

# Ocena właściwości antyoksydacyjnych ekstraktów z żurawiny wielkoowocowej za pomocą testu wzrostowego mutantu $\Delta sod1$ *Saccharomyces cerevisiae* w środowisku hipertonicznym

Agata Święciło, Kamila Rybczyńska-Tkaczyk

Katedra Mikrobiologii Środowiskowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie,  
ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin, agata.swiecilo@up.Lublin.pl

## Wstęp

Komórki drożdżowego mutantu  $\Delta sod1$  są pozbawione aktywności cytoplazmatycznej dysmutazy nadtlenkowej, enzymu usuwającego anionorodnik nadtlenkowy z cytoplazmy. Brak aktywności enzymu stanowiącego pierwszą linię obrony przed reaktywnymi formami tlenu sprawia, że komórki te są nadwrażliwe na wiele substancji o charakterze prooksydacyjnym, a także na warunki stresu osmotycznego. Reakcja ta manifestuje się w formie spowolnienia lub braku wzrostu w obecności tych substancji lub w środowisku hipertonicznym. Tak więc przywrócenie wzrostu tym komórkom w obecności substancji antyoksydacyjnych jest wskaźnikiem ich potencjału antyoksydacyjnego wyrażonego w układzie komórkowym.

## Cel pracy

Celem pracy było przetestowanie możliwości wykorzystania parametrów wzrostu mutantu  $\Delta sod1$  drożdży *Saccharomyces cerevisiae* do badania właściwości antyoksydacyjnych i biodostępności fitozwiązków obecnych w ekstraktach z owoców żurawiny wielkoowocowej (*Vaccinium macrocarpon* Ait.). Owoce żurawiny są źródłem wielu witamin rozpuszczalnych w wodzie lub w tłuszczach oraz składników mineralnych. Zawierają one min. związki fenolowe o udokumentowanych metodami biochemicznymi właściwościach antyoksydacyjnych. Oprócz tego, substancje zawarte w owocach z żurawiny wykazują działanie antynowotworowe, przeciwzapalne, kardiochronne, antybakteryjne i przeciwwirusowe oraz stymulują układ immunologiczny.

## Materiały i metody

Do sporządzenia ekstraktów z owoców żurawiny wykorzystano trzy rodzaje rozpuszczalników (etanolowo-wodny w proporcji [v/v]: 4:1, 1:1 i wodny). W ekstraktach zbadano zawartość związków fenolowych za pomocą zmodyfikowanej metody Singleton i Rossi (1965), antocyjanów za pomocą metody różnicowej według Fuleki i Francis (1969), właściwości antyoksydacyjne za pomocą efektywności wygaszania kationorodnika ABTS<sup>•+</sup> według Re i wsp. (1992) oraz metodą biologiczną z wykorzystaniem testów wzrostowych komórek mutantu  $\Delta sod1$  w środowisku hipertonicznym. W tym przypadku wyznacznikiem potencjału antyoksydacyjnego ekstraktów była ich zdolność do stymulowania wzrostu komórek tych drożdży, czego efektem był wzrost gęstości hodowli tych drożdży. Do analizy ilościowej tego zjawiska przystosowano powszechnie używaną w testach toksykologicznych metodę polegającą na redukcji barwnika resazuryny.

## Charakterystyka ekstraktów

Nr ekstraktu	Kraj pochodzenia owoców	Rozpuszczalnik (100 ml)
1	Łotwa/Gardenia	Etanol/woda (v/v) ( 80/20)
2		Etanol/woda (v/v) (50/50)
3		Woda
4	Polska/Ampuls Sp. z o.o."	Etanol/woda (v/v) ( 80/20)
5		Etanol/woda (v/v) (50/50)
6	Wawrzyniak jedz co polskie"	Woda

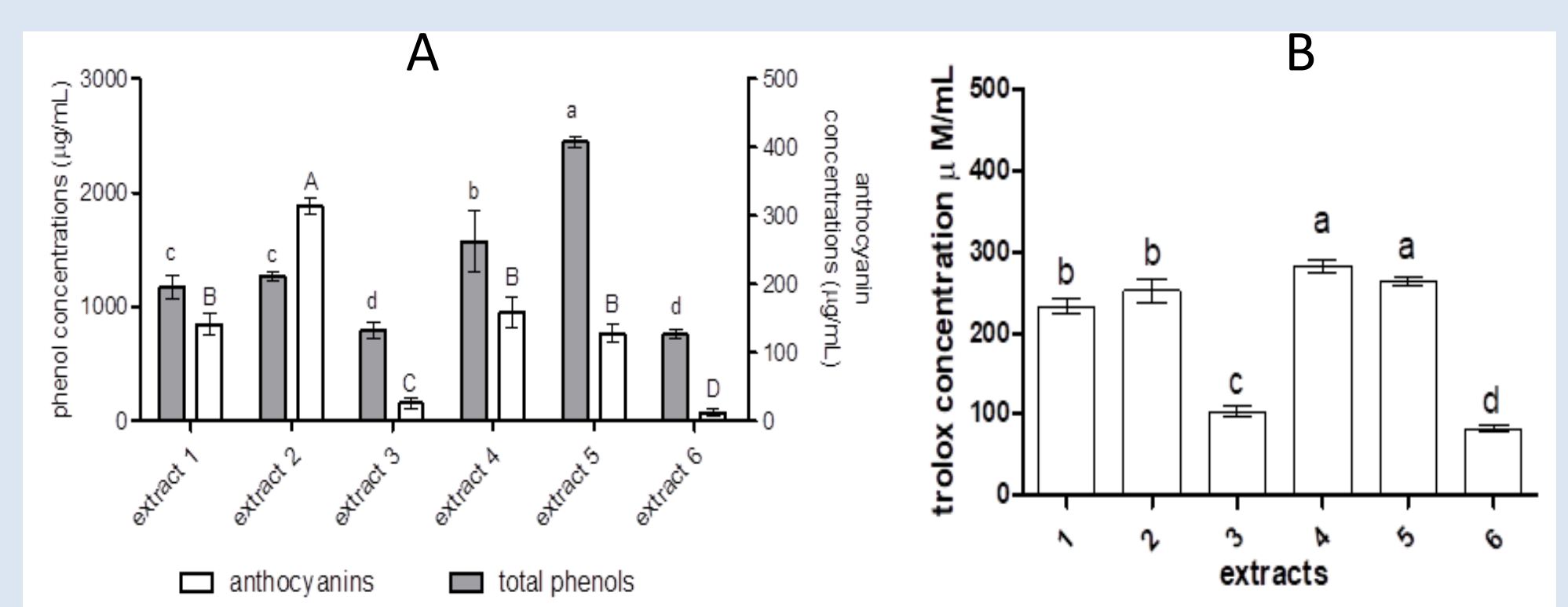


## Wnioski

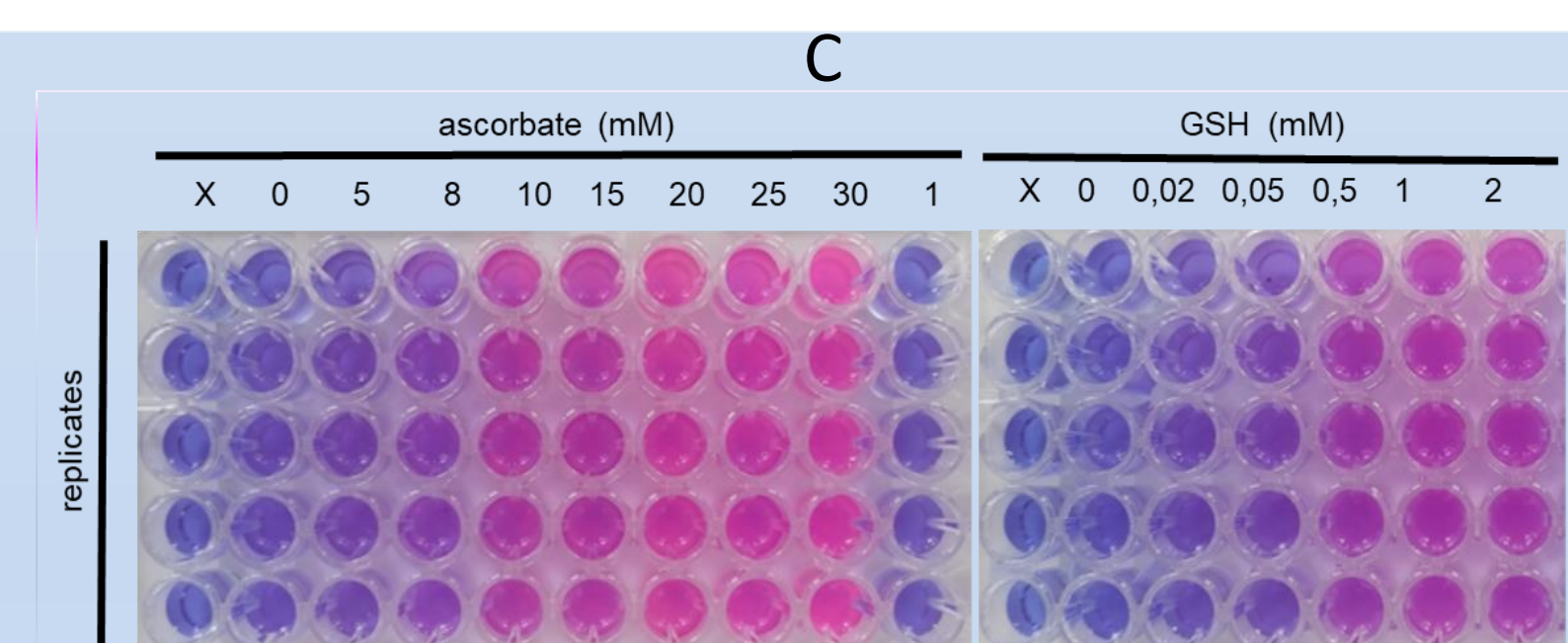
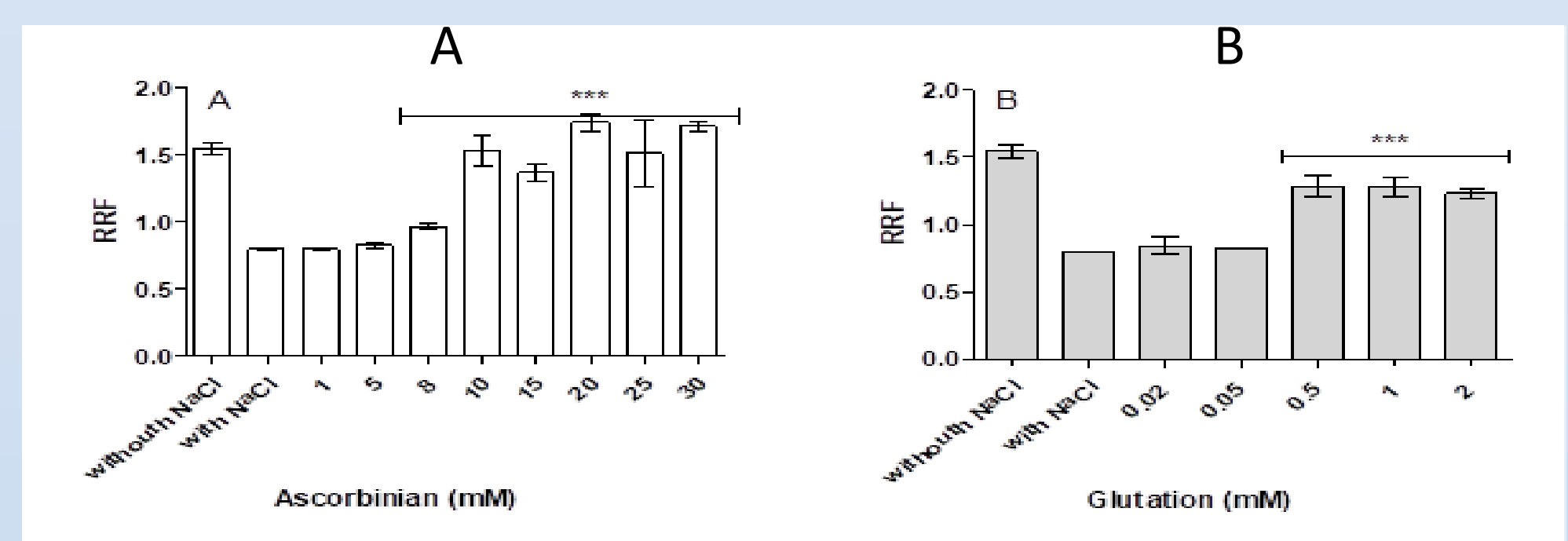
Etanolowo wodne ekstrakty z żurawiany charakteryzowały się wyższą zawartością polifenoli i antocyjanów oraz całkowitą pulą antyoksydantów wyrażoną w ekwiwalencie troloxu, oznaczoną na zasadzie redukcji kationorodnika ABTS<sup>•+</sup>. Natomiast właściwości antyoksydacyjne oznaczone za pomocą testu biologicznego słabo korespondowały z tymi danymi i były bardziej uzależnione od partii owoców niż rodzajem rozpuszczalnika użytego do ekstrakcji .

## Wyniki

Zawartość związków fenolowych i antocyjanów w ekstraktach z żurawiny (A). Całkowity potencjał antyoksydacyjny ekstraktów z żurawiny oznaczony za pomocą redukcji kationorodnika ABTS<sup>•+</sup> wyrażony w ekwiwalencie troloxu (B).

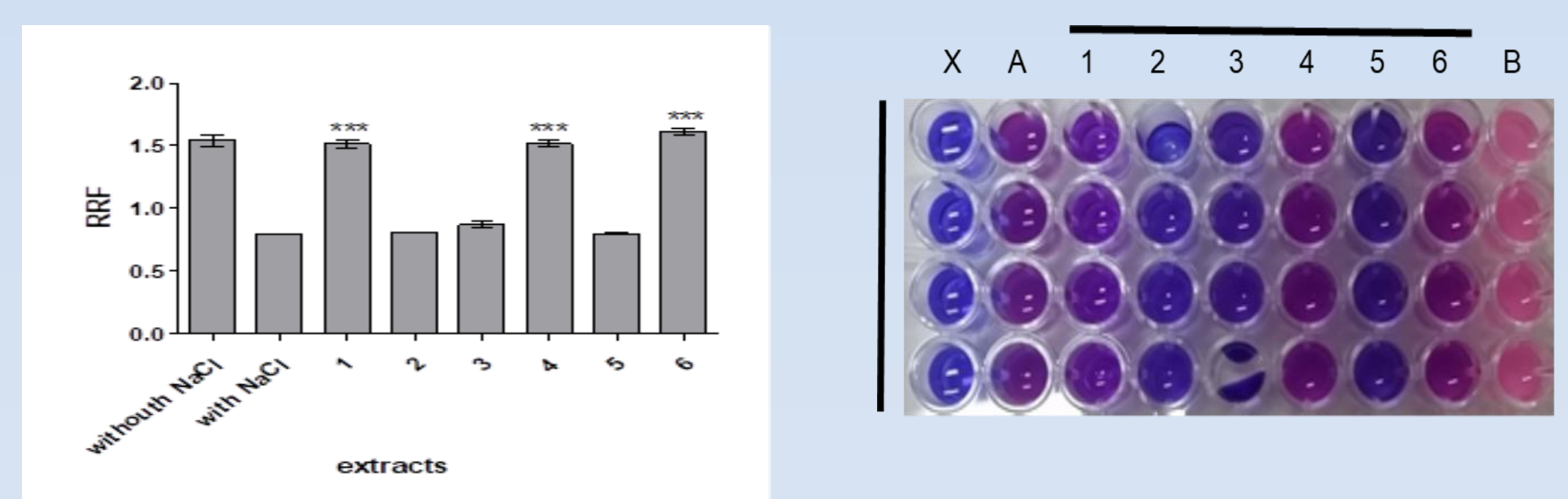


Intensywność wzrostu komórek mutantu  $\Delta sod1$  *S. cerevisiae* w podłożu hipertonicznym w obecności L-askorbinianu (A) i zredukowanego glutationu (B). Test kolorymetryczny z resazuryną zastosowany do monitorowania gęstości hodowli drożdży szczepu  $\Delta sod1$  w podłożu hipertonicznym wzbogaconym o L-askorbinian lub zredukowany glutation (C).



Kolumna X zawiera bufor PBS bez dodatku drożdży, pozostałe kolumny zawierają zawiesiny hodowli drożdży prowadzonych w podłożu hipertonicznym wzbogaconym o L-askorbinian lub zredukowany glutation

Intensywność wzrostu komórek mutantu  $\Delta sod1$  *S. cerevisiae* w podłożu hipertonicznym w obecności ekstraktów z żurawiny (A). Test kolorymetryczny z resazuryną zastosowany do monitorowania gęstości hodowli drożdży szczepu  $\Delta sod1$  w podłożu hipertonicznym wzbogaconym o ekstrakty z żurawiny.



Kolumna X zawiera bufor PBS bez dodatku drożdży, kolumna A zawiera zawiesinę drożdży  $\Delta sod1$  uzyskaną z hodowli hipertonicznej bez suplementacji (kontrola negatywna), kolumny 1-6 zawierają zawiesiny hodowli drożdży  $\Delta sod1$  prowadzonych w podłożu hipertonicznym wzbogaconym o ekstrakty z żurawiny, kolumna B zawiera zawiesiny drożdży  $\Delta sod1$  pochodzące ze standardowego podłoża izotonicznego (kontrola pozytywna).