

PRACE NAUKOWE

Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu

RESEARCH PAPERS

of Wrocław University of Economics

Nr 411

Wybrane zagadnienia z bioekonomii

Redaktor naukowy
Małgorzata Krzywonos



Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu
Wrocław 2015

Redakcja wydawnicza: Anna Grzybowska
Redakcja techniczna i korekta: Barbara Łopusiewicz
Łamanie: Agata Wiszniowska
Projekt okładki: Beata Dębska

Informacje o naborze artykułów i zasadach recenzowania
znajdują się na stronie internetowej Wydawnictwa
www.pracnaukowe.ue.wroc.pl
www.wydawnictwo.ue.wroc.pl

Publikacja udostępniona na licencji Creative Commons
Uznanie autorstwa-Użycie niekomercyjne-Bez utworów zależnych 3.0 Polska
(CC BY-NC-ND 3.0 PL)



© Copyright by Uniwersytet Ekonomiczny we Wrocławiu
Wrocław 2015

ISSN 1899-3192
e-ISSN 2392-0041

ISBN 978-83-7695-567-4

Wersja pierwotna: publikacja drukowana

Zamówienia na opublikowane prace należy składać na adres:
Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu
ul. Komandorska 118/120, 53-345 Wrocław
tel./fax 71 36 80 602; e-mail: econbook@ue.wroc.pl
www.ksiegarnia.ue.wroc.pl

Druk i oprawa: TOTEM

Spis treści

Wstęp	7
Jolanta Błaszczyk, Małgorzata Krzywonos: Analiza właściwości moszczów winnych i win na przykładzie winnicy z Dolnego Śląska (Analysis of properties grape musts and wines on the example of vineyard from Dolny Śląsk)	9
Barbara Breza-Boruta, Judyta Gwardzik: Analiza mikrobiologiczna powietrza na terenie i w otoczeniu kompostowni (Microbiological analysis of the air in the composting facilities and its surroundings).....	19
Mateusz Grabowski, Paweł Ramos, Barbara Pilawa: Analiza oddziaływań resweratrolu, kwasów tłuszczowych oraz witamin rozpuszczalnych w tłuszczach z paramagnetycznym DPPH z wykorzystaniem spektroskopii EPR (Analysis of interactions of resveratrol, fatty acid, and vitamins soluble in fatty acid with paramagnetic DPPH by the use of EPR spectroscopy)	29
Jan Jagodziński, Sylwia Dziągów, Małgorzata Krzywonos: Wpływ substancji słodzących na cechy organoleptyczne cydru domowego (Influence of sweeteners on sensory properties of homemade cider).....	38
Sylwia Jarco, Barbara Pilawa, Paweł Ramos: Oddziaływanie rosuwastatyny poddanej działaniu czynnika termicznego z wolnymi rodnikami – zastosowanie spektroskopii EPR (Interactions of rosuvastatin effected by thermal factor with free radicals – applications of EPR spectroscopy).....	48
Benita Kostrzewa, Arleta Staszuk, Ryszard Tadeusiewicz, Ewa Karuga-Kuźniewska, Zbigniew Rybak: Nanotechnologia w biomedycynie (Nanotechnology in biomedicine)	59
Monika Kucharczyk, Małgorzata Krzywonos, Marta Wilk, Przemysław Seruga, Daniel Borowiak: Etnocentryzm konsumencki a produkty regionalne (Consumer ethnocentrism and regional products).....	87
Magdalena Malinowska, Elżbieta Sikora, Jan Ogonowski: Lipophilicity of lupeol semisynthetic derivatives (Lipofilowość półsyntetycznych pochodnych lupeolu)	97
Karolina Matej-Lukowicz, Ewa Wojciechowska: Opłaty za odprowadzanie wód deszczowych (Fees for the discharge of stormwater).....	104
Tomasz Podeszwa, Weronika Rutkowska: Wpływ warunków siewowania ziarna gryki na zawartość ekstraktu, barwę oraz lepkość brzeczek laboratoryjnych (kongresowych) (The impact of buckwheat seed germination conditions on the content of extract, colour and viscosity in congress mash).....	115

Weronika Rutkowska, Tomasz Podeszwa: Wpływ dodatku słodu gryczanego na właściwości przeciwutleniające brzeczek przednich (The influence of the addition of buckwheat malt to barley malt on antioxidant properties of sweet worts).....	124
Ewa Walaszczyk, Waldemar Podgórski, Elżbieta Gąsiorek: Dobór szczepu <i>Aspergillus niger</i> w procesie biosyntezy kwasu szczawowego z sacharozy (<i>Aspergillus niger</i> strain selection for oxalic acid biosynthesis from sucrose).....	133
Marta Wilk, Małgorzata Krzywonos, Przemysław Seruga, Monika Kucharczyk, Daniel Borowiak: Karmel w żywności (Caramel in food)	140

Wstęp

Mamy zaszczyt przedstawić Państwu publikację, która jest efektem II Ogólnopolskiej Konferencji Młodych Naukowców Nauk Przyrodniczych „Wkraczając w świat nauki 2015”, która się odbyła w dniach 10-11 września 2015 r. na Wydziale Inżynierjno-Ekonomicznym Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu. Organizatorem konferencji jest Katedra Inżynierii Bioprocessowej, aktywnie wspierana przez afiliowane przy niej Koło Naukowe Młodych Inżynierów, oraz Akademickie Centrum Badań i Rozwoju BioR&D.

Gościliśmy ponad 100 przedstawicieli z 30 jednostek naukowych z całego kraju. Wysłuchaliśmy ponad 60 referatów oraz zobaczyliśmy 80 posterów. Duże zainteresowanie konferencją świadczy o tym, jak bardzo takie inicjatywy są potrzebne w gronie młodych adeptów nauki. Mamy to szczęście, że młodzi pracownicy nauki zechcieli się podzielić z nami swoimi pasjami naukowymi. Wierzymy, że takie inicjatywy są potrzebne, a świadczyć może