

Anna Gramza-Michałowska, Barbara Stachowiak¹⁾

POTENCJAŁ PRZECIWUTLENIAJĄCY EKSTRAKTÓW KAROTENOIDÓW Z KOMÓREK *RHODOTORULA SP.* W EMULSJI KWASU LINOŁOWEGO

Katedra Technologii Żywności Człowieka Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

Kierownik: prof. dr hab. *J. Korczak*

¹⁾Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego

Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu

Kierownik: prof. dr hab. *J. Michniewicz*

*Badania obejmowały oznaczenie aktywności przeciwutleniającej ekstraktów karotenoidów pozyskanych z komórek drożdży *Rhodotorula sp.* w układzie zemułgowanego kwasu linolowego. Analiza wyników wykazała niski potencjał przeciwutleniający ekstraktów z drożdży w zakresie zastosowanych układów tłuszczowych.*

Hasła kluczowe: emulsja kwasu linolowego, karotenoidy, *Rhodotorula sp.*, dieny sprzężone, aldehyd malonowy, TBA.

Key words: linoleic acid emulsion, carotenoids, *Rhodotorula sp.*, conjugated dienes, malondialdehyde, TBA.

Karotenoidy są związkami pełniącymi różne funkcje w biologię, rozpoczynając od ochrony przed światłem, wspomagania układu immunologicznego, ochrony przed działaniem czynników kancerogennych, kończąc na aktywności przeciwutleniającej (1). Związki te, są szeroko wykorzystywane w przemyśle, szczególnie jako barwniki żywności i pasz oraz suplementy (2). Światowy rynek dodatków do żywności opierał się głównie na produkcji syntetycznych substancji dodatkowych, jednakże coraz większa świadomość konsumentów wymusza wzrost wykorzystania związków pochodzenia naturalnego (3, 4). Jednym z potencjalnych źródeł karotenoidów są drożdże *Rhodotorula sp.* (5), lecz ich wykorzystanie wiąże się z poznaniem ich profilu zawartego w komórce drożdżowej, sposobu oraz warunków syntetyzowania przez dany mikroorganizm. Aktywność przeciwutleniająca pozyskanych ekstraktów karotenoidów stanowi nowy, niezbadany jeszcze rozdział dotyczący potencjalnych zastosowań tych ekstraktów w technologii żywności.

Celem badań była ocena właściwości przeciwutleniających ekstraktów karotenoidów pozyskanych z komórek drożdży *Rhodotorula sp.*

MATERIAŁ I METODY

Mikroorganizmy. W doświadczeniu wykorzystano drożdże *Rhodotorula sp.* – izolat własny z ziarna pszenicy (Kolekcja Mikroorganizmów ITŻPR Uniwer-

sytetu Przyrodniczego w Poznaniu). Drożdże hodowano na płynnym lub zestalonym podłożu YM (6).

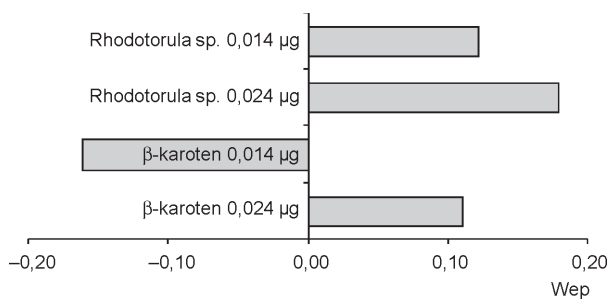
Otrzymywanie ekstraktów karotenoidów. Hodowle drożdży prowadzono przez 4 dni w warunkach dynamicznych (150 obr./min.) w temp. 30°C. Ekstrakcję karotenoidów z komórek badanych drożdży przeprowadzono w oparciu o zmodyfikowaną metodę *Sedmaka* i współprac. (7). Jako ekstrahent zastosowano heksan – frakcja z nafty. Ogólną ilość barwników oznaczono metodą spektrofotometryczną przy dł. fali $\lambda = 450$ nm.

