony kation flawyliowy (AH^+). W miarę wzrostu pH udział barwnego kationu szybko maleje, a równocześnie rośnie udział bezbarwnej pseudozasady (B-hemiacetal), co powoduje zanik czerwonej barwy roztworu. W zakresie pH 4-6 dominującą formą jest więc bezbarwny B-hemiacetal, choć występują też niewielkie ilości zasady chinoidowej A_4 i A_7 oraz izomerycznych form chalkonu C_E i C_Z (rys. 2).



Rys. 2. Schemat zmian strukturalnych antocyjanów w środowisku wodnym

Badania form strukturalnych antocyjanów wskazywały, że kation flawyliowy (AH^+) nie fluoreskuje, natomiast bezbarwne formy cyjanidyno-3-glukozydu (B-hemiacetal, C_E i C_Z chalkon) pokazują fluorescencję w zakresie krótkofalowym w roztworach wodnych. Podobnie krótkofalowa fluorescencja była obserwowana dla 3,5-diglukozydu cyjanidyny

i 3,5-diglukozydu malwidyny w rozpuszczalniku binarnym. Efektem tych badań było wydanie publikacji (B1.12) z wysokim Impact Factor. Badania za pomocą analizy spektroskopii absorpcyjnej i fluorescencyjnej miały na celu poznanie właściwości biologicznych związków antocyjanowych i możliwości ich wykorzystanie w różnych gałęziach przemysłu, rolnictwie i ochronie środowiska.

Nawiązałam współpracę z Katedrą Biochemii Żywności UWM w celu identyfikacji związków antocyjanów rozdzielonych przy pomocy RP-HPLC. Podstawą identyfikacji było obliczenie wskaźników podobieństwa pochodnych widm UV głównych składników ekstraktu z aronii do pochodnych widm UV wzorców cyjanidyno-3-O-galaktozydu i cyjanidyno-3-O-arabinozydu. Badania wykazały, że wbrew opiniom publikowanym w literaturze, możliwe jest rozróżnienie widm UV związków zawierających identyczny chromofor (w przypadku badanych związków - aglikon cyjanidyny) i różniących się wyłącznie rodzajem reszty glikozydowej. Analiza statystyczna wyników wykazała, że najłatwiej można zidentyfikować antocyjany używając trzecich pochodnych widm (B1.8). Wyniki analizy jakościowej i ilościowej związków polifenolowych w ekstraktach z owoców i warzyw badanych metodą HPLC były również prezentowane w innych publikacjach (B1.7; B1.10; B1.20).

5.3.3. Badanie zawartości związków polifenolowych i składników mineralnych oraz aktywności antyoksydacyjnej w owocach i warzywach, z uwzględnieniem wpływu różnych czynników

Związki polifenolowe to naturalne substancje roślinne zwane metabolitami wtórnymi, które dzięki swojej aktywności biologicznej, wykorzystywane są jako leki i substancje działające ochronnie na zdrowie, dodatki do pasz dla zwierząt oraz naturalne środki ochrony roślin. Biologiczna aktywność substancji może zaznaczyć się tylko wtedy, gdy surowiec wykazuje odpowiednią ich zawartość. Zawartość substancji bioaktywnych w roślinie zależy od wielu czynników. W prowadzonych badaniach oceniałam zawartość związków polifenolowych i składników mineralnych oraz aktywność antyoksydacyjną w owocach i warzywach uwzględniając takie czynniki jak: odmiana, stanowisko uprawy, termin zbioru owoców i metody przetwarzania surowca.

W poszukiwaniu najlepszych źródeł związków polifenolowych stają się analizy odmianowe w obrębie poszczególnych gatunków. Przy współpracy z Katedrą Ogrodnictwa UWM, do badań wybrałam kapustę głowiastą czerwoną, której odmiany różnią się między sobą długością okresu wegetacji, jakością plonu i ogólną wartością biologiczną. Badałam zawartość związków antocyjanowych i ich aktywność antyoksydacyjną w ekstraktach z trzech

odmian kapusty głowiastej czerwonej (Koda, Haco POL i Kissendrup SWE). Czynnikiem, który różnicował zawartość antocyjanów i aktywność antyoksydacyjną była odmiana kapusty. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że kapusta odmiany Kissendrup SWE zawierała najwięcej antocyjanów, a najmniej kapusta odmiany Koda. Antocyjany wyodrębnione z kapusty odmiany Haco POL wykazywały największą aktywność przeciwutleniającą. Wskazano odmiany kapusty czerwonej przydatnej w przetwórstwie pod względem dużej zawartości antocyjanów i aktywności antyoksydacyjnej (**B1.16**).

