

STRESZCZENIE

Prawidłowemu metabolizmowi w komórkach organizmu człowieka towarzyszy powstawanie reaktywnych form tlenu (RFT) i ich pochodnych. Zaburzenie fizjologicznej równowagi pomiędzy wytwarzaniem reaktywnych form tlenu a ich unieczynnieniem prowadzi do powstania tak zwanego stresu oksydacyjnego co może skutkować uszkodzeniem podstawowych struktur komórkowych.

Ludzki organizm posiada naturalne systemy obrony antyoksydacyjnej, w której skład wchodzi wiele enzymów, takich jak dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT), peroksydaza glutationowa (GPx) i reduktaza glutationowa (GR). Jednakże w czasach, gdy każdego dnia komórki narażone są na oddziaływanie ogromnych ilości czynników kancerogennych ze środowiska, konieczne jest wspomaganie systemu enzymatycznego poprzez dostarczanie egzogennych przeciwutleniaczy. Należą do nich związki drobnocząsteczkowe takie jak kwasy fenolowe czy antocyjany, witaminy C, E, A. Związki te przeciwdziałają powstawaniu uszkodzeń wywołanych działaniem RFT przez hamowanie generacji wolnych rodników lub uczestnicząc w ich przemianie w nieaktywne pochodne.

W ostatnich latach badania bardzo wyraźnie ukazują wpływ diety jako kluczowego czynnika wpływającego na stan zdrowia człowieka. To co spożywamy w dużej mierze odpowiada za prawidłowe funkcjonowanie całego organizmu na każdym etapie jego rozwoju.

Jagody, w tym owoce czarnej porzeczki wyróżniają się doskonałymi wartościami odżywczymi. Ze względu na bardzo dużą zawartość minerałów, witamin i przeciwutleniaczy są polecane z żywieniowego punktu widzenia. Są one doskonałym źródłem składników bioaktywnych, takich jak antocyjany, flawonole, procyjanidyny i kwasy fenolowe oraz witaminy C, a Polska jest jej największym producentem na świecie.

Głównym celem badań przeprowadzonych w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej było określenie wpływu spożycia nektaru z czarnych porzeczek na ogólny potencjał antyoksydacyjny surowicy krwi oraz wybrane parametry surowicy krwi korelujące z RFT w organizmie.

Do badań mających na celu określenie kształtowania się potencjału antyoksydacyjnego krwi została wykorzystana krew pobrana od 52 osób będących honorowymi dawcami krwi. Wśród wytypowanej grupy osób przeprowadzono badania

ankietowe, które miały na celu określenie wpływu takich czynników jak palenie papierosów, picie kawy, styl życia czy preferencje żywieniowe na badane parametry.

W badaniach *in vivo* uczestniczyło 14 ochotników o umiarkowanej aktywności fizycznej, podobnych nawykach żywieniowych i stylu życia. W trakcie eksperymentu całej grupie podawano rano i wieczorem przez okres czterech tygodni nektar z czarnych porzeczek w ilości 500ml dziennie, rano i wieczorem (250cm³ jednorazowo).

Po oddzieleniu surowicy z krwi pełnej pobranej z żyły łokciowej oznaczono całkowitą aktywność przeciwutleniającą w układzie badawczym z rodnikiem DPPH* i kationorodnikiem ABTS, stężenie cholesterolu całkowitego, frakcję HDL i LDL cholesterolu, stężenie kwasu moczowego, triglicerydów, kwasu L askorbinowego i związków fenolowych. Oznaczono również stężenie dialdehydu malonowego, który jest główny produktem peroksydacji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz enzymów antyoksydacyjnych takich jak katalaza, peroksydaza glutationowa i dysmutaza ponadtlenkowa. W surowicy krwi pobranej od ochotników spożywających nektar z czarnej porzeczki wykonano dodatkowo analizę antocyjanów metodą HPLC. Od grupy ochotników uczestniczących w badaniach *in vivo* w trakcie trwania eksperymentu pobierano również próbki moczu, w których oznaczono całkowitą aktywność przeciwutleniającą w układzie badawczym z rodnikiem DPPH* i kationorodnikiem ABTS, stężenie kwasu L askorbinowego oraz stężenie związków fenolowych i ich metabolitów.

Przedmiotem badań w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej były również antyoksydanty zawarte w przetworach z czarnej porzeczki. Przebadano jak na ich aktywność przeciwutleniającą może wpływać czas i warunki przechowywania oraz rodzaj obróbki technologicznej. We wszystkich przetworach oznaczono całkowitą aktywność przeciwutleniającą w układzie badawczym z rodnikiem DPPH* i kationorodnikiem ABTS oraz zawartość kwasu L-askorbinowego i antocyjanów.

W pracy wykazano, że dostarczanie konsumentom składników antyoksydacyjnych naturalnie występujących w czarnej porzeczce i jej przetworach przynosi korzyści poprzez poprawę stanu oksydacyjnego surowicy krwi. Długotrwałe spożywanie nektaru z czarnej porzeczki podniosło całkowitą zdolność antyoksydacyjną surowicy krwi u uczestników badania, co sugeruje, że zarówno owoce jak i produkty z czarnej porzeczki mogą pomóc w ochronie przed chorobami związanymi ze stresem oksydacyjnym. Wzrost całkowitego potencjału antyoksydacyjnego zarówno surowicy krwi jak i moczu ochotników spożywających przez okres czterech tygodni nektar

z czarnej porzeczki może wskazywać na to, że metabolity powstałe po rozpadzie lub przemianie antocyjanów pochodzących z tego napoju w przewodzie pokarmowym mogą nadal wykazywać aktywność przeciwutleniającą i że ta aktywność jest równie silna jak przed trawieniem.

Wykazano także, że czterotygodniowe spożywanie nektaru z czarnej porzeczki przez grupę zdrowych mężczyzn, spożywających trzy posiłki dziennie, korzystających z tej samej placówki żywienia zbiorowego typu zamkniętego skutkowało korzystnym efektem w postaci obniżenia ogólnego stężenia cholesterolu oraz frakcji LDL o około 25%. Są więc przesłanki do wnioskowania, iż nektar z czarnej porzeczki, a także inne z niej przetwory, mogą być zalecane do spożywania w cholesterolemii.

Uzyskane wyniki w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej potwierdzają, że wykorzystywany w badaniach nektar z czarnej porzeczki oraz badane dżemy i soki z tego owocu można uznać za bogate źródło substancji odżywczych w diecie o wysokim potencjale antyoksydacyjnym. W czasie czteromiesięcznego przechowywania soków i dżemu nastąpiły stosunkowo niskie spadki ich całkowitej aktywności przeciwutleniającej w porównaniu z dużymi stratami poszczególnych antocyjanów: cyjanidyno-3-rutynozydu, delfinidyno-3-rutynozydu, cyjanidyno-3-glukozydu, delfinidyno-3-glukozydu osiągające kilkadziesiąt procent. Świadczyć to może o polimeryzacji lub transformacji tych związków w inne, również wykazujące właściwości przeciwutleniające.

Z przeprowadzonych badań wynika, iż biodostępności antocyjanów jest bardzo zróżnicowana, o czym m.in. może świadczyć późne wydalanie antocyjanów rutynozydowych oraz glukozydowych tj. 12 godziny po podaniu pojedynczej dawki. Wciąż jednak brakuje wielu informacji na temat biodostępności antocyjanów oraz ich przemian które zachodzą w złożonym układzie jakim jest organizm ludzki.

ABSTRACT

Normal metabolism in the human body's cells is accompanied by the formation of reactive oxygen species (ROS) and their derivatives. Disruption of the physiological balance between the production of reactive oxygen species and their inactivation leads to so-called oxidative stress, which can result in damage to basic cellular structures.

The human body possesses natural antioxidant defence systems that include a number of enzymes, such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and glutathione reductase (GR). However, in an age when cells are exposed to huge amounts of carcinogens from the environment every day, it is necessary to support the enzyme system by supplying our bodies with exogenous antioxidants. These include small-molecule compounds such as phenolic acids or anthocyanins, vitamins C, E and A. These compounds counteract the damage caused by ROSs by inhibiting the generation of free radicals or participating in their conversion into inactive derivatives.

In recent years, research has very clearly shown the impact of diet as a key factor influencing human health. The food we consume is largely responsible for the proper functioning of the entire body at each stage of its development.

Berries, including blackcurrant berries, stand out for their excellent nutritional value. Due to their very high content of minerals, vitamins and antioxidants, they are recommended from a nutritional point of view. They are an excellent source of bioactive components such as anthocyanins, flavonols, procyanidins and phenolic acids, as well as vitamin C, the latter of which Poland is the world's largest producer.

The main objective of the research carried out within the framework of this doctoral dissertation was to determine the effect of blackcurrant nectar consumption on the overall serum antioxidant potential and selected serum parameters correlating with ROSs in the body.

Blood collected from 52 honorary blood donors was used in the study to determine the formation of the antioxidant potential of blood. A questionnaire survey was conducted among a selected group of people to determine the influence of factors such as smoking, coffee drinking, lifestyle or dietary preferences on the parameters studied.

The *in vivo* study involved 14 volunteers with moderate physical activity, similar dietary and lifestyle habits. During the experiment, the entire group was

administered blackcurrant nectar in the morning and evening for a period of four weeks at a rate of 500ml per day (250cm³ at a time).

After separating the serum from whole blood collected from the elbow vein, total antioxidant activity in the DPPH* radical and ABTS radical cation test system, total cholesterol, HDL and LDL cholesterol fractions, uric acid, triglycerides, L ascorbic acid and phenolic compounds were determined. The concentration of malondialdehyde, which is the main peroxidation product of polyunsaturated fatty acids, as well as antioxidant enzymes such as catalase, glutathione peroxidase and superoxide dismutase were also determined. Blood serum taken from volunteers consuming blackcurrant nectar was additionally analysed for anthocyanins using HPLC. Urine samples were also collected from the group of volunteers participating in the in vivo study during the experiment, in which the total antioxidant activity in the DPPH* radical and ABTS radical cation test system, the concentration of L ascorbic acid and the concentration of phenolic compounds and their metabolites were determined.

Antioxidants contained in blackcurrant preparations were also the subject of research in this doctoral dissertation. The research explored how their antioxidant activity can be affected by storage time and conditions and the type of technological processing. In all preparations, total antioxidant activity was determined in the DPPH* radical and ABTS radical cation test systems, as well as L-ascorbic acid and anthocyanin content.

The study shows that supplying consumers with antioxidant components naturally found in blackcurrant and its preparations is beneficial as it improves the oxidative status of blood serum. Long-term consumption of blackcurrant nectar increased the total antioxidant capacity of blood serum in study participants, suggesting that both fruit and blackcurrant products may help protect against oxidative stress-related diseases. The increase in the total antioxidant potential of both blood serum and urine of volunteers consuming blackcurrant nectar over a period of four weeks may indicate that the metabolites formed after the breakdown or transformation of anthocyanins derived from this beverage in the gastrointestinal tract may still exhibit antioxidant activity and that this activity is as strong as before digestion.

It was also shown that a four-week intake of blackcurrant nectar by a group of healthy men, eating three meals a day, using the same closed-type mass catering facility resulted in a beneficial effect of lowering total cholesterol and LDL fractions by approximately 25%. Thus, there are indications that blackcurrant nectar, as well as other

blackcurrant preparations, may be recommended for consumption when suffering from cholesterolaemia.

The results obtained as part of this doctoral dissertation confirm that the blackcurrant nectar used in the study and the examined jams and juices from this fruit qualify as a rich source of dietary nutrients with a high antioxidant potential. During the four-month long storage of the juices and jam, there were relatively low decreases in their total antioxidant activity compared to the high losses of individual anthocyanins: cyanidin-3-rutinoside, delphinidin-3-rutinoside, cyanidin-3-glucoside, delphinidin-3-glucoside reaching several dozen per cent. This may indicate polymerisation or transformation of these compounds into others, which also exhibit antioxidant properties.

The conducted studies show that the bioavailability of anthocyanins varies greatly, which can be seen, among other things, in the late excretion of rutinoside and glucoside anthocyanins, i.e. 12 hours after administration of a single dose. However, there is still a lack of information on the bioavailability of anthocyanins and their transformations that take place in a complex system such as the human body.