

WPLYW STOPNIA ROZDROBNIENIA LIŚCI MORWY BIAŁEJ (*Morus alba* L.) NA AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCĄ PÓLPRODUKTÓW

Streszczenie

Liście morwy białej mają wysoki potencjał prozdrowotny, zwłaszcza dla diabetyków. Zabiegi przetwarzania tego surowca nie są jednak ujednolicone, co skutkuje dużym zróżnicowaniem jakościowym pomiędzy preparatami dostępnymi na rynku. Dokonano wyboru najlepszej formy liści morwy *Morus alba* odmiany Żółwińska Wielkolistna, pozwalającej na utrzymanie właściwości funkcjonalnych preparatów końcowych, na podstawie analizy ich aktywności przeciwutleniającej. Testom poddano liście 'całe', 'grube' (rozdrobienie 50-70 mm x 10-20 mm) i 'drobne' (rozdrobione 30-40 mm x 5-10 mm), które leżakowano (przez 1 lub 4 godziny) i suszono w temperaturze 30, 60 lub 90°C. Jako najlepsze wskazano preparaty otrzymane z liści 'grubo' rozdrobionych.

Słowa kluczowe: morwa biała (*Morus alba* L.), surowce roślinne, liście, aktywność przeciwutleniająca, suszenie, leżakowanie, rozdrabnianie, przetwarzanie liści, cukrzyca

Wstęp

Liście morwy białej (*Morus alba* L.) cenione są za walory prozdrowotne, wynikające z obecności związków bioaktywnych. Determinuje to ich wykorzystanie w profilaktyce i wspomaganiu leczenia chorób o podłożu cywilizacyjnym, szczególnie cukrzyca [1, 2]. Z liści morwy białej wyizolowano wiele cennych związków biologicznie aktywnych, w tym flawonoidów (m.in. rutynę, kempferol, 3-(6-malonylo)glukozyd kwercetyny, cyklomulberynę, morusynę), fenolokwasów (m.in. chlorogenowy, kawowy, galusowy, kumarowy, protokatechowy), katechin, stilbenów (chalkomoracyna, mulberozyd F, mulberofuran F), aldehydów (protokatechowy, syryngowy), steroidów (β -sitosterol, stigmasterol, ekdyzon), alkaloidów (1,5-dideoksy-1,5-imino-D-mannitol, izofagomina, kwas trans-5-hydroksypipekoliny), terpenoidów (loliolid, lupeol). Wysoki potencjał prozdrowotny przyczynił się do wykorzystania różnych części morfologicznych morwy w produkcji suplementów diety i żywności funkcjonalnej [3, 4]. Na rynku dalekowschodnim jest dostępna cała gama preparatów i produktów z morwy, lecz w Polsce jest ich niewiele i są to przede wszystkim suszone owoce, soki z owoców, herbatki z liści, kapsułki lub tabletki z ekstraktem z liści. Drzewo morwy białej uprawiane jest w różnych szerokościach geograficznych. Na terenie Polski znajdują się nie-liczne plantacje, a liście świeże dostępne są wyłącznie w okresie letnim [5]. W technologii przetwarzania, liście poddaje się rozdrabnianiu i suszeniu, co może wpływać na ich właściwości.

Celem pracy była ocena aktywności przeciwutleniającej ekstraktów z liści w zależności od sposobu ich przetwarzania, tj. rozdrabniania i suszenia.

Metodyka

Materiałem do badań były liście morwy białej (*Morus alba* L.) odmiany Żółwińska Wielkolistna podzielone na 3 grupy według stopnia rozdrobnienia: 'całe', 'drobne', 'grube' (tab. 1). Liście rozdrabniano w robocie kuchennym (Zelmer ZFP1002W), a separację rozdrobionych liści prowadzono na sitach.

Tab. 1. Warianty rozdrobnienia liści morwy białej
Table 1. Variants of shredding white mulberry leaves

Stopień rozdrobnienia	długość [mm]	szerokość [mm]
'całe' (LC)	120-170	110-130
'drobne' (LD)	30-40	5-10
'grube' (LG)	50-70	10-20

Zródło: opracowanie własne / Source: own study

Przygotowany materiał leżakowano w dwóch wariantach: przez 1 godzinę (1 h) i 4 godziny (4 h), w skali laboratoryjnej, układając liście w pryzmy o wysokości ok. 10-15 cm na blachach perforowanych. Próbę zerową stanowiły liście 'całe' nieleżakowane (0 h). Próby podzielono ponownie na 3 części i suszono w trzech wariantach: w temperaturze 30°C (w szafie termostacyjnej CL, Pol-Eko), 60°C (w piecu konwekcyjnym z nawiewem suchym CCC 61/02, Rational) lub 90°C (piekarnik z termoobiegiem Hotpoint, Ariston). Wyszuszony materiał roślinny zmielono w młynie nożowym (Retsch, model GM200, 4000 rpm/ 15 s) do proszku (od 0,8 mm do 0,08 mm). Do celów analitycznych wytworzono wodne ekstrakty (10 g liści - dwukrotna ekstrakcja po 15 min, 100 ml + 40 ml) [6]. Aktywność przeciwutleniającą określono następującymi testami: na zawartość związków redukujących ogółem z wykorzystaniem odczynnika Folina-Ciocalteu (ZwRed) [7] oraz na zdolności do inaktywacji rodnika DPPH (PRod). Wyniki przeliczano na suchą masę preparatu [8]. Analizę statystyczną wyników przeprowadzono w Statistica 13 (StatSoft), $\alpha=0,05$.

Wyniki badań i dyskusja

W określaniu aktywności przeciwutleniającej surowców roślinnych najpowszechniejszymi są testy z odczynnikami Folina-Ciocalteu i z rodnikiem DPPH [9]. Wyniki obu tych testów pokazały, że liście 'drobne' (LD) odznaczały się statystycznie istotnie niższą zawartością ZwRed oraz PRod wobec DPPH, w porównaniu z liśćmi całymi (LC), bez względu na warunki zabiegu leżakowania i suszenia (tab. 2). Preparaty 'grubo' rozdrobione (LG) charakteryzowały się zbliżoną do liści całych ZwRed i PRod (suszenie w 60°C) lub

Tab. 2. Zawartość ZwRed i P_{ROD} w ekstraktach z liści morwy białej (*Morus alba*) w zależności od sposobu leżakowania i suszenia
 Table 2. The content of the total reducing compounds (ZwRed) and the DPPH radical scavenging activity (P_{ROD}) of the extracts of white mulberry leaves - effect of the aging and the air-drying processes

Stopień rozdrobnienia	Temperatura suszenia	Czas leżakowania	ZwRed [mg GAE* ⁻¹ liści]		P _{ROD} DPPH* [mM TE* ⁻¹ liści]	
'całe'	30°C	0 h	4,714 ^h ± 0,190	AAA	7,498 ^e ± 0,326	BBB
	60°C	0 h	3,755 ^{ig} ± 0,072	AA	4,414 ^{cd} ± 0,183	B
	90°C	0 h	1,794 ^a ± 0,063	A	4,906 ^{cd} ± 0,251	BB
'drobne'	30°C	1 h	2,441 ^b ± 0,138	C	4,945 ^{cd} ± 1,593	EE
		4 h	3,278 ^{dei} ± 0,068	DD	5,130 ^d ± 0,482	FF
	60°C	1 h	3,132 ^{cd} ± 0,103	CC	3,970 ^{bcd} ± 0,694	EE
		4 h	1,846 ^a ± 0,431	D	1,965 ^a ± 0,183	F
	90°C	1 h	2,612 ^{bc} ± 0,248	C	2,862 ^{ab} ± 0,772	E
		4 h	1,773 ^a ± 0,455	D	2,231 ^a ± 0,247	F
'grube'	30°C	1 h	2,993 ^{cd} ± 0,131	G	4,036 ^{bcd} ± 0,053	JJ
		4 h	5,184 ^h ± 0,217	HH	7,116 ^e ± 0,491	KKK
	60°C	1 h	3,781 ^g ± 0,213	GG	4,751 ^{cd} ± 0,154	JJ
		4 h	3,513 ^{efg} ± 0,366	H	4,638 ^{cd} ± 0,688	KK
	90°C	1 h	2,897 ^{cd} ± 0,191	G	2,862 ^{ab} ± 0,150	J
		4 h	3,516 ^{efg} ± 0,356	H	3,834 ^{bc} ± 0,286	K

Objaśnienia: 0 h - preparaty z liści nieleżakowanych, 1 h - preparaty z liści leżakowanych przez 1 godzinę, 4 h - preparaty z liści leżakowanych przez 4 godziny; GAE - ekwiwalent kwasu galusowego; TE - ekwiwalent troloxu; a, b, c... - różne litery wskazują na istotne statystycznie różnice dla wszystkich wyników danego testu analitycznego w teście Tukeya (HSD) przy p ≤ 0,05; A, AA, AAA / C, CC, CCC/... - różne ilości takich samych liter wskazują na istotne statystycznie różnice w obszarze wariantu nimi oznaczonego w teście Tukeya (HSD) przy p ≤ 0,05.

Zródło: opracowanie własne / Source: own study

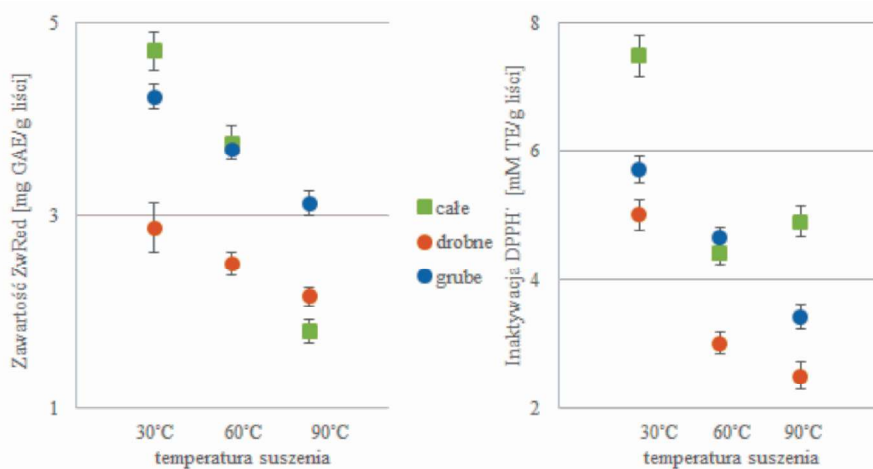
wyższą zawartością ZwRed (zwłaszcza warianty leżakowania przez 4 h i suszenia w 90°C). Ponadto w LG obserwowano mniejsze straty aktywności w efekcie działania wysokiej temperatury (90°C) niż LC. Dla porównania, podobnie suszone liście hiszpańskie, wykazywały 3-5 wyższą zawartość ZwRed niż omawiane próby liści polskich [10]. Obserwowane różnice między aktywnością przeciwutleniającą liści polskich a liści pochodzących z innych krajów, mogą wynikać ze stosowanego ekstrahenta. Na cele spożywcze zalecane jest wytwarzanie ekstraktów wodnych, jako najbezpieczniejszych do włączenia do produktów spożywczych.

Porównując ekstrakty pozyskane z liści rozdrobnionych, bez względu na dalszy sposób ich przetwarzania (tj. długości czasu leżakowania), preparaty LG uzyskały wyższe wartości niż LD w obu testach, co potwierdziła analiza wariancji (rys. 1). Rozdrabnianie powoduje zwiększenie powierzchni właściwej surowca dostępnej dla oddziaływania czynników egzo- i endogennych. Może to prowadzić do utleniania lub powstawania bardziej złożonych form kompleksów związków bio-

aktywnych. Należy zauważyć jednak, że w trakcie oddziaływania enzymów endogennych z bardziej złożonych struktur mogą zostać uwolnione związki o aktywności przeciwutleniającej, modyfikując ostateczny charakter przeciwutleniającego surowca.

Uwzględniając długość okresu leżakowania liści potwierdzono, że LG osiągały wyższe wartości niż LD w obu testach. W LC nastąpiło także największe obniżenie zawartości ZwRed w efekcie wzrostu temperatury suszenia. Proces suszenia surowców roślinnych modyfikuje zawartość ZwRed w różnym kierunku [11]. Część badań pokazuje, że do pewnego poziomu suszenie sprzyja syntezie niektórych polifenoli, co skutkuje zwiększeniem aktywności przeciwutleniającej [12], a w innych nie stwierdza się istotnego wpływu suszenia na te zawartości w liściach morwy [13].

Analiza statystyczna (różnicująca uzyskane wyniki wyłącznie pod względem stopnia rozdrobnienia liści) potwierdziła, że zarówno w testach *post-hoc*, jak i pozostałych testach, otrzymano wyniki istotne statystycznie (tab. 3).



Zródło: opracowanie własne / Source: own study

Rys. 1. Aktywność przeciwutleniająca ekstraktów z liści morwy białej z uwzględnieniem stopnia rozdrobnienia i temperatury suszenia liści

Fig. 1. Antioxidant activity of the extracts of white mulberry leaves- effect of the grinding size and the drying temperature

Tab. 3. Analiza wariancji wyników testów analitycznych przeprowadzonych dla różnych stopni rozdrobnienia liści morwy białej
 Table 3. The variance analysis of the results of analytical tests carried out for various forms of white mulberry leaves

Test analityczny	Test statystyczny $\alpha=0,05$	Forma liści		
		'całe'	'drobne'	'grube'
ogólna zawartość związków redukujących	Scheffégo	b	a	b
	Tukeya (HSD)	b	a	b
	Newmana-Keulsa	b	a	b
	Duncana	b	a	b
	Bonferroniego	b	a	b
	NIR Fishera	b	a	b
inaktywacja DPPH ^o	Scheffégo	c	a	b
	Tukeya (HSD)	c	a	b
	Newmana-Keulsa	c	a	b
	Duncana	c	a	b
	Bonferroniego	c	a	b
	NIR Fishera	c	a	b

Objaśnienia: a, b, c - różne litery wskazują na istotne statystycznie różnice w wierszach

Źródło: opracowanie własne / Source: own study

Podsumowanie

Liście morwy białej z plantacji trafiają bezpośrednio do zakładu przetwórczego. Już na etapie transportu dochodzi do przemian w obrębie przyzmy w efekcie ich uszkodzenia, połamania, rozerwania itp., które zmieniają parametry surowca. Wprowadzenie stałego sposobu rozdrabniania liści przed przetworzeniem pozwoli na kontrolowanie poziomu tych przemian i uzyskanie możliwie ujednoczonych, dobrych półproduktów po suszeniu. Jednak możliwości techniczne rozdrabniania bywają ograniczone i muszą być opłacalne, dlatego zabieg nie może być zbyt wymagający, lecz o uniwersalnych parametrach do zastosowania nawet w zakładach o niskim potencjale maszynowym. W prowadzonym doświadczeniu zaobserwowano, że wybór liści rozdrobnionych do rozmiarów 50-70 mm x 10-20 mm skutkowało uzyskaniem najlepszych parametrów aktywności przeciwutleniającej. Zaproponowany więc sposób wstępnego przetworzenia liści zapewnia utrzymanie właściwości funkcjonalnych surowca, który jest składnikiem produktu końcowego.

Bibliografia

- [1] Rodrigues E.L. i in.: Nutraceutical and medicinal potential of the *Morus* species in metabolic dysfunctions. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, 20.
- [2] Tajner-Czopek A. i in.: Study of antioxidant activity of some medicinal plants having high content of caffeic acid derivatives. *Antioxidants*, 2020, 9, 412.
- [3] Butt M.S. i in.: *Morus alba* L. nature's functional tonic. *Trends Food Sci. Technol.*, 2008, 19, 505-512.
- [4] Grześkowiak J., Łochyńska M.: Związki biologicznie aktywne morwy białej (*Morus alba* L.) i ich działanie lecznicze. *Postępy Fitoter.*, 2017, 18, 31-35.
- [5] Łochyńska M.: Wymagania i agrotechnika polskiej odmiany morwy białej "Żółwińska Wielkolistna". *Zagadnienia Doradz. Rol.*, 2018, 4, 99-111.
- [6] Jeszka M., Kobus J., Flaczyk E.: Określenie potencjału antyoksydacyjnego ekstraktów z liści morwy białej. *Bromatol. Chem. Toksykol.*, 2009, 885-889.
- [7] Cheung L. i in. Antioxidant activity and total phenolics of epigallocatechin gallate in the NBT-II bladder tumour cell line. *Biol. Pharm. Bull.*, 2003, 18, 1676-1680.
- [8] Amarowicz R. i in.: Antibacterial activity of green tea polyphenols against *Escherichia coli* K12. *Nahrung*, 2000, 44, 60-62.
- [9] Munteanu I.G., Apetrei C.: Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, 22.
- [10] Sánchez-Salcedo E. i in.: (Poly)phenolic compounds and antioxidant activity of white (*Morus alba*) and black (*Morus nigra*) mulberry leaves: Their potential for new products rich in phytochemicals. *J. Funct. Foods*, 2015, 18, 1039-1046.
- [11] An K. i in.: Comparison of different drying methods on Chinese ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): Changes in volatiles, chemical profile, antioxidant properties, and microstructure. *Food Chem.*, 2016, 197, 1292-1300.
- [12] Katsube T. i in.: Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves. *Food Chem.*, 2009, 113, 964-969.
- [13] Chan E.W.C.: Antioxidant properties of herbs with enhancement effects of drying treatments: A synopsis. *Free Radicals Antioxidants*, 2013, 3, 2-6.

THE EFFECT OF THE SHREDDING DEGREE OF WHITE MULBERRY LEAVES (*Morus alba* L.) ON THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF INTERMEDIATES

Summary

White mulberry leaves have high pro-healthy potential, especially for diabetics. However, processing procedures of this plant are not standardized. It results in high differentiation between quality of products available on the market. In this paper the selection of the best form of *Morus alba* cv. *Zolwiska Wielkolistna* was made. Basing on the antioxidant tests, the health-promoting values of the final preparations, was made. Whole leaves, 'coarse' (50-70 mm x 10-20 mm crushed) leaves and 'fine' (30-40 mm x 5-10 mm crushed) leaves were tested, after further aging (for 1 or 4 hours) and drying (at 30°C, 60°C or 90°C) processes. The preparations obtained from 'coarsely' shredded *Morus alba* leaves were indicated as the best.

Key words: white mulberry (*Morus alba* L.), plant material, leaves, antioxidant activity, air-drying, aging, shredding, preparation process, diabetes mellitus