

mgr inż. Oskar Marek Szczepaniak

Streszczenie pracy doktorskiej pt. „Charakterystyka derenia jadalnego (*Cornus mas* L.) jako źródła składników aktywnych kształtujących właściwości funkcjonalne żywności”

Dereń jadalny (*Cornus mas* L.) to roślina rosnąca w południowych i wschodnich regionach Europy i Bliskiego Wschodu. Owoce derenia jadalnego są dobrym źródłem przeciwutleniaczy, a także innych związków biologicznie czynnych. Do ważniejszych możemy zaliczyć antocyjany, irydoidy, kwasy fenolowe, flawonoidy oraz taniny. Spożycie owoców derenia jest zalecane w profilaktyce chorób cywilizacyjnych takich jak nadciśnienie, cukrzyca, otyłość czy choroby nowotworowe. Jednak w przypadku tych dwóch ostatnich schorzeń, wciąż mało jest informacji odnośnie potencjalnego wykorzystania owoców derenia.

Owoce derenia jadalnego były tradycyjnie wykorzystywane w kuchni polskiej do celów kulinarnych i produkcji nalewek. Obecnie coraz częściej szuka się nowych zastosowań tych owoców w projektowaniu żywności funkcjonalnej. Decyduje o tym wysoka zawartość związków biologicznie czynnych w owocach oraz literatura przedmiotu wskazująca na brak negatywnego wpływu owoców *Cornus mas* na cechy sensoryczne produktów niewrażliwych na niskie wartości pH.

Celem pracy była charakterystyka i oznaczanie zawartości związków biologicznie aktywnych w owocach derenia jadalnego (*Cornus mas* L.), a następnie ocena możliwości ich wykorzystania jako składnika żywności funkcjonalnej. W trakcie wykonanych badań oceniano efekt geno-ochronny oraz hipoglikemiczny owoców. Dodatkowo sprawdzany był wpływ składników aktywnych zawartych w owocach derenia na modulowanie odczuwania smaku gorzkiego (maskowanie), co dałoby możliwość obniżenia ilości cukru w produktach gorzkich.

Model pracy zakładał 5 etapów badań. Pierwszy etap obejmował wstępną charakterystykę surowca. Na bazie uzyskanych wyników wyselekcjonowano odmiany do dalszych etapów badań. W pracy oceniono właściwości funkcjonalne kwasów fenolowych i flawonoidów. Drugi etap badań obejmował określenie efektu hipoglikemicznego, mierzonego jako zdolność do hamowania aktywności α -glukozydazy. Niezależnie od tego efektu, w etapie trzecim poddano ocenie właściwości geno-ochronne owoców derenia. W tym zakresie przyjęto dwa niezależne podejścia monitorowania właściwości geno-ochronnych. Rozważano je jako zdolność do interakcji wtórnych metabolitów zawartych w owocach *Cornus mas* z fragmentami dwuniciowego DNA (dsDNA) oraz z parami nukleotydów guanozyna-cytozyna, 8-oksoguanozyna-cytozyna oraz adenozy-na-tymidyna. Zdolność do interakcji wyznaczono z wykorzystaniem narzędzi chemii teoretycznej metodą Hartree-Focka oraz niezależnie przy użyciu biosensora DNA z warstwą detekcyjną

zawierającą immobilizowane fragmenty dsDNA. Jako drugi aspekt właściwości genoprotekcyjnych oceniano zdolność ekstraktów z owoców derenia do hamowania oksydacyjnych uszkodzeń kwasów nukleinowych poddanych ekspozycji na produkty symulowanej reakcji Fentona. Jako technikę pomiarową wykorzystano woltamperometrię fali prostokątnej (SWV, *Square Wave Voltammetry*). W dwóch ostatnich etapach pracy skupiono się na zdolności składników aktywnych zawartych w owocach *Cornus mas* do hamowania odczucia smaku gorzkiego. W etapie 4, zastosowano techniki biologii molekularnej w celu ustalenia czy składniki aktywne owoców mogą oddziaływać z receptorami smaku gorzkiego TAS2R3, TAS2R13 oraz smaku słodkiego TAS1R2/3 w transfekowanych komórkach linii HEK 293T. Równolegle (etap 5) wykonano badania sensoryczne, w trakcie których określono stopień oddziaływania dodatku owoców derenia do czekolady gorzkiej na zmniejszenie intensywności odczuwanej goryczy oraz jego wpływ na percepcję innych nut smakowo-zapachowych.

Materiałem badanym było 7 odmian derenia, zebranych z upraw sadowniczych w województwie mazowieckim: *Bolestraszycki*, *Florianka*, *Jolico*, *P5*, *Słowianin*, *Szafer* i *Wydubiecki*. W celu przeprowadzenia szczegółowych analiz z badanych odmian owoców derenia przygotowano ekstrakty wodne i etanolowo-wodne (4:6 v/v).

Badane owoce *Cornus mas* istotnie różniły się pomiędzy sobą pod względem zawartości wtórnych metabolitów roślinnych. Najwyższą zawartość polifenoli ogółem stwierdzono w owocach odmian *Słowianin*, *Wydubiecki* i *Jolico*. Z kolei najwyższą zawartość flawonoidów stwierdzono w owocach odmiany *Szafer*, a najniższą w owocach odmiany *Słowianin*. Analiza chromatograficzna zawartości poszczególnych związków fenolowych zawartych w owocach derenia jadalnego wykazała, że dominującymi związkami fenolowymi w owocach *Cornus mas* są kwas chlorogenowy, kwas galusowy, kwercetyna, rutyna i naringenina.

Wysoka zawartość wtórnych metabolitów roślinnych decydowała o wysokim potencjale antyoksydacyjnym badanego surowca. Najwyższą zdolność do redukcji kationorodnika ABTS wykazywały owoce odmian *Jolico* i *Słowianin*. Dla odmiany *Jolico* odnotowano również najwyższą zdolność do wygaszania rodnika DPPH.

Wszystkie owoce odmian *Cornus mas* poddane badaniom w etapie 2, a szczególnie odmiana *P5*, w wysokim stopniu hamowały aktywność α -glukozydazy, co potwierdziło ich silne działanie hipoglikemiczne. Zdolność do inhibicji α -glukozydazy była w przybliżeniu 6-krotnie wyższa, niż dla próby pozytywnej. Ponadto zanotowano dodatnią korelację pomiędzy zdolnością do inhibicji α -glukozydazy, a zawartością flawonoidów w owocach derenia jadalnego ($r = 0,83$). Dodatkowo wykazano liniową zależność pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną badanych ekstraktów a efektem hipoglikemicznym ($r = 0,99$ dla testu redukcji kationorodnika ABTS).

Dla polifenoli i badanych ekstraktów z owoców derenia zaobserwowano różnicowany efekt genoprotekcyjny. Flawonoidy, z wyjątkiem witeksyny, oddziaływały z modelowymi strukturami DNA i zmniejszały ich podatność na utlenianie. Etanolowe ekstrakty z derenia, a w szczególności uzyskane z odmian

Szafer i *Słowianin* wpływały również na obniżenie sygnałów adeniny i guaniny w trakcie ich utleniania na elektrodach węglowych pod wpływem przyłożonego potencjału. Analiza głównych składowych (PCA) wykazała, że spośród badanych ekstraktów, zauważalne działanie genoprotekcyjne wykazały tylko ekstrakty etanolowo-wodne tych dwóch odmian.

W kolejnym etapie badań oceniono przydatność owoców derenia odmiany *Bolestraszycki*, jako surowca będącego źródłem związków maskujących smak gorzki w modelu *in vitro*. Fitozwiązki zawarte w odmianie *Bolestraszycki* obniżały aktywność receptorów gorzkiego smaku. Dwuminutowe oddziaływanie ze składnikami aktywnymi derenia jadalnego wywoływało efekt inhibicji receptorów TAS2R3 i TAS2R13 o odpowiednio 132% i 11,5%, natomiast podanie 10-krotnie rozcieńczonego ekstraktu z owoców derenia, skutkowało nietrwałym działaniem inhibicyjnym. Niemniej jednak, analiza wariancji pokazała, że omawiane tu zdolności inhibicji receptorów, choć wyraźne, nie były istotne statystycznie.

W badaniach sensorycznych czekolady wzbogaconej w owoce derenia stwierdzono, że ich dodatek miał wpływ na obniżenie odczucie smaku gorzkiego, w porównaniu do czekolady kontrolnej. . Aczkolwiek maskowanie smaku gorzkiego wiązało się raczej ze wzmocnieniem odczuwania innych nut sensorycznych, a nie tylko inhibicją odczuwania smaku gorzkiego.

Wyniki uzyskane w ramach rozprawy doktorskiej wskazują na wielokierunkowy i zróżnicowany potencjał funkcjonalny owoców *Cornus mas*, który jest uzależniony od badanej odmiany. Wysoka zawartość związków aktywnych, wysoki potencjał przeciwutleniający, właściwości hipoglikemiczne owoców derenia jadalnego oraz ich zdolność do modulowania smaku gorzkiego w produkcie mogą być przydatne w aspekcie projektowania przekąsek dedykowanych dla diabetyków. Owoce derenia stanowią zatem dobry surowiec do produkcji oraz projektowania żywności funkcjonalnej.

20.06.2012
Dr hab. Grzegorz