

Ewa Majewska, Joanna Trzaneek

WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWIUTLENIAJĄCE MIODÓW WIELOKWIATOWYCH I INNYCH PRODUKTÓW PSZCZELICH

Zakład Oceny Jakości Żywności Katedry Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności
Wydziału Nauk o Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
Kierownik: prof. dr hab. *M. Obiedziński*

Celem pracy było sprawdzenie, czy dodanie do miodu innych produktów pszczelich zmienia jego siłę antyoksydacyjną i czy widoczny jest synergizm pomiędzy tym produktami. Badania obejmowały oznaczenie zawartości wody i polifenoli, a także aktywności przeciwutleniającej. Analizowano ekstrakty wodne i etanolowe badanych produktów pszczelich, z których skuteczniejszymi okazały się ekstrakty alkoholowe, zmiatające w niektórych przypadkach prawie 100% rodników. Uzyskane wyniki pozwoliły stwierdzić, że badane produkty pszczele posiadają dobre właściwości antyoksydacyjne, co ma duże znaczenie dla zdrowia człowieka i może być wykorzystane m.in. w medycynie i przemyśle. Najsilniejszymi przeciwutleniaczami okazały się pyłek kwiatowy i propolis.

Hasła kluczowe: produkty pszczele, przeciwutleniacze, miód, wolne rodniki.
Key words: products bees, antioxidants, honey, free radicals.

Miód jest naturalnym przeciwutleniaczem w żywności. Składniki miodu takie, jak: flawonoidy, kwas fenolowy, kwas askorbinowy (witamina C), karotenoidy, kwasy organiczne (np. kwas cytrynowy), produkty reakcji *Maillarda*, proteiny, aminokwasy (np. prolina), enzymy (katalaza, glukooksydaza) nadają mu właściwości przeciwutleniające (1).

W miodach zidentyfikowano 32 flawonoidy, z których 11 stwierdzono w nektarze kwiatowym, 9 w pyłku kwiatowym, a 25 w propolisie. Istnieje silna korelacja pomiędzy zawartością związków fenolowych, a pojemnością antyoksydacyjną miodów. Badania zawartości związków fenolowych i innych związków w miodzie wykazały, że pojemność przeciwutleniająca miodu jest spowodowana połączeniem szerokiego zasięgu aktywnych mieszanin poza fenolowymi (2). Miody są ponadto lepszymi inhibitorami utleniania lipoprotein niż odpowiedniki cukru, co wskazuje na ich biologiczne właściwości przeciwutleniające (3). To właśnie związki fenolowe w miodzie, dzięki swojej dostępności i aktywności biologicznej, nadają miodom wysoką skuteczność przeciwutleniającą (4). Wyciąg etanolowy z propolisu ma zdolność wychwytywania wolnych rodników, powstających pod wpływem światła, energii jonizującej, wysokiej temperatury i niektórych katalizatorów czyli posiada właściwości przeciwutleniające, co zostało wykorzystane w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym (podłoża do maści i kremów) oraz spożywczym (5, 6, 7). Pyłek kwiatowy jest natomiast cennym źródłem witaminy E, która dzięki właściwościom

przeciwutleniającym chroni przed inaktywacją niektóre witaminy oraz nienasycone kwasy tłuszczowe. Pyłek zawiera także kwercetynę, która jest przeciwutleniaczem obniżającym poziom cholesterolu w organizmie, działa przeciwmiażdżycowo (8). Badania (9) wykazały, że zawarte w pyłku kwiatowym frakcje białkowe posiadają dobre właściwości przeciwutleniające. Z tego wynika, że spożywanie miodu i miodów z dodatkami (np. z propolisem czy pyłkiem kwiatowym) może uchronić organizm człowieka przed rozwojem szeregu chorób, a także go wzmocnić i uodpornić.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły miody oraz propolis i pyłek kwiatowy pochodzące z pasieki koło Nowego Sącza. Badania obejmowały 5 próbek miodów, w tym:

- miód wielokwiatowy,
- miód wielokwiatowy z 0,5% dodatkiem propolisu,
- miód wielokwiatowy z 0,5% dodatkiem mlecza pszczelego,
- miód wielokwiatowy z 10% dodatkiem pyłku kwiatowego,
- miód wielokwiatowy z 0,5% dodatkiem propolisu, 0,5% dodatkiem mlecza pszczelego oraz z 10% dodatkiem pyłku kwiatowego,

oraz

- pyłek kwiatowy,
- propolis.

