

ROBERT SOCHA, CELINA HABRYKA, LESŁAW JUSZCZAK

WPLYW DODATKU PIERZGI NA ZAWARTOŚĆ WYBRANYCH ZWIĄZKÓW POLIFENOLOWYCH ORAZ AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCĄ MIODU

Streszczenie

Celem pracy była ocena wpływu wzbogacania miodu wielokwiatowego pierzgą na zawartość wybranych związków fenolowych oraz aktywność przeciwutleniającą. Materiał doświadczalny stanowiły miody wielokwiatowe oraz miody wzbogacane pierzgą pochodzące z trzech pasiek zlokalizowanych w południowej Polsce. W próbkach oznaczono całkowitą zawartość polifenoli oraz flawonoidów, całkowitą aktywność przeciwutleniającą, przeciwrodnikową w reakcji z DPPH[•] oraz zdolność redukcyjną metodą FRAP. Zawartość wybranych kwasów fenolowych oraz flawonoidów oznaczono metodą HPLC. Miody wielokwiatowe zawierały 41,66 ÷ 55,54 mg GAE/100 g związków fenolowych oraz 7,49 ÷ 13,05 mg QE/100 g flawonoidów. Wzbogacanie miodu pierzgą istotnie zwiększyło zawartość polifenoli i flawonoidów zależnie od pochodzenia próbki. Maksymalna zawartość związków fenolowych w miodach wzbogaconych pierzgą wynosiła 138,15 mg GAE/100 g, natomiast flawonoidów – 48,31 mg QE/100 g. Odnotowano również istotny wzrost zawartości poszczególnych kwasów fenolowych i flawonoidów w próbkach wzbogaconych pierzgą. Wśród oznaczonych kwasów fenolowych dominujący był kwas galusowy, którego maksymalna zawartość wynosiła 36,09 mg/100 g, a wśród flawonoidów – kemferol (maksymalnie 4,0 mg/100 g). We wszystkich przypadkach dodatek pierzgi do miodu istotnie wpłynął na wzrost jego aktywności przeciwutleniającej i przeciwrodnikowej oraz zdolności redukcyjnej. Aktywność przeciwrodnikowa wzrosła z poziomu 5,65 ÷ 17,71 % w miodach wielokwiatowych do 51,39 ÷ 82,17 % w miodach wzbogaconych. Zdolność redukcyjna wzrosła natomiast z poziomu 1,64 ÷ 6,99 μM Fe(II)/100 g do 11,96 ÷ 27,60 μM Fe(II)/100 g w przypadku miodów wzbogaconych pierzgą. Zaobserwowano istotną korelację liniową pomiędzy zawartością polifenoli ogółem a całkowitą aktywnością przeciwutleniającą i zdolnością redukcyjną.

Słowa kluczowe: miód, pierzga, profil fenolowy, aktywność przeciwutleniająca

Wprowadzenie

Miód należy do produktów łatwo przyswajanych przez organizm człowieka. Dostarcza wielu substancji istotnie wpływających na zwiększenie aktywności układu pokarmowego w zakresie przyswajania cukrów i wykorzystania ich wartości energetycznej [5, 10]. Miód jako nośnik wielu substancji bioaktywnych jest istotnym czynnikiem wspomagającym leczenie chorób, gdyż charakteryzuje się silnymi właściwościami przeciwbakteryjnymi [5, 10]. Zawdzięcza to między innymi enzymom wytwarzanym przez pszczoły oraz związkom polifenolowym zawartym w miodzie [4, 9, 21, 25]. Ilość polifenoli jest uzależniona głównie od pochodzenia botanicznego oraz geograficznego miodu [2]. Kwasy fenolowe oraz flawonoidy dostarczane z miodem do organizmu człowieka odgrywają bardzo ważną rolę. Przyczyniają się m.in. do dezaktywacji wolnych rodników, wykazują działanie bakteriobójcze, przeciwnowotworowe i przeciwzapalne [3, 22, 24]. Miody ciemne, takie jak spadziowy, gryczany czy wrzosowy, uważa się za bardziej wartościowe ze względu na większą zawartość związków bioaktywnych, w tym kwasów fenolowych i flawonoidów [24].

Dobroczynne działanie miodu może być wspomagane wzbogacaniem w inne produkty pszczele [18]. Dodatkiem do miodu może być pierzga, która jest pyłkiem kwiatowym z dodatkiem niewielkiej ilości miodu i wydzieliny pszczelich gruczołów ślinowych poddanym fermentacji mlekowej w warunkach beztlenowych pod wpływem enzymów zawartych w ślinie pszczół oraz bakterii z rodzaju *Lactobacillus* [7, 8, 11]. Dzięki procesowi fermentacji pierzga staje się lepiej przyswajalna w porównaniu do pyłku pszczelego, ponieważ obecne w niej składniki pokarmowe ulegają znacznym przemianom chemicznym [11]. Po kilku tygodniach przechowywania w ulu pierzga zawiera ok. 15 % mniej białka niż świeży pyłek pszczeli, natomiast znacznie zwiększa się w niej zawartość peptydów i wolnych aminokwasów [8]. Dzięki fermentacji mlekowej z cukrów prostych powstaje kwas mlekowy, który obniża pH powstałego produktu z wartości ok. 6,3 do 4,3 [8, 11]. Pierzga charakteryzuje się wyższą wartością odżywczą niż pyłek, lepszą przyswajalnością i bogatszym składem chemicznym [6, 7, 11]. Jest produktem o dużej zawartości białkowych związków azotowych, witamin, składników mineralnych, węglowodanów oraz substancji bioaktywnych, w tym o charakterze polifenoli [3, 11, 17]. Jest lepiej przyswajalna przez organizm człowieka niż pyłek kwiatowy, ponieważ w procesie przetwarzania pyłku na pierzgę zostają zniszczone otoczki pyłkowe. Działa wielokierunkowo, wzmacniając organizm i przywracając jego prawidłowe funkcjonowanie [8]. Pierzga, podobnie jak pyłek, charakteryzuje się cennymi właściwościami leczniczymi i odtruwającymi, a zastosowanie jej jest analogiczne jak pyłku [8]. Oprócz właściwości przeciwutleniających pierzga, podobnie jak miód, wykazuje właściwości przeciwdrobnikowe [15].

Najbardziej naturalnym sposobem wprowadzenia pierzgi i innych produktów pszczelich do diety człowieka wydaje się być jej dodatek do miodu [18].

Celem niniejszej pracy była ocena wpływu wzbogacenia miodu wielokwiatowego pierzgą na zawartość wybranych kwasów fenolowych i flawonoidów oraz jego właściwości przeciwutleniające.

Material i metody badań

Material doświadczalny stanowiły miody wielokwiatowe wzbogacone pierzgą. Analizom poddano próbki miodów pochodzące z trzech różnych pasiek południowej Polski pobrane w tym samym roku. Próbki pochodzące z każdej pasieki obejmowały miód wielokwiatowy oraz miód wzbogacony pierzgą w ilości 10 % (producent A) i 20 % m/m (producenci B i C) – zgodnie z deklaracją producentów zamieszczoną na etykietach.

Ekstrakcje składników o charakterze polifenoli wykonywano metodą opisaną przez Sochę i wsp. [19]. Próbkę każdego miodu rozpuszczano w wodzie dejonizowanej, zakwaszono do pH 2, a następnie wysycano NaCl (POCh, Polska). Uzyskany roztwór trzykrotnie ekstrahowano octanem etylu (POCh, Polska). Ekstrakty łączono i zagęszczano w wyparce próżniowej (RVO 200, Ingos, Republika Czeska) w temp. 40 °C w atmosferze argonu. Pozostałość rozpuszczano w metanolu (POCh, Polska). Tak otrzymane ekstrakty poddawano analizom spektrofotometrycznym oraz chromatograficznym.

Całkowitą zawartość związków fenolowych oznaczano spektrofotometrycznie w reakcji z odczynnikiem Folina-Ciocalteu'a [14]. Do wykreślenia krzywej wzorcowej zastosowano kwas galusowy (Sigma-Aldrich, Niemcy). Pomiar absorpcji przy użyciu spektrofotometru V-630 (Jasco, Japonia) wykonywano przy długości fali $\lambda = 760$ nm. Wyniki przedstawiano w mg kwasu galusowego (GAE) na 100 g miodu.

Całkowitą zawartość flawonoidów oznaczano spektrofotometrycznie w reakcji z chlorkiem glinu [1]. Do wykreślenia krzywej wzorcowej zastosowano kwercetynę (Sigma-Aldrich, Niemcy). Pomiar absorpcji wykonywano przy długości fali $\lambda = 510$ nm. Wyniki przedstawiano w mg kwercetyny (QE) na 100 g miodu.

Zawartość kwasów fenolowych (chlorogenowego, ferulowego, galusowego, kawowego, p-kumarowego i synapinowego) oraz flawonoidów (chryzyny, galanginy, kemferolu i kwercetyny) oznaczano metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej, stosując układ HPLC LC-NetII/ADC (Jasco, Japonia) z detekcją spektrofotometryczną. Pomiar wykonywano przy długościach fal [18, 20]:

- $\lambda = 280$ nm – kwas galusowy i chryzyna,
- $\lambda = 320$ nm – kwasy chlorogenowy, ferulowy, kawowy, p-kumarowy i synapinowy,
- $\lambda = 360$ nm – galangina, kwercetyna i kemferol.

Rozdziału oznaczanych polifenoli dokonywano w układzie odwróconych faz, stosując kolumnę Purospher (Merck, Niemcy, 25 × 0,4 cm, 5 μ m) w temp. 30 °C oraz

elucję gradientową – 2,5-procentowy roztwór kwasu octowego/acetonietyl (Merck, Niemcy) przy szybkości przepływu $1 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$. Jakościową identyfikację oznaczanych związków fenolowych z wykorzystaniem detektora DAD MD-2018 plus (Jasco, Japonia) wykonywano przez porównywanie widm UV rozdzielanych substancji z widmami odpowiednich substancji wzorcowych (Fluka Chemie AG, Szwajcaria oraz Sigma-Aldrich, Niemcy).

Całkowitą aktywność przeciwutleniającą oznaczano metodą polegającą na pomiarze absorbancji barwnego kompleksu powstałego w reakcji polifenoli z mieszaniną reakcyjną zawierającą molibdenian(VI) amonu [16]. Całkowitą aktywność przeciwutleniającą wyrażano jako wartość absorbancji mierzonej przy długości fali $\lambda = 695 \text{ nm}$.

Oznaczanie zdolności badanych miodów do dezaktywacji wolnych rodników wykonywano w reakcji z rodnikiem DPPH^{*} (2,2-difenylo-1-pikrylohydrozylowym) – Sigma-Aldrich, Niemcy [2, 20]. Pomiar absorbancji wykonywano przy długości fali $\lambda = 515 \text{ nm}$. Aktywność przeciwrodnikową wyrażano jako procent inhibicji rodnika.

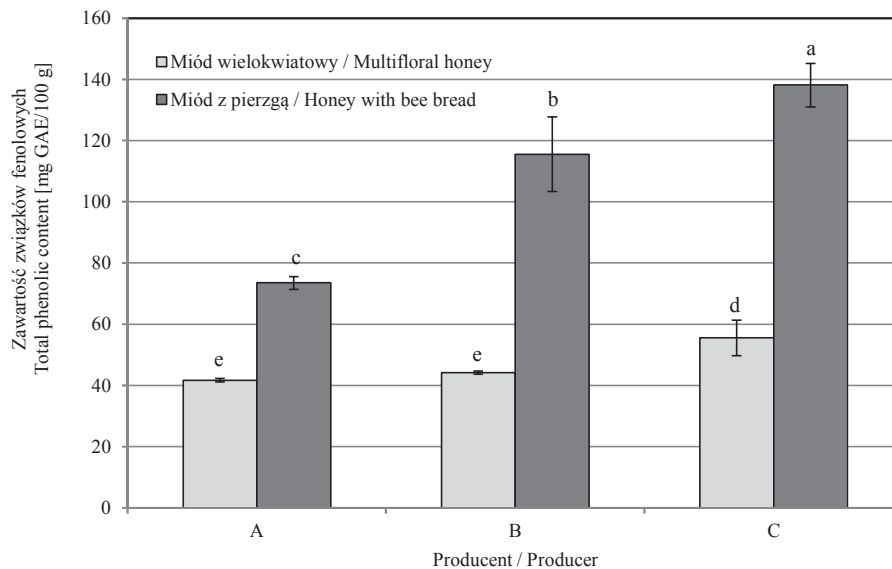
Zdolność redukcyjną oznaczano spektrofotometryczną metodą FRAP [20] polegającą na określeniu zdolności redukcji jonów żelaza(III), które są następnie kompleksowane przez TPTZ (2,4,6-tris(2-pirydylo)-s-triazynę) – Sigma-Aldrich, Niemcy. Pomiar absorbancji wykonywano przy długości fali $\lambda = 593 \text{ nm}$. Wynik wyrażano w $\mu\text{M Fe(II)}/100 \text{ g}$ miodu.

Wszystkie pomiary spektrofotometryczne wykonano w trzech powtórzeniach, natomiast analizy chromatograficzne dwukrotnie. W celu oceny istotności różnicy pomiędzy wartościami średnimi oznaczanych parametrów zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji oraz test Duncana przy poziomie istotności 0,05. Ponadto pomiędzy wybranymi parametrami obliczono współczynniki korelacji liniowej Pearsona. Obliczenia wykonano w programie MS Excel 2007.

Wyniki i dyskusja

Całkowitą zawartość związków fenolowych w miodach wielokwiatowych oraz w miodach wzbogaconych pierzgą przedstawiono na rys. 1. W miodach niewzbogaconych zawartość tych związków wynosiła $41,66 \div 55,54 \text{ mg GAE}/100 \text{ g}$, przy średniej wartości wynoszącej $47,13 \text{ mg GAE}/100 \text{ g}$. Otrzymane wartości są zbliżone do danych dotyczących miodów wielokwiatowych podawanych w literaturze [11, 12, 21, 24]. Istotny wpływ na zawartość związków fenolowych ma nie tylko odmiana, ale również pochodzenie miodu [12, 21]. Dodatek pierzgi do miodu wpłynął na wzrost całkowitej zawartości związków fenolowych (rys. 1). Zawartość polifenoli ogółem mieściła się w przedziale $73,51 \div 138,15 \text{ mg GAE}/100 \text{ g}$ wzbogaconego miodu, przy średniej wartości na poziomie $109,07 \text{ mg GAE}/100 \text{ g}$. Również Majewska i Trzanek [13] zaobserwowały istotny wzrost zawartości związków polifenolowych w miodach wzbogaco-

nych różnymi produktami pszczelimi. Według Ivanišová i wsp. [7] pierzga jest cennym źródłem polifenoli, a ich zawartość waha się w granicach 12,4 ÷ 25,4 mg GAE/g.



Objaśnienia / Explanatory notes:

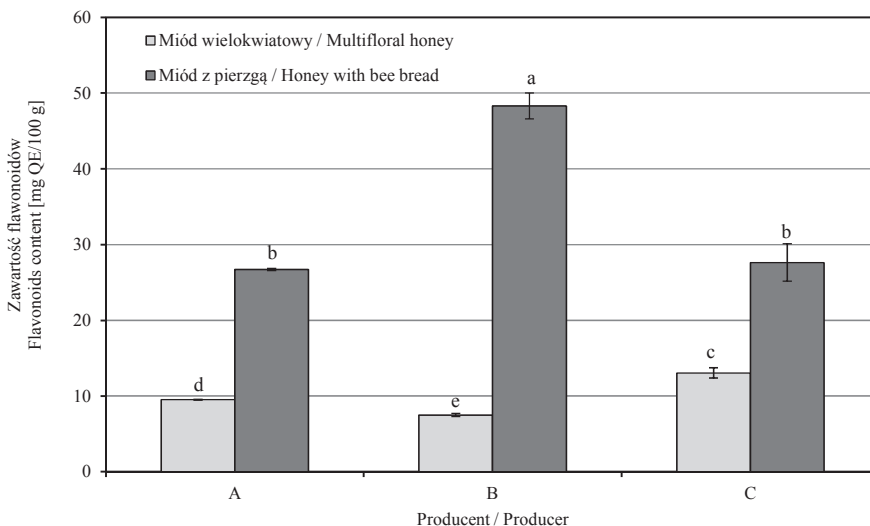
Na rysunku przedstawiono wartości średnie (w postaci słupków) i odchylenia standardowe (w postaci odcinków) / Figure shows mean values (bars) and standard deviations (line segments); a, b, c, d, e – wartości średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie ($p > 0,05$) / mean values denoted by the same letters do not differ statistically significantly ($p > 0.05$).

Rys. 1. Zawartość związków fenolowych ogółem w ekstraktach miodów wielokwiatowych oraz miodów wzbogaconych pierzgą

Fig. 1. Total phenolic content in extracts of multifloral honeys and in honeys enriched with bee bread

Na rys. 2. przedstawiono wyniki oznaczania całkowitej zawartości flawonoidów w miodach wielokwiatowych oraz w miodach wzbogaconych pierzgą. Minimalna zawartość flawonoidów w miodach wielokwiatowych wynosiła 7,49 mg QE/100 g, natomiast maksymalna – 13,05 mg QE/100 g, przy średniej zawartości wynoszącej 10,02 mg QE/100 g. Uzyskane wartości zbliżone są do danych literaturowych [21, 22, 23]. Wzbogacenie miodu pierzgą wpłynęło na wzrost całkowitej zawartości flawonoidów. W przypadku producentów A i C wzrost ten wynosił odpowiednio: 180 i 111 %, a w miodach producenta B wzrost zawartości flawonoidów wyniósł ponad 500 %. Całkowita zawartość flawonoidów w miodzie z pierzgą mieściła się w zakresie 26,72 ÷ 48,31 mg QE/100 g, przy średniej zawartości 34,22 mg QE/100 g. Wynika to z faktu, że pierzga jest bogatym źródłem flawonoidów. Jak podają Ivanišová i wsp. [7], zawar-

tość flawonoidów w tym produkcie pszczelim waha się w granicach $13,6 \div 18,2$ mg QE/g.



Objaśnienia jak pod rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 2. Zawartość flawonoidów w ekstraktach miodów wielokwiatowych oraz miodów wzbogaconych pierzgą

Fig. 2. Flavonoids content in extracts of multifloral honeys and in honeys enriched with bee bread

Kwasy fenolowe występujące w miodach są ważną grupą związków fenolowych. Wyniki zawartości poszczególnych kwasów fenolowych w badanych miodach wielokwiatowych oraz w miodach wzbogaconych pierzgą przedstawiono w tab. 1.

Dominującym kwasem fenolowym w miodach wielokwiatowych był kwas galusowy, którego zawartość wynosiła $0,69 \div 1,39$ mg/100 g. W pozostałych próbkach miodów stwierdzono również obecność kwasów: ferulowego, p-kumarowego oraz synapinowego. Świetlikowska i wsp. [22] stwierdziły w miodach wielokwiatowych obecność kwasu kawowego, ferulowego, cynamonowego i chlorogenowego. Natomiast Wilczyńska [23] podaje, że powszechnie występującymi kwasami fenolowymi w miodach różnego pochodzenia są kwasy: p-hydroksybenzoesowy, syrynginowy, ferulowy i p-kumarowy, a w największych ilościach występuje kwas benzoesowy i p-hydroksybenzoesowy. Ponadto cytowana autorka wykazała, że pochodzenie botaniczne miodu istotnie wpływa na zawartość niektórych kwasów fenolowych. Dodatek pierzgi do miodu spowodował istotny wzrost zawartości wszystkich oznaczanych kwasów fenolowych (tab. 1). W największym stopniu wzrosła zawartość kwasu galusowego, a najwięcej zawierał go produkt pochodzący od producenta C. Wskazuje to na dużą zawartość tego kwasu w pierzdze. Stwierdzono również obecność kwasu chlorogenowego, którego nie oznaczono w miodach wielokwiatowych niewzbogaconych oraz kwasu

kawowego, którego zawartość była poniżej limitu oznaczalności w miodach od producentów A i B. Według Kieliszka i wsp. [11] kwas chlorogenowy jest jednym z częściej występujących polifenoli w próbkach pierzgi. Stwierdzono również, że zawartość kwasu ferulowego, galusowego oraz synapinowego istotnie koreluje liniowo z całkowitą zawartością związków fenolowych (odpowiednio: $r = 0,94$, $0,97$ i $0,93$). Ponadto zawartość kwasu ferulowego i galusowego istotnie liniowo korelowała z całkowitą aktywnością przeciwutleniającą (odpowiednio: $r = 0,97$ i $0,90$) oraz zdolnością redukcyjną (odpowiednio: $r = 0,93$ i $0,89$).

Tabela 1. Zawartość kwasów fenolowych w ekstraktach miodów wielokwiatowych oraz miodów wzbogaconych pierzgą

Table 1. Phenolic acids content in extracts of multifloral honeys and in honeys enriched with bee bread

Kwas fenolowy Phenolic acid [mg/100 g]	Producent / Producer					
	A		B		C	
	Rodzaj miodu / Type of honey					
	MW	MP	MW	MP	MW	MP
Chlorogenowy Chlorogenic	n.d.	0,32 ^c ± 0,05	n.d.	0,79 ^b ± 0,05	n.d.	6,72 ^a ± 0,41
Ferulowy Ferulic	0,17 ^d ± 0,01	0,34 ^c ± 0,02	0,13 ^d ± 0,01	1,90 ^b ± 0,11	0,07 ^e ± 0,00	4,04 ^a ± 0,30
Galusowy Gallic	0,84 ^e ± 0,02	19,09 ^c ± 1,57	1,39 ^d ± 0,12	26,93 ^b ± 1,27	0,69 ^e ± 0,09	36,09 ^a ± 1,42
Kawowy Caffeic	n.d.	0,09 ^b ± 0,01	n.d.	0,10 ^b ± 0,01	0,05 ^c ± 0,01	0,77 ^a ± 0,10
p-Kumarowy p-Coumaric	0,06 ^d ± 0,00	0,11 ^c ± 0,01	0,11 ^c ± 0,01	1,68 ^a ± 0,12	0,02 ^e ± 0,01	0,28 ^b ± 0,00
Synapinowy Sinapic acid	0,07 ^d ± 0,01	0,24 ^c ± 0,01	0,06 ^d ± 0,01	0,80 ^a ± 0,02	0,01 ^e ± 0,00	0,65 ^b ± 0,03

Objaśnienia / Explanatory notes:

MW – miód wielokwiatowy / multifloral honey; MP – miód z pierzgą / honey with bee bread; n.d. – poniżej limitu oznaczalności / below quantification limit. W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviation; a, b, c, d, e – wartości średnie w wierszach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie ($p > 0,05$) / mean values in rows denoted by the same letters do not differ statistically significantly ($p > 0.05$).

Zawartość flawonoidów oznaczonych w badanych miodach wielokwiatowych oraz miodach wzbogacanych pierzgą zestawiono w tab. 2. We wszystkich miodach oznaczono chryzynę oraz kemferol, galaninę – tylko w miodzie z pasieki C, natomiast w żadnej próbce nie stwierdzono obecności kwercetyny w postaci aglikonu. Do flawonoidów najczęściej identyfikowanych w miodach polskich należą: chryzyna, kwercetyna, kemferol i apigenina [23]. Świetlikowska i wsp. [22] oznaczyły w miodzie wie-

lokwiatowym kemferol oraz glikozydy i rutynozydy kwercetyny. Nie stwierdziły natomiast obecności luteoliny i naryngeniny, charakterystycznych dla miodu lipowego oraz wolnej kwercetyny. Natomiast Wilczyńska [23, 25] podaje, że dominującymi flawonoidami w polskich miodach są: chryzyna, kwercetyna, kemferol i apigenina. Dodatek pierzgi do miodów spowodował wzrost zawartości flawonoidów (tab. 2), największy w przypadku kemferolu w próbce od producenta B. Stwierdzono również obecność galanginy i kwercetyny, których zawartość w miodach niewzbogacanych znajdowała się jednak poniżej limitu oznaczalności. Obserwacje te znajdują odzwierciedlenie w danych literaturowych. Sobral i wsp. [17] oraz Kieliszek i wsp. [11] podają, że dominującymi flawonoidami w pierzdze są kwercetyna i kemferol. Również znaczne ilości kwercetyny w pierzdze litewskiej stwierdzili Čeksteryte i wsp. [3]. Zawartość kemferolu silnie korelowała z całkowitą zawartością związków fenolowych ($r = 0,83$) oraz flawonoidów ($r = 0,84$).

Tabela 2. Zawartość flawonoidów w ekstraktach miodów wielokwiatowych oraz miodów wzbogaconych pierzga

Table 2. Flavonoids content in extracts of multifloral honey and in honey enriched with bee bread

Flawonoid Flavonoid [mg/100 g]	Producent / Producer					
	A		B		C	
	Rodzaj miodu / Type of honey					
	MW	MP	MW	MP	MW	MP
Chryzyna Chrysin	0,03 ^c ± 0,01	0,13 ^b ± 0,01	0,03 ^c ± 0,01	0,10 ^b ± 0,02	0,16 ^a ± 0,03	0,18 ^a ± 0,01
Galangina Galangin	n.d.	0,32 ^b ± 0,01	n.d.	0,57 ^a ± 0,01	0,11 ^d ± 0,01	0,24 ^c ± 0,02
Kemferol Kaempferol	0,01 ^f ± 0,00	0,10 ^d ± 0,01	0,03 ^e ± 0,00	4,00 ^a ± 0,01	1,23 ^c ± 0,07	2,57 ^b ± 0,12
Kwercetyna Quercetin	n.d.	0,19 ^c ± 0,01	n.d.	0,66 ^b ± 0,01	n.d.	1,10 ^a ± 0,05

Objaśnienia jak pod tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

Badane miody charakteryzowały się zróżnicowaną aktywnością przeciwutleniającą (tab. 3). Wzbogacenie miodów pierzga wpłynęło na istotne zwiększenie ich całkowitej aktywności przeciwutleniającej. Wcześniejsze badania [12, 18] również wskazują na znaczny wzrost potencjału przeciwutleniającego miodów po wzbogaceniu ich różnymi produktami pszczelimi. Najniższą zdolnością przeciwutleniającą charakteryzował się miód wielokwiatowy z pasieki C, chociaż zawierał on najwięcej związków polifenolowych ogółem. Jednak o aktywności przeciwutleniającej decyduje nie tylko ilość, ale również struktura związków fenolowych, a szczególnie liczba i położenie grup

Tabela 3. Właściwości przeciwutleniające, przeciwrodnikowe i redukujące ekstraktów miodów wielokwiatowych oraz miodów wzbogaconych pierzgą
 Table 3. Antioxidant, antiradical, and reducing properties of extracts of multifloral honey and honey enriched with bee bread

Producent Producer	Rodzaj miodu Type of honey	Aktywność przeciwutleniająca Antioxidant activity [A.U.]	Aktywność przeciwrodnikowa Antiradical activity [%]	Zdolność redukcyjna Reducing power [$\mu\text{M Fe(II)}$ /100 g]
A	MW	0,455 ^d \pm 0,009	17,71 ^d \pm 0,88	6,61 ^c \pm 0,34
	MP	0,628 ^c \pm 0,004	77,50 ^b \pm 2,84	12,11 ^b \pm 0,05
B	MW	0,295 ^e \pm 0,008	15,56 ^d \pm 1,83	6,99 ^c \pm 0,37
	MP	0,804 ^b \pm 0,083	82,17 ^a \pm 0,84	11,96 ^{ba} \pm 0,90
C	MW	0,179 ^f \pm 0,008	5,65 ^e \pm 0,26	1,64 ^d \pm 0,11
	MP	1,731 ^a \pm 0,030	51,39 ^c \pm 3,37	27,60 ^a \pm 0,33

Objaśnienia / Explanatory notes:

Wartości średnie w kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie istotnie ($p > 0,05$) / Mean values in columns denoted by the same letter do not differ statistically significantly ($p > 0,05$). Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 1. / Other explanatory notes as in Fig. 1.

hydroksylowych w cząsteczce. Po wzbogaceniu aktywność ta wzrosła ok. dziesięciokrotnie i była najwyższa wśród analizowanych próbek. Wiele wyników badań wskazuje na korelację pomiędzy zawartością związków fenolowych a aktywnością przeciwutleniającą [12, 18, 20]. Również wyniki uzyskane w tych badaniach potwierdzają wysoką korelację liniową ($r = 0,90$) pomiędzy całkowitą zawartością związków fenolowych a całkowitą aktywnością przeciwutleniającą. Badane miody odznaczały się również zróżnicowaną aktywnością przeciwrodnikową i zdolnością redukcyjną (tab. 3). Podobnie jak w przypadku całkowitej aktywności przeciwutleniającej, najniższą aktywność przeciwrodnikową oraz zdolność redukcyjną wykazywał miód uzyskany od producenta C. W pozostałych dwóch przypadkach zróżnicowanie wartości omawianych właściwości nie było istotne. Wzbogacenie miodu pierzgą spowodowało istotny wzrost zarówno aktywności przeciwrodnikowej, jak i zdolności redukcyjnej, co jest wynikiem istotnego wzrostu zawartości substancji o charakterze polifenoli odpowiedzialnych za ten potencjał. Największy wzrost zaobserwowano w przypadku próbki C o najniższej początkowej aktywności. Ponadto stwierdzono istotną korelację liniową pomiędzy całkowitą zawartością polifenoli a zdolnością redukcyjną ($r = 0,89$) oraz całkowitą zawartością flawonoidów a aktywnością przeciwrodnikową ($r = 0,86$).

Wnioski

1. Wzbogacanie miodu pierzgą jest najbardziej naturalnym sposobem wykorzystania potencjału tego produktu pszczelego w dostarczaniu do organizmu człowieka różnorodnej gamy związków biologicznie aktywnych.
2. Wzbogacanie miodu pierzgą powoduje istotny wzrost całkowitej zawartości związków fenolowych i flawonoidów, w tym poszczególnych kwasów fenolowych i flawonoidów, co skutkuje wzrostem aktywności przeciwutleniającej i przeciwrodnikowej oraz zdolności redukcyjnej.
3. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono istotną liniową korelację pomiędzy całkowitą zawartością związków fenolowych a całkowitą aktywnością przeciwutleniającą i zdolnością redukcyjną oraz zawartością flawonoidów a aktywnością przeciwrodnikową. Również zawartość poszczególnych kwasów fenolowych i flawonoidów oznaczona chromatograficznie korelowała liniowo z wybranymi parametrami charakteryzującymi potencjał przeciwutleniający.
4. Dodatek pierzgi do miodu wymaga dalszych badań dotyczących jej wpływu na atrakcyjność sensoryczną miodu oraz parametry charakteryzujące jego jakość handlową.

Badania zrealizowano w ramach DS/3700/WTŻ UR w Krakowie.

Literatura

- [1] Ardestani A., Yazdanparast R.: Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. Food Chem., 2007, 104, 21-29.
- [2] Baltrušaityte V., Venskutonis P.R., Čeksteryte V.: Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts. Food Chem., 2007, 101, 502-514.
- [3] Čeksteryte V., Kazlauskas S., Račys J.: Composition of flavonoids in Lithuanian honey and beebread. Biologija, 2006, 2, 28-33.
- [4] Holderna-Kędzia E., Kędzia B.: Badania nad przeciwutleniającymi właściwościami miodu pszczelego. Acta Agrobotanica, 2006, 59, 265-269.
- [5] Holderna-Kędzia E., Kędzia B.: Leki z pasieki. Drukarnia Księży Werbistów, Włocławek 2005.
- [6] Isidorov V.A., Isidorova A.G., Szczepaniak L., Czyżewska U.: Gas chromatographic-mass spectrometric investigation of the chemical composition of beebread. Food Chem., 2009, 115, 1056-1063.
- [7] Ivanišová E., Kačániová M., Frančáková H., Petrová J., Hutková J., Brovarskyi V., Velychko S., Adamchuk L., Schubertová Z., Musilová J.: Bee bread – perspective source of bioactive compounds for future. Potravinárstvo, 2015, 1 (9), 592-598.
- [8] Jung Cz.: Pierzga pszczela. Pasieka. 2007, 4, 16-17.
- [9] Kędzia B., Holderna-Kędzia E.: Występowanie związków fenolowych w miodzie pszczelim. Postępy Fitoterapii, 2008, 4, 225-232.
- [10] Kędzińska-Matysek M.: Produkty pszczele – znaczenie biologiczne i właściwości lecznicze. Przem. Spoż., 2014, 68 (11), 34-37.

- [11] Kieliszek M., Piwowarek K., Kot A.M., Błażej S., Chlebowska-Śmigiel A., Wolska I.: Pollen and bee bread as new health-oriented products: A review. *Trends Food Sci. Technol.* 2018, 71, 170-180.
- [12] Majewska E., Kowalska J., Drużyńska B., Derewiaka D., Ciecierska M.: Badanie korelacji pomiędzy zawartością polifenoli ogółem a zdolnością do dezaktywacji rodników DPPH w wybranych miodach pszczelich. *Aparatura Badawcza i Dydaktyczna*, 2014, 2, 127-133.
- [13] Majewska E., Trzaniek J.: Właściwości przeciwutleniające miódów wielokwiatowych i innych produktów pszczelich. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009, XLII (4), 1089-1094.
- [14] Meda A., Euloge Lamien Ch., Romito M., Millogo J., Germaine Nacoulma O.: Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.*, 2005, 91, 571-577.
- [15] Nagai T., Nagashima T., Myoda T., Inoue R.: Preparation and functional properties of extracts from bee bread. *Molec. Nutr. Food Res.*, 2004, 48 (3), 226-229.
- [16] Prieto P., Pineda M., Aguilar M.: Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Anal. Biochem.*, 1999, 269, 337-341.
- [17] Sobral F., Calhella R.C., Barros L., Dueñas M., Tomás A., Santos-Buelga C., Vilas-Boas M., Ferreira I.C.F.R.: Flavonoid composition and antitumor activity of bee bread collected in Northeast Portugal. *Molecules*, 2017, 22 (2), 248.
- [18] Socha R., Habryka C., Juszcak L.: Wpływ dodatku propolisu na zawartość wybranych związków polifenolowych oraz aktywność przeciwutleniającą miodu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2016, 5(108), 127-139.
- [19] Socha R., Juszcak L., Pietrzyk S., Fortuna T.: Antioxidant activity and phenolic composition of herbhoney. *Food Chem.*, 2009, 113, 568-574.
- [20] Socha R., Gałkowska D., Bugaj M., Juszcak L.: Phenolic composition and antioxidant activity of propolis from various regions of Poland. *Nat. Prod. Res.*, 2015, 29, 416-422.
- [21] Socha R., Juszcak L., Pietrzyk S., Gałkowska D., Fortuna T., Witczak T.: Phenolic profile and antioxidant properties of Polish honeys. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2011, 46, 528-534.
- [22] Świetlikowska K., Hallmann E., Sławińska J., Rembiałkowska E.: Ocena zawartości związków polifenolowych ogółem, w tym kwasów fenolowych i flawonoidów w różnych odmianach miódów ekologicznych i konwencjonalnych. *Post. Techn. Przetw. Spoż.*, 2013, 2, 65-69.
- [23] Wilczyńska A.: Oznaczanie zawartości flawonoidów i fenolokwasów w odmianowych miodach pszczelich. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2012, XLV (3), 892-896.
- [24] Wilczyńska A.: Phenolic content and antioxidant activity of different types of Polish honey – a short report. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2010, 60 (4), 309-313.
- [25] Wilczyńska A., Przybyłowski P.: Charakterystyka związków fenolowych zawartych w miodach. *Zesz. Nauk. Akademii Morskiej w Gdyni*. 2009, 61 (11), 33-38.

EFFECT OF BEE BREAD ADDITIVE ON CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF HONEY

Summary

The objective of the study was to assess the effect of enriching multifloral honey with bee bread on the content of phenolic compounds and antioxidant activity. The research material consisted of multifloral honey and honey enriched with bee bread; the honey was derived from three apiaries located in southern Poland. In the samples, the following was determined: total contents of polyphenol and flavonoids, total antioxidant activity, antiradical activity in the reaction with DPPH^{*}, and reducing power by a FRAP meth-

od. The contents of some selected phenolic acids and flavonoids were determined by HPLC. The multifloral honey contains $41.66 \div 55.54$ mg GAE/100 g of phenolic compounds and $7.49 \div 13.05$ mg QE/100 g of flavonoids. Enriching the honey with bee bread caused the contents of polyphenols and flavonoids to increase depending on the origin of the sample. In the honey enriched by bee bread, the maximum content of phenolic compounds was 138.15 mg GAE/100 g and that of flavonoids 48.31 mg QE/100 g. Also, a significant increase was reported in the content of individual phenolic acids and flavonoids in the bee bread enriched honey samples. Of all the phenolic acids identified, gallic acid was predominant; its maximum content was 36.09 mg/100 g; of all the flavonoids: kaempferol; its maximum content was 4.00 mg/100 g. In all the cases, enriching honey with bee bread significantly impacted the increase in its antioxidant activity, antiradical activity, and reducing power. The antiradical activity increased from a level of $5.65 \div 17.71$ % in the multifloral honey to $51.39 \div 82.17$ % in the enriched honeys. However, the reducing power increased from a level of $1.64 \div 6.99$ $\mu\text{M Fe(II)}/100$ g in the multifloral honeys to $11.96 \div 27.60$ $\mu\text{M Fe(II)}/100$ g in honey enriched with bee bread. Significant linear correlations between the total phenolic content and the total antioxidant activity and reducing power were reported.

Key words: honey, bee bread, phenolic profile, antioxidant activity ☒