

Badania nad przeciwutleniającymi właściwościami miodu pszczelego

ELŻBIETA HOŁDERNA-KĘDZIA, BOGDAN KĘDZIA

Instytut Roslin i Przetworów Zielarskich, ul. Libelta 27, 61 707 Poznań

The Research Institute of Medicinal Plants, Libelta 27, 61 707 Poznań

Research on an antioxidant capacity of honeys

(Otrzymano: 25.05.2005)

S u m m a r y

Human organism is exposed to harmful action of free radicals which are produced as well endogenically as exogenically. The oxidation activity of free radicals can lead to the conversion of systemic biomolecules. As a consequence, there is a threat of, many severe diseases. Antioxidative agents which occur in natural products (also in honey) raise a possibility of protection against the harmful action of above mentioned radicals.

Polyphenolic compounds – flavonoids, phenolic acids and ascorbic acid – are the most important antioxidative agents. The research of many authors proves that honey, given orally, shows an antioxidative activity. The level of antioxidative agents in serum after the consumption of honey is high and surpasses the antioxidative activity of tea. Dark honeys (honeydew and heather) have considerably higher antioxidative activity in comparison to light ones (acacia, lime, polyfloral).

Key words: honeys, antioxidant capacity, polyphenolic compounds

ŹRÓDŁA I RODZAJE RODNIKÓW NADTLENKOWYCH

Organizm ludzki wytwarza wolne rodniki nadtlenkowe, zwane również wolnymi rodnikami, w różnych stanach fizjologicznych. Endogennym, wewnątrzustrojowym źródłem wolnych rodników nadtlenkowych jest oddychanie tkankowe, jednak wytworzone w tych warunkach utleniacze nie są dla organizmu zagrożeniem. Zagrożeniem są natomiast wolne rodniki nadtlenkowe powstające w stanach patologicznych, takich jak stany zapalne i zakażenia organizmu drobnoustrojami. Zakażenia wywołują reakcję obronną organizmu, polegającą na wytwarzaniu przez fagocyty,

makrofagi, monocyty, neutrofile i eozynofile dużych ilości wolnych rodników nadtlenkowych celem zniszczenia bakterii, grzybów, czy wirusów. Dochodzi do powstania tzw. wybuchu lub stresu tlenowego (*oxidative burst, oxidative stress*). Wytworzone w wyniku tego procesu wolne rodniki nadtlenkowe niszczą drobnoustroje powodujące zakażenie, uszkadzając równocześnie fagocyty i inne komórki obdarzone zdolnościami żernymi oraz otaczające je tkanki. Innym źródłem wolnych rodników nadtlenkowych są czynniki egzogenne, takie jak leki, alkohol, środki ochrony roślin, promieniowanie jonizujące i promieniowanie UV (Bartosz, 1995).

Znamy kilka grup wolnych rodników nadtlenkowych: nadtlenki, ponadnadtlenki, wolne rodniki wodorotlenowe i inne. Do najważniejszych nadtlenków zalicza się rodnik nadtlenkowy (O_2^{\cdot}) i nadtlenek wodoru (H_2O_2); do ponadnadtlenków anionorodnik ponadtlenkowy ($O^{\cdot-}$); do wolnych rodników wodorotlenowych rodnik wodorotlenowy ($\cdot OH$). Z pozostałych wolnych rodników nadtlenkowych duże znaczenie odgrywają: rodnik ozonowy (O_3^{\cdot}) i nadtlenoazotan ($OOONO$) (Ball, 2001).

DZIAŁANIE RODNIKÓW NADTLENKOWYCH NA ORGANIZM CZŁOWIEKA

Silne działanie utleniające wolnych rodników nadtlenkowych stwarza zagrożenie dla wielu biomolekuł występujących w organizmie człowieka. Na pierwszy plan wysuwa się DNA, które pod wpływem wolnych rodników nadtlenkowych może ulegać przemianom. Mogą one zmieniać uszeregowanie zasad purynowych, tworzyć wiązania z białkiem i powodować pęknięcia łańcucha DNA. W białkach może nastąpić przemiana aminokwasów do nadtlenków, pochodnych karbonylowych i wodorotlenowych. Wolne rodniki ponadtlenkowe mogą także powodować peroksydację lipidów i przemianę kwasu moczowego do alantoiny i kwasu cyjanurowego. Do najbardziej reaktywnych i niebezpiecznych rodników nadtlenkowych należy rodnik wodorotlenowy ($\cdot OH$) i nadtlenoazotyn ($OOONO$) (Halliwell, 1999; Ball, 2001).

Wybuch tlenowy i aktywne formy tlenu są podłożem dla wielu poważnych schorzeń człowieka. Do najważniejszych chorób, przy powstawaniu których mają swój udział wolne rodniki ponadtlenkowe, zalicza się: chorobę Alzheimera, astmę oskrzelową, cukrzycę, zakażenia wirusowe, miażdżycę, niedokrwienie będące skutkiem ubocznym zabiegów chirurgicznych (serca, wątroby), ostre zapalenie trzustki, chorobę Parkinsona, rak wieku starczego i zaćmę starczą (Halliwell, 1997).

W tym kontekście ważną rolę odgrywają substancje przeciwutleniające, tzw. antyoksydanty lub zmiatacze wolnych rodników, które neutralizują szkodliwe działanie na organizm wolnych rodników ponadtlenkowych. Do najważniejszych substancji przeciwutleniających pochodzenia roślinnego zalicza się kwas askorbinowy (witaminę C), karotenoidy (prowitaminę A), tokoferol (witaminę E), flawonoidy, antocyjany, terpeny i kwasy fenolowe. Przeciwutleniacze te występują w owocach, warzywach i wielu surowcach zielarskich. Właściwości przeciwutleniające wykazuje także miód pszczeni, który jest produktem zwierzęcym, jednak zbieranym przez pszczoły z pożytków roślinnych, dzięki czemu zawiera on wiele substancji pochodzenia roślinnego, w tym substancji o charakterze przeciwutleniającym (Kähkönen i in., 1999; Ball, 2001; Pietrzycka i in., 2002).

SUBSTANCJE PRZECIWUTLENIAJĄCE WYSTĘPUJĄCE W MIODZIE

Do najważniejszych substancji przeciwutleniających, które występują w miodzie pszczelim, zalicza się: kwasy fenolowe (średnio $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), flawonoidy (średnio $9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), kwas askorbinowy (średnio $25 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), karotenoidy (średnio $0,05 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), kwasy aromatyczne (średnio $160 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), enzymy (oksydaza glukozy, katalaza, lizozym) (średnio $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), wolne aminokwasy (średnio $1.800 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) i białka (średnio $5.000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) (Kędzia i Hołderna-Kędzia, 2005).

Pierwsza wzmianka na temat przeciwutleniającego działania miodu pojawiła się w 1998 roku. Frenkel i in. (1998) stwierdzili, że miód odznacza się zróżnicowanym działaniem przeciwutleniającym, przy czym miody ciemne wykazywały zwykle większą aktywność przeciwutleniającą w porównaniu do miódów jasnych. Dla przykładu miód gryczany miał aktywność przeciwutleniającą na poziomie $59,2 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ (w przeliczeniu na kwas askorbinowy), natomiast miody nostrzykowy, sojowy, wierzbówkowy i akacjowy miały aktywność przeciwutleniającą odpowiednio na poziomie 6,7; 5,9; 5,4 i $2,5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Aktywność przeciwutleniającą określano *in vitro* przy użyciu 1,1-difenylo-2-pikrylohydrazidu (DPPH).

Późniejsze badania Gheldofa i Engesetha (2002), przeprowadzone inną metodą (z użyciem substancji utleniającej Troloks) potwierdziły wcześniejsze spostrzeżenia. Miód gryczany odznaczał się wysoką aktywnością przeciwutleniającą ($17,0 \mu\text{moli Troloksu na } 1 \text{ g}$) w porównaniu do miodu sojowego, nostrzykowego, wierzbówkowego i akacjowego (odpowiednio 8,3; 6,1; 3,1 i $3,0 \mu\text{moli Troloksu na } 1 \text{ g}$). Ponadto stwierdzono, że było to zależne od ogólnej zawartości polifenoli (głównie flawonoidów i kwasów fenolowych). Miód gryczany zawierał $795 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ polifenoli, sojowy 270, nostrzykowy 130, wierzbówkowy 60 i miód akacjowy $45 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ polifenoli.

WPŁYW ODMIANY MIODU NA JEGO DZIAŁANIE PRZECIWUTLENIAJĄCE

Własne badania (Hołderna-Kędzia i in., 2005) także potwierdziły większą aktywność przeciwutleniającą miódów ciemnych w porównaniu do miódów jasnych. Przy użyciu metody z odczynnikiem DPPH wykazano, że miód gryczany miał średnią aktywność przeciwutleniającą na poziomie $57,6 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, (w przeliczeniu na kwas chlorogenowy), miód spadziowy ze spadzi iglastej na poziomie 37,5, miód manuka (nowozelandzki) na poziomie 35,8 i miód wrzosowy na poziomie $26,4 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Natomiast odmiany jasne (miód akacjowy, lipowy, wielokwiatowy, nawłociowy) odznaczały się średnią aktywnością przeciwutleniającą na poziomie $25,0 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (w przeliczeniu na kwas chlorogenowy).

Interesujące są również badania Gheldofa i in. (2003) na ochotnikach otrzymujących miód pszczeli. Wykazano, że podawanie miodu gryczanego w postaci napoju (80 g miodu rozpuszczano w 500 ml wody) powodowało wzrost aktywności przeciwutleniającej surowicy krwi. Po 2 godzinach od wypicia wody z miodem zdolność wiązania rodników tlenowych (ORAC – oxygen radical absorbing capacity) w surowicy krwi ochotników wzrastała do $62 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, podczas gdy herbata Lipton

z miodem powodowała zwiększenie ORAC o $10 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, a herbata z cukrem (80 g cukru rozpuszczano w 500 ml herbaty) zmniejszała ORAC o $37 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Jest to o tyle zaskakujące, ponieważ w badaniach *in vitro* aktywność przeciwutleniająca wody z miodem wynosiła $0,9 \text{ }\mu\text{moli Troloksu}\cdot\text{ml}^{-1}$, herbaty z miodem 5,2, a herbaty z cukrem $4,3 \text{ }\mu\text{moli Troloksu}\cdot\text{ml}^{-1}$, natomiast ogólna zawartość polifenoli wynosiła odpowiednio 9, 321 i $304 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ napoju.

Schramm i in., (2003) podawali ochotnikom miód gryczany w ilości $1,5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ masy ciała i po 2 i 6 godzinach określali w ich surowicy krwi całkowite wiązanie wolnych rodników (TRAP – total radical trapping parameter). Okazało się, że miód gryczany o wysokiej aktywności przeciwutleniającej *in vitro* (zawierający 20 mg/kg kwasu hydroksybenzoesowego oraz $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ kwasu hydroksycynamonowego) oraz miód gryczany o niskiej aktywności przeciwutleniającej *in vitro* (zawierający $2,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ kwasu hydroksybenzoesowego i $2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ kwasu hydroksycynamonowego) podwyższyły TRAP w surowicy krwi po 2 godzinach od podania o 25,0 i 15,0%, a po 6 godzinach od podania jeszcze o 26,9 i 12,0%. Syrop kukurydźniany podawany ochotnikom w tych samych ilościach po 2 godzinach podwyższał TRAP o 3,7%, a po 6 godzinach od podania podwyższał TRAP zaledwie o 7,1%.

PODSUMOWANIE

Z przedstawionych badań wynika, że miód dzięki swoim właściwościom przeciwutleniającym może obniżyć w znacznym stopniu w organizmie poziom wolnych rodników ponadtlenkowych, tym samym zabezpieczając go przed powstawaniem ciężkich schorzeń o podłożu rodnikowym.

LITERATURA

- Ball S., 2001. Antyoksydanty w medycynie i zdrowiu człowieka. Wyd. Medyk, Warszawa: ss. 146.
- Bartosz B., 1995. Druga twarz tlenu. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa: ss. 350.
- Frenkel S., Robinson G. E., Berenbaum M. R., 1998. Antioxidant content and correlated characteristics of 14 monofloral honeys. J. Apic. Res. 37: 27-31.
- Gheldof N., Engeseth N. J., 2002. Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of *in vitro* lipoprotein oxidation in human serum samples. J. Agric. Food Chem. 50: 3050-3055.
- Gheldof N., Wang X. H., Engeseth N. J., 2003. Buckwheat honey increases serum antioxidant capacity in humans. J. Agric. Food Chem. 51: 1500-1505.
- Halliwel B., 1997. Antioxidants and human disease: a general introduction. Nutr. Rev. 55: 554-552.
- Halliwel B., 1999. Oxygen and nitrogen are pro carcinogenes. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: measurement, mechanism and the effects of nutrition. Mutat. Res. 443:37-52.

- Hołderna Kędzia E., Wójcik J., Kędzia B., 2005. Badania nad aktywnością antybiotyczną i działaniem przeciwutleniającym miodu. *Mat. XLII Nauk. Konf. Pszczel.*, Wyd. Pszczeln. Tow. Nauk., Puławy: 144-146.
- Kędzia B., Hołderna Kędzia E., 2005. Miód pszczeli we współczesnym lecznictwie. PWRiL, Warszawa: w druku.
- Kähkönen M. P., Hopia A.I., Vuorela H. J., Rauha J. P., Pihlaja K., Kyjala T. S., Heinonen M., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 47: 3954-3962.
- Pietrzycka A., Stępniewski M., Cieszkowska W., Janeczko Z., 2002. Właściwości antyoksydacyjne wybranych leków pochodzenia roślinnego. *Farm. Pol.* 58: 993-998.
- Schramm D. D., Karim M., Schrader H. R., Holt R. R., Cardetti M., Keen C. L., 2003. Honey with high levels of antioxidants can provide protection to healthy human subjects. *J. Agric. Food Chem.* 51: 1732-1735.

Streszczenie

Organizm ludzki narażony jest na szkodliwe działanie wolnych rodników nadtlenkowych, które wytwarzane są zarówno endogennie, jak i egzogennie. Działanie utleniające wolnych rodników nadtlenkowych może prowadzić do przemiany biomolekuł ustrojowych, co w konsekwencji grozi powstaniem wielu poważnych schorzeń. Substancje przeciwutleniające obecne w produktach naturalnych, w tym także w miodzie pszczelim, stwarzają możliwość ochrony przed szkodliwym działaniem wyżej wymienionych rodników.

Do najważniejszych substancji przeciwutleniających, które występują w miodzie, zalicza się związki polifenolowe, w tym flawonoidy, kwasy fenolowe i kwas askorbinowy. Badania wielu autorów dowodzą, że miód pszczeli wykazuje działanie przeciwutleniające po podaniu doustnym. Poziom substancji przeciwutleniających w surowicy krwi po spożyciu miodu jest wysoki i przewyższa działanie przeciwutleniające herbaty. Wykazano, że miody ciemne (spadziowy, wrzosowy) odznaczają się znacznie wyższą aktywnością przeciwutleniającą w porównaniu do miodów jasnych (akacjowy, lipowy, wielokwiatowy).