Ocena właściwości przeciwutleniających ekstraktów karotenoidów. W celu oznaczenia potencjału przeciwutleniającego otrzymanych ekstraktów wykonano emulsję kwasu linolowego (10 mmol/dm³) (NuChek Prep, USA). Oznaczenia opierały się na okresowym spektrofotometrycznym pomiarze zawartości dienów skoniugowanych kwasu linolowego (8), aldehydu malonowego (9) oraz testu TBA (10).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wydajność karotenoidów z komórek drożdży *Rhodotorula sp.* wynosiła 2,57 μg w przeliczeniu na jednostkę objętości hodowli – 1 cm³ oraz 0,3 g w przeliczeniu na kilogram suchej substancji drożdżowej. Otrzymane ekstrakty karotenoidów z komórek *Rhodotorula sp.* poddano procesom zagęszczania, ponieważ stężenia barwników były zbyt niskie do przeprowadzenia analizy aktywności przeciwutleniającej.

Potencjalne właściwości przeciwutleniające ekstraktów oznaczono w układzie ze-mulgowanego kwasu linolowego po 19 h inkubacji (ryc. 1). W oparciu o uzyskane



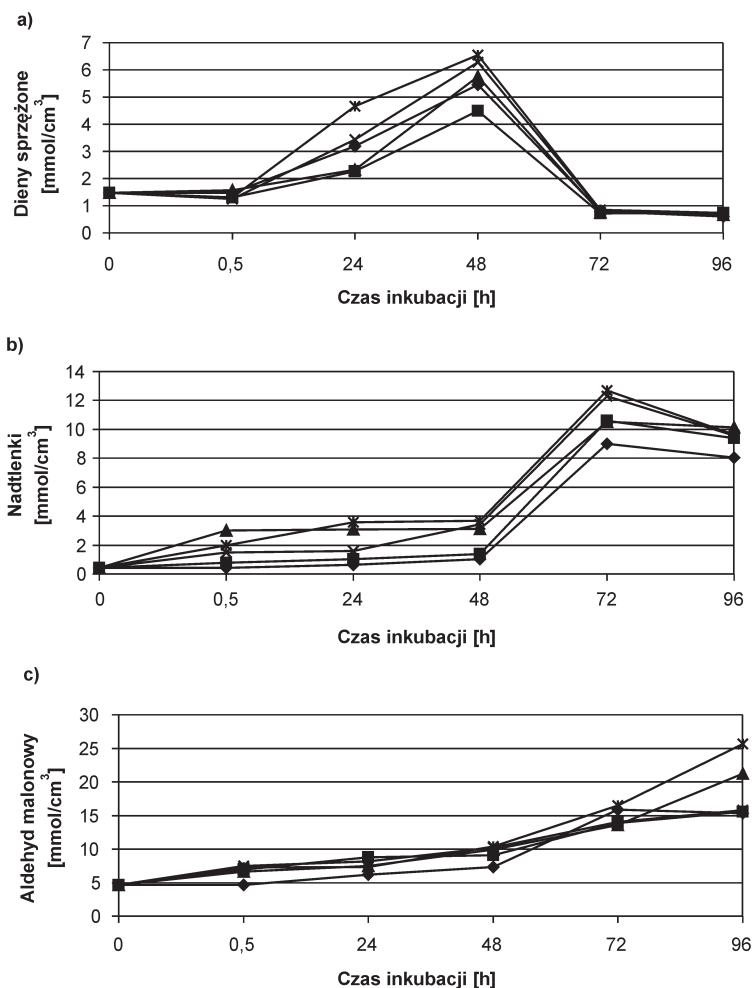
Ryc. 1. Wartości wskaźnika efektywności przeciwutleniającej Wep dla emulsji kwasu linolowego z dodatkiem ekstraktów drożdży i β -karotenu

Fig. 1. Antioxidative effectivity coefficient Wep in linoleic acid emulsion with yeast extracts and β -carotene.

wartości absorbancji wyznaczono wskaźniki efektywności przeciwutleniającej Wep, których wartości dodatnie świadczą o potencjale przeciwutleniającym zastosowanego dodatku. Uzyskane wyniki pozwoliły stwierdzić potencjalne właściwości przeciwutleniające ekstraktu barwników z komórek *Rhodotorula sp.* W przypadku prób emulsji z dodatkiem β -karotenu uzyskano wartość ujemną współczynnika efektyw-

ności przeciwutleniającej (-0,16) świadcząca o jego wpływie prooksydacyjnym na badaną emulsję kwasu tłuszczowego. Podobne wyniki uzyskali *Chen* i *Djuric* (11), którzy w swoich badaniach analizowali wpływ karotenoidów wbudowanych w liposomy na zmiany oksydacyjne w emulsji z linolanem metylu. Stwierdzono, że karo-

tenoidy, a szczególnie β -karoten w zakresie badanych stężeń nie wykazywały efektu ochronnego na utleniany tłuszcz. W układzie zemulgowanego kwasu linolowego najwyższą wartość Wep stwierdzono w próbie z dodatkiem ekstraktu z komórek drożdży *Rhodotorula* sp. 0,024 μg (0,18), natomiast standard β -karotenu 0,024 μg oraz ekstrakt z drożdży *Rhodotorula* sp. 0,044 μg (0,12) wykazały się podobnym wpływem na wartość współczynnika efektywności przeciwutleniającej. Analiza statystyczna uzyskanych wyników wykazała istotne różnice między aktywnością β -karotenu 0,014 μg , a ekstraktami karotenoidów z drożdży *Rhodotorula* sp. 0,024



Ryc. 2. Zmiany zawartości wskaźników stopnia utlenienia tłuszczu w układzie emulsji kwasu linolowego a) dieny sprzężone, b) nadtlenki, c) aldehyd malonowy. —◆— kontrolna, —■— β -karoten 0,024 μg , —▲— β -karoten 0,014 μg , —#— *Rhodotorulla* 0,024 μg , —*— *Rhodotorulla* sp. 0,014 μg .

Fig. 2. Changes in the fat oxidation values in linoleic acid emulsion a) conjugated dienes, b) peroxides, c) malondialdehyde.

μg , poza tym różnice statystycznie istotne wykazano między β -karotenem 0,014 μg , a pozostałymi dodatkami emulsji.

Kolejnym etapem badań była analiza efektu przeciwutleniającego ekstraktów w emulsji kwasu linolowego inkubowanego przez 96 h, podczas którego oznaczono zawartość nadtlenków, dienów skoniugowanych kwasu linolowego oraz aldehydu malonowego. Inkubacja emulsji kwasu linolowego z dodatkami pozwoliła na obserwację procesu utleniania, w którym można wyróżnić trzy etapy: indukcji, propagacji oraz terminacji. Podczas analizy wyników zawartości dienów sprzężonych kwasu linolowego stwierdzono, że w pierwszym etapie autooksydacji kwas linolowy jest chroniony przez zastosowane dodatki, wyjątkiem jest β -karoten w stężeniu 0,014 μg . Kolejny etap procesu wskazał na najwyższy wzrost zawartości dienów w próbie z dodatkiem ekstraktu z *Rhodotorula sp.* 0,014 μg oraz 0,024 μg , najniższy wzrost zanotowano w próbie β -karotenu 0,024 μg . W badanym okresie inkubacji prób nie stwierdzono istotnej aktywności przeciwutleniającej zastosowanych dodatków.

Uzyskane wyniki wskazały, że próby emulsji z dodatkami ekstraktów oraz standardów karotenoidów wykazały najwyższy wzrost zawartości nadtlenków po 48 h inkubacji (ryc. 2) Do 72 h inkubacji zanotowano wzrost zawartości nadtlenków we wszystkich próbach, po tym okresie nastąpił spadek zawartości nadtlenków świadczący o ich rozpadzie. Wszystkie próby zemulgowanego kwasu linolowego z dodatkami badanych ekstraktów i standardów w zakresie analizowanych stężeń wykazały wyższą zawartość nadtlenków w stosunku do próby kontrolnej, świadcząca o braku właściwości ochronnych. Nadtlenki, powstające w procesie utleniania tłuszczów są nietrwałe i ulegają rozpadowi do np. aldehydu malonowego. Analiza zawartości aldehydu malonowego w emulsji kwasu linolowego nie wykazała istotnego wpływu dodatków na stabilność oksydacyjną tłuszczu. Najwyższą zawartość aldehydu malonowego zanotowano w próbach z dodatkiem ekstraktu z komórek *Rhodotorula sp.* (0,024 μg dodatku w całej mieszaninie reakcyjnej) oraz β -karotenu (0,014 μg).

WNIOSKI

Wyniki przeprowadzonych badań pozwoliły stwierdzić niski potencjał przeciwutleniający ekstraktów z drożdży *Rhodotorula sp.* w układzie zemulgowanego kwasu linolowego.

A. Gramza-Michałowska, B. Stachowiak

ANTIOXIDATIVE POTENTIAL OF *RHODOTORULA SP.*
CAROTENOIDS EXTRACTS IN LINOLEIC ACID EMULSION

Summary

The aim of this study was to determine antioxidative potential of *Rhodotorula sp.* in linoleic acid emulsion. Results of the study showed weak antioxidative potential of the examined extracts in the applied lipid systems.

PIŚMIENNICTWO

1. Kurihara H., Koda H., Asami S., Kiso Y., Tanaka T.: Contribution of the antioxidative property of astaxanthin to its protective effect on the promotion of cancer metastasis in mice treated with resistant stress. *Life Sciences* 2002; 70: 2509-2520. – 2. Fraser P.D., Bramley P.M.: The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research* 2004; 43: 228-265. – 3. Rutkowski A., Gwiazda S., Dobrowski K.: Kompendium dodatków do żywności. 2003. – 4. Pokorny J.: Are natural antioxidants better – and safer – than synthetic antioxidants? *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2007; 109: 629-642. – 5. Stachowiak B., Czarnecki Z.: Drożdże *Phaffia rhodozyma* jako potencjalne źródło naturalnej astaksantyny. *Żywność Nauka Technologia Jakość* 2006; 47(2): 17-28. – 6. Calo P., Velázquez J.B., Sieiro C., Blanco P., Longo E., Villa T.G.: Analysis of astaxanthin and other carotenoids from several *Phaffia rhodozyma* mutants. *J. Agric. Food Chem.*, 1995; 43: 1396-1399. – 7. Sedmak J.J., Weerasinghe D.K., Jolly S.O.: Extraction and qualification of astaxanthin from *Phaffia rhodozyma*. *Biotechnol.*, 1990; 2: 107-112. – 8. Lingnert H., Vallentin K., Eriksson C.E.: Measurement of antioxidative effect in model system. *J. Food Proc. Preserv.*, 1979; 3: 87-103. – 9. Pietrzyk C.: Kolorymetryczne oznaczanie nadtlenczków w tłuszczach za pomocą rodanków żelaza. *Roczn. PZH*, 1958; 6: 75-83. – 10. Buege J.A., Aust S.D.: Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzym.*, 1978; 35: 302-310.

11. Chen G., Djuric Z.: Carotenoids are degraded by free radicals but do not affect lipid peroxidation in unilamellar liposomes under different oxygen tensions. *FEBS Letters* 2001; 505: 151-154.

Adres: 60-624 Poznań, ul. Wojska Polskiego 31.