Przygotowanie ekstraktów. Odważano po 3 g miodu, pyłku kwiatowego i propolisu (do ekstraktów wodnych – EW) oraz 3 g miodu i 0,5 g pyłku kwiatowego, propolisu oraz miodów z dodatkami (do ekstraktów etanolowych – EE), z dokładnością $\pm 0,001$ g, rozpuszczano w wodzie lub etanolu w stosunku 1:10 w kolbach stożkowych i wytrząsano przez 30 min. Ekstrakty pozostawiano na 24 h w temperaturze pokojowej. Przed przystąpieniem do oznaczeń ekstrakty sączono.

Oznaczenie zawartości wody. W miodach wykonano metodą refraktometryczną (wg PN-88/A-77626) (10), natomiast w pyłku kwiatowym i propolisie metodą suszenia (wg PN-R-78893:1996) (11).

Oznaczenie całkowitej zawartości polifenoli. W celu oznaczenia zawartości polifenoli w badanych ekstraktach wodnych i etanolowych produktów pszczelich wykorzystano zdolność do barwnej reakcji polifenoli z odczynnikiem *Folina-Ciocalteau*. W metodzie tej intensywność zabarwienia badanych ekstraktów z dodanym odczynnikiem mierzono przy dł. fali 735 nm. Całkowitą zawartość polifenoli wyrażano w przeliczeniu na kwas galusowy, dla którego wykonano krzywą wzorcową w zakresie stężeń 0–100 mg/dm³.

Oznaczenie aktywności przeciwutleniającej wobec rodników DPPH[·]. Do próbek odmierzano 4 cm³ ekstraktu (EW lub EE). Jedną z nich traktowano jako próbę ślepą, a pozostałe jako próbki właściwe. Równolegle do jednej próbki odmierzano 4 cm³ wody lub etanolu (próbka kontrolna). Do próbki ślepej dodawano 1 cm³ metanolu, a do kontrolnej i właściwych po 1 cm³ roztworu rodników DPPH[·]. Po 30 min. od dodania rodników mierzono absorbancję przy dł. fali 517 nm. Aktywność przeciwutleniającą (*A*) wobec rodników DPPH[·] obliczano ze wzoru:

$$A = \frac{A_k - A_{wt}}{A_k} \times 100\%$$

gdzie:

A_k – absorbancja próby kontrolnej,

A_{wt} – absorbancja próbki właściwej.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Zawartość wody świadczy o dojrzałości miodu. Jeśli jest powyżej 20% to miód uważa się za niedojrzały (z wyjątkiem miodu wrzosowego, gdzie dopuszczalna ilość wody to 23%).

Tab e l a I. Zawartość wody w miodach oraz pyłku kwiatowym i propolisie

Table I. Water content of honey, pollen and propolis

Badany produkt pszczeli	Zawartość wody (%)
Miód wielokwiatowy	19,9
Miód wielokwiatowy z mleczkiem pszczelim	19,6
Miód wielokwiatowy z propolisem	19,3
Miód wielokwiatowy z pyłkiem kwiatowym	19,4
Miód wielokwiatowy z mleczkiem, propolisem i pyłkiem	20,0
Propolis	1,2
Pyłek kwiatowy	5,9