W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie bzem czarnym (*Sambucus nigra* L.). W niedługiej przyszłości może on uzupełniać dotychczasowe, tradycyjne rośliny uprawiane w ogrodnictwie. Uprawy bzu czarnego odmian szlachetnych podjęła się Pani prof. Jadwiga Ważbińska z Katedry Ogrodnictwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, z którą nawiązałam współpracę. Prowadziłam badania zawartości związków polifenolowych i ich aktywności antyoksydacyjnej w owocach odmian bzu czarnego (Alleso, Korsor, Sampo i Samyl) oraz ekosystemach dziko rosnących. Uzyskane wyniki wskazywały, że największą zawartością antocyjanów odznaczały się owoce odmiany Samyl, a najmniejszą owoce odmiany Alleso, natomiast zawartość fenoli ogółem była podobna w owocach czterech odmian bzu czarnego. Owoce form dziko rosnących odznaczały się mniejszą zawartością antocyjanów, w porównaniu do pozostałych odmian hodowlanych. Ekstrakty otrzymane z owoców poszczególnych odmian i form dziko rosnących wykazywały dużą aktywność antyoksydacyjną (**B1.10**).

W kolejnych badaniach dotyczących bzu czarnego oceniałam zawartość związków polifenolowych i makroelementów oraz aktywność antyoksydacyjną w owocach bzu czarnego form dziko rosnących na dwóch różnych stanowiskach uprawy. Eksperyment wykazał, że owoce bzu czarnego form dziko rosnących na stanowisku o glebie żyzniejszej charakteryzowały się większą zawartością związków polifenolowych i makroelementów oraz większą aktywnością antyoksydacyjną aniżeli owoce roślin uprawianych na stanowisku o glebie mniej żyznej (**B1.11; B1.17; B2.20; B2.25**). Mało jest badań odnośnie ekotypów form dziko rosnących na terenach nie skażonych, jakim jest województwo warmińsko-mazurskie. Przeprowadzone badania wykazały, że krzewy z tego terenu uprawiane na glebie zasobniejszej w składniki pokarmowe i próchnicę miały nie tylko dużą zawartość makroelementów w owocach ale również więcej baldachogron i liczbę owoców w baldachogronie, większy plon i masę owoców. Opracowania te zawierają charakterystykę najcenniejszych form dziko rosnących na terenie Pojezierza Warmińsko-Mazurskiego. Badania nad wyselekcjonowanymi ekotypami bzu czarnego form dziko rosnących zostały

opublikowane w oryginalnych pracach (**B1.13; B1.14**) oraz przedstawione w formie posterów na konferencjach naukowych (**B1.22; B1.24**).

Wyniki zaprezentowane w pracach (**B1.15; B1.21; B2.23**) donosiły, że największą zawartością związków polifenolowych charakteryzowały się owoce golterii rozesłanej i morwy czarnej zbierane w okresie pełnej ich dojrzałości. Niezależnie od terminu zbioru, ekstrakty otrzymane z tych owoców charakteryzowały się dużą zdolnością antyoksydacyjną. Ponadto w ekstraktach z owoców golterii rozesłanej zawartość takich biopierwiastków jak Mg, Fe i Zn nie zależała od terminu zbioru owoców.

Antocyjany a także towarzyszące im w naturalnych surowcach składniki mineralne (np. Ca, Mg, Zn, Fe) odznaczają się korzystnym oddziaływaniem na organizm człowieka. Antocyjany budzą duże zainteresowanie ze względu na właściwości przeciwutleniające, bakteriostatyczne i antykancerogenne, natomiast składniki mineralne są niezbędne do przebiegu wielu procesów enzymatycznych i komórkowych w organizmie człowieka. Dlatego barwniki antocyjanowe można wykorzystać jako dodatki do tzw. bezpiecznej żywności. Każda obróbka technologiczna owoców i warzyw powoduje wytrącenie się pierwiastków i zmniejszenie zawartości antocyjanów w materiale roślinnym. Seria publikacji (**B1.6; B1.18; B1.22; B.2.26; B2.27**) przedstawia wyniki badań zawartości antocyjanów i biopierwiastków w owocach i warzywach w zależności od metody przetwarzania surowca. Wyniki przedstawione w pracy (**B1.18**) wskazywały, że zawartość biopierwiastków, jak i antocyjanów w ekstraktach z owoców jagodowych, zależały od pH rozpuszczalnika użytego do ekstrakcji. Analizowane ekstrakty z aronii, czarnej porzeczki i truskawki zawierały znaczne ilości Ca, Mg i Zn, mogą więc stanowić tzw. nośniki tych biopierwiastków. W badaniach wskazano gatunki owoców z dużą zawartością antocyjanów i biopierwiastków (aronia) niezależnie od metody ekstrakcji. Na podstawie wyników przedstawionych w publikacji (**B1.22**) można stwierdzić, że zawartość Ca i Zn w kapuście czerwonej zależała od metody przygotowania materiału roślinnego do badań, natomiast zawartość Mg i Fe zależała od odmiany kapusty. Niezależnie od metody przygotowania materiału roślinnego (homogenizacja i ekstrakcja), odmiany kapusty czerwonej Kissendrup SWE i Koda charakteryzowały się największą zawartością Ca, Mg, Zn i Fe, natomiast odmiana Haco POL zawierała najmniejszą zawartość tych pierwiastków. Wyniki opublikowane w oryginalnych pracach (**B1.7; B1.10; B1.20**) podkreślały korzystny wpływ kwasu cytrynowego, zastosowanego do ekstrakcji, na zawartość związków antocyjanowych i ich aktywność antyoksydacyjną w ekstraktach z owoców i warzyw.

5.3.4. Analiza stabilności antocyjanów w ekstraktach i jakości mikrobiologicznej ekstraktów roślinnych

Pozostając w temacie związków polifenolowych występujących w roślinach, zainicjowałam badania dotyczące stabilności antocyjanów w ekstraktach oraz jakości mikrobiologicznej ekstraktów roślinnych. Stabilność antocyjanów zależy od budowy cząsteczki (glikozydacja, grupy hydroksylowe i metoksyłowe w cząsteczce aglikonu, acylowanie kwasami organicznymi). Na stabilność antocyjanów wpływają także czynniki środowiska (pH, cukry, enzymy, stężenie antocyjanów, kopigmenty, kwas askorbinowy, jony metali) oraz warunki zewnętrzne (temperatura, światło, dostęp tlenu). Antocyjany acylowane kwasami organicznymi wykazują dużo większą stabilność i nadają trwały kolor produktom żywnościowym niż antocyjany nieacylowane. Acylacja antocyjanów prowadzi nie tylko do wzrostu ich stabilności, ale i aktywności antyoksydacyjnej. Warzywem bogatym w antocyjany acylowane jest kapusta czerwona. W prowadzonych badaniach analizowałam skład ilościowy związków antocyjanowych, ich stabilność i właściwości przeciwutleniające w ekstraktach z kapusty czerwonej różnych odmian. Eksperyment wykazał, że stabilność i aktywność antyoksydacyjna antocyjanów w ekstraktach z kapusty czerwonej zależała od odmiany kapusty. Największą stabilnością i aktywnością antyoksydacyjną charakteryzowały się ekstrakty z kapusty odmiany Haco POL, a najmniejszą ekstrakty z odmiany Koda. Wśród zbadanych trzech odmian kapusty czerwonej odmiana Haco POL była najlepszym źródłem antocyjanów acylowanych. Wyniki przeprowadzonych badań opublikowano w czasopiśmie z wysokim Impact Factor i liczbą cytowań (**B1.20**).

Związki polifenolowe zawarte w owocach i warzywach wykazują nie tylko właściwości przeciwutleniające ale również właściwości antymikrobiologiczne. Związki te są zdolne hamować wzrost takich mikroorganizmów jak bakterie, pleśnie i pierwotniaki w produktach roślinnych. Związki z grupy flawonoli, np. kwercetyna, naringenina oraz flawony w największym stopniu hamują rozwój bakterii (m. in. *Bacillus sp.*). Antybakteryjne właściwości związków polifenolowych w ekstraktach roślinnych zależą od typu mikroorganizmów. W prowadzonych badaniach analizowałam stabilność antocyjanów w ekstraktach, jakość mikrobiologiczną i aktywność antyoksydacyjną ekstraktów z owoców jagodowych: aronii, jagody leśnej i borówki amerykańskiej. Największą stabilnością antocyjanów, a także największą proporcją antocyjanów do fenoli ogółem charakteryzowały się ekstrakty z jagody leśnej a najmniejszą z borówki amerykańskiej. Stabilność antocyjanów zmniejszała się podczas przechowywania ekstraktów w warunkach chłodzenia i mrożenia.

W ekstraktach z owoców jagodowych nie stwierdzono obecności bakterii natomiast wykryto niewielkie zanieczyszczenia drobnoustrojami typu drożdże i pleśnie (**B1.25**).

5.3.5. Badanie koagulacji i oczyszczania ścieków

Oprócz głównego nurtu badań związków biologicznie aktywnych występujących w roślinach, włączyłam się w prace Katedry Chemii nad zagadnieniami związanymi z badaniem wpływu polimerów organicznych na agregację cząstek w procesie koagulacji/flokulacji ścieków i układów modelowych za pomocą nieorganicznych koagulantów polimerycznych typu PAC oraz $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$. Efektem tych badań było powstanie dwóch oryginalnych publikacji (**B1.23**; **B1.24**). W roku 2013 oczekują do druku kolejne publikacje (**B1.26**; **B1.27**).

Barbara Pliszka