Wszystkie badane w pracy miody (tab. I) spełniały wymagania zarówno normy PN-88/A-77626 jak również Codex Stan 12-1981 FAO/WHO, chociaż dotyczą one tylko miodu bez dodatków. Zauważyć jednak należy, że zawartość wody w tych produktach była bliska górnej granicy wymagań. Zawartość wody w pyłku kwiatowym była zgodna z normą PN-R-78893:1996. Otrzymanych wyników zawartości wody w propolisie nie można porównać z żadnymi danymi literaturowymi. Podczas badania miodów polskich inni badacze uzyskali niższe wartości tego parametru. Miody wielokwiatowe przebadane przez *Przybyłowskiego* i *Wilczyńską* (12) odznaczały się zawartością wody na poziomie 17,7%, natomiast *Popek* (13) w swoich badaniach uzyskał 16,2% wody. Według *White'a* (14) zawartość wody w miodzie mieści się w granicach 13,4÷22,9%. Badając marokańskie miody wielokwiatowe *Terrab* i współpr. (15) zawartość wody oznaczyli na poziomie 17,6%. Podobne wielkości tego parametru uzyskali także inni badacze. *Rodriguez* i współpr. (16) badając wielokwiatowe miody wenezuelskie oznaczyli zawartość wody w granicach od 17,8% do 20,4%. Podobne rezultaty uzyskali *Anupama* i współpr. (17), którzy podczas badania miodów indyjskich zawartość wody ustalili na poziomie 17–22,6%.

Aktywność przeciwutleniająca badanych produktów pszczelich wobec rodników DPPH (tab. II) wynosiła: dla ekstraktów wodnych od 26,2% (miód wielokwia-

T a b e l a II. Aktywność przeciwutleniająca miodów oraz pyłku i propolisu

T a b l e II. Antioxidant activity of honey, pollen and propolis

Badany produkt pszczeli	Ekstrakty wodne (odchylenie standardowe)	Ekstrakty etanolowe (odchylenie standardowe)
Miód wielokwiatowy	26,2 (1,32)	19,5 (0,85)
Miód wielokwiatowy z mleczkiem pszczelim	27,7 (0,95)	9,4 (0,35)
Miód wielokwiatowy z propolisem	29,7 (0,96)	32,8 (0,42)
Miód wielokwiatowy z pyłkiem kwiatowym	33,9 (0,31)	45,8 (0,97)
Miód wielokwiatowy z mleczkiem, propolisem i pyłkiem	41,5 (1,23)	42,0 (0,42)
Propolis	36,8 (0,96)	50,3 (0,31)
Pyłek kwiatowy	50,9 (0,91)	48,3 (0,21)

towy) do 50,9% (pyłek kwiatowy), a dla ekstraktów etanolowych od 9,4% (miód z mleczkiem pszczelim) do 50,3% (propolis). Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że ekstrakty etanolowe (za wyjątkiem ekstraktów miodu, pyłku kwiatowego i miodu z mleczkiem pszczelim) silniej zmiatały rodniki DPPH[•], czyli wykazywały lepsze właściwości przeciwutleniające. Z badań *Wang, Lien i Yu* (18) wynika, że moc zmiatania rodników DPPH[•] zwiększa się wraz ze wzrostem stężenia propolisu i dla ekstraktów etanolowych mieści się w przedziale 47 ÷ 93%, a wg *Morero* i współpr. (19) zawiera się między 20% a 67,5%. Natomiast *Nagai* i współpr. (20) badając wodne ekstrakty propolisu stwierdzili, iż roztwór zawierający 1 mg/cm³ propolisu wykazuje aktywność na poziomie 43,5%, natomiast większa ilość propolisu w roztworach powodowała obniżanie się tej aktywności do 24,1% w przypadku roztworu zawierającego 100 mg/cm³ propolisu. *Kumazawa* i współpr. (21) badając etanolowe ekstrakty propolisu pochodzącego z różnych regionów świata stwierdzili,

T a b e l a III. Zawartość polifenoli w miodach oraz pyłku i propolisie (mg kwasu galusowego/100 g produktu)

T a b l e III. Phenolic contents in honey, pollen and propolis (mg gallic acid/100 g product)

Badany produkt pszczeli	Ekstrakty wodne (odchylenie standardowe)	Ekstrakty etanolowe (odchylenie standardowe)
Miód wielokwiatowy	12,4 (0,76)	24,2 (0,68)
Miód wielokwiatowy z mleczkiem pszczelim	15,3 (1,00)	32,9 (0,91)
Miód wielokwiatowy z propolisem	52,1 (1,37)	98,2 (0,85)
Miód wielokwiatowy z pyłkiem kwiatowym	50,2 (1,28)	83,3 (0,26)
Miód wielokwiatowy z mleczkiem, propolisem i pyłkiem	83,4 (0,55)	144,7 (2,21)
Propolis	333,4 (17,46)	7630,2 (6,60)
Pyłek kwiatowy	1214,6 (23,18)	1618,0 (10,14)

że najmniejszą moc zmiatania rodników DPPH[•] wykazywał propolis pochodzący z Tajlandii (ok. 10%), natomiast największą propolis z Chin (80%) oraz z Nowej Zelandii (powyżej 70%). Wyników dla pozostałych produktów pszczelich nie można porównać z badaniami innych naukowców, gdyż nie znaleziono takich publikacji.

Zawartość polifenoli w badanych produktach pszczelich (tab. III) w przeliczeniu na kwas galusowy (wzorzec) wynosiła: dla ekstraktów wodnych od 12,4 mg/100 g (miód bez dodatku) do 1214,6 mg/100 g (pyłek kwiatowy), a dla ekstraktów etanolowych od 24,2 mg/100 g (miód bez dodatku) do 7630,2 mg/100 g (propolis). *Aljadi* i *Kamaruddin* (1) badając malezyjskie miody nektarowe oznaczyli zawartość polifenoli na poziomie 21,4 mg/100 g miodu. *Kumazawa* i współpr. (21) badając etanolowe ekstrakty propolisu pochodzącego z różnych regionów świata stwierdzili, że najmniejszą zawartość polifenoli wykazał się propolis pochodzący z Tajlandii (312 mg/100 g), natomiast największą propolis z Chin (2990 mg/100 g) (tab. III).

Polifenole zaliczane są do grupy skutecznych antyoksydantów, z czego można wywnioskować, że propolis, który zawiera ich bardzo dużo (ponad 7,5 g/100 g), będzie wykazywał najsilniejsze działanie przeciwutleniające. Wyniki dla ekstraktów etanolowych są dużo wyższe niż dla wodnych, co najlepiej zauważalne jest w przypadku propolisu. Związane to może być z faktem, iż w przypadku użycia alkoholu etylowego poszczególne składniki badanych produktów łatwiej ulegały ekstrakcji niż w przypadku użycia wody jako eluentu.

WNIOSKI

Analizując wyniki badań można sformułować następujące stwierdzenia i wnioski:

1. Produkty pszczele jakościowo są zgodne z wymaganiami stawianymi im przez Polskie Normy.
2. Ekstrakty etanolowe silniej zmiatały wolne rodniki, czyli wykazywały lepsze właściwości przeciwutleniające w porównaniu z ekstraktami wodnymi.
3. W wielu przypadkach widoczne jest synergistyczne oddziaływanie pomiędzy składnikami miodu i dodanym do niego innym produktem pszczelim (dodatek propolisu do miodu zwiększył jego moc przeciwutleniającą wobec rodników DPPH[•]).
4. Najsilniejsze właściwości antyoksydacyjne wykazywał pyłek i propolis, znacznie większe niż sam miód.
5. Najwięcej polifenoli zawierał pyłek kwiatowy, co potwierdza silne właściwości antyoksydacyjne tego produktu pszczelego.

E. Majewska, J. Trzaneek

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF MULTI-FLOWER HONEY AND OTHER BEE PRODUCTS

Summary

The aim of present work was to find out whether addition of other honey bee products to honey alters its antioxidant activity and whether those products show evident synergism. Quantitative assessments comprised determinations of total content of water and total phenol. Antioxidant activity was also examined in some more detail. Ethanol and water extracts of the studied bee products were examined. Ethanol extracts, in some

cases showing a 100% free-radical scavenging activity, proved to be more effective. Results of our determinations confirming the free-radical scavenging activity made it possible to conclude that the studied honey bee products are characterised by good antioxidant proprieties, which may be used by medicine and industry to improve human health. Pollen and propolis proved to be the strongest antioxidants.

PIŚMIENICTWO

1. *Aljadi A.M., Kamaruddin M.Y.*: Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chem.*, 2004; 85: 513-518. – 2. *Gheldof N., Engeseth N.J.*: 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.*, 2002; 50(10): 3050-3051. – 3. *Wang X.H., Engeseth N.J.*: Antimutagenic effect of honeys against Trp-p-1. Presented at Ann. Mtg., Institute of Food Technologists, Anaheim, CA, 2002; June 15-19. – 4. *Schramm D.D., Keen C.L.*: Buckwheat honey, a natural sweetener, conveys antioxidant protection to healthy human subjects. Presented at Ann. Mtg. Institute of Food Technologists, Anaheim, CA, 2002; June 15-19. – 5. *Kędzia B., Holderna-Kędzia E.*: Leczenie produktami pszczelimi. PWRiL, 1994. – 6. *Al-Mamary M., Al-Meeri A., Al-Habori M.*: Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 2002; 22: 1014-1047. – 7. *Rosenblat G., Angonnet S., Goroshit A., Tabak M., Neeman I.*: Antioxidant properties of honey produced by bees fed with medical plant extracts. *Proceedings of the International Conference on Bee Products: Properties, Applications and Apitherapy*, Izrael, 1997: 49-55. – 8. *Gala J.*: Wartość biologiczna pyłku i pierzgi. *Pszczelarstwo*, 2002; 53(6): 8-9. – 9. *Nagai T., Inoue R.*: Preparation and the functional properties of water extract and alkaline extract of rogal Nelly. *Food Chem.*, 2004; 84: 181-186. – 10. Polska Norma PN-88/A-77626 „Miód pszczeli”.

11. Polska Norma PN-R-78893 „Obnóża pyłkowe”. – 12. *Przybyłowski P., Wilczyńska A.*: Honey as an environmental marker. *Food Chem.*, 2001; 74: 289-291. – 13. *Popek S.*: Próba klasyfikacji odmianowej miodów pszczelich metodą analizy funkcji dyskryminacyjnej. *Żywność*, 2002; 31(2): 78-87. – 14. *White J. W.*: Composition of American Honeys. *Tech. Bull. 1261, Agricultural Research Service, U. S. Department of Agriculture, Washington DC 1962.* – 15. *Terrab A., Diez M.J., Heredia F.J.*: Characterisation of Moroccan unifloral honeys by thier physicochemical characteristics, *Food Chem.*, 2002; 79: 373-379. – 16. *Rodriguez G.O., Ferrer B.S., Ferrer A., Rodriguez B.*: Characterization of honey produced in Venezuela, *Food Chem.*, 2004; 84: 499-502. – 17. *Anupama D., Bhat K.K., Sapna V.K.*: Sensory and physicochemical properties of commercial samples of honey. *Food Research Int.*, 2003; 36: 183-191. – 18. *Wang B.J., Lien Y.H., Yu Z.R.*: Supercritical fluid extractive fractionation – study of the antioxidant activities of propolis, *Food Chem.*, 2004; 86: 237-243. – 19. *Moreno M.I., Isla M.I., Sampietro A.R., Vattuone M.A.*: Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentine. *J. of Ethnopharmacology*, 2000; 71: 109-114. – 20. *Nagai T., Inoue R., Inoue H. and Suzuki N.*: Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis, *Food Chem.*, 2003; 80: 29-33. – 21. *Kumazawa S., Hamasaka T., Nakayama T.*: Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Ford Chem.*, 2004; 84: 329-339.

Adres: 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159 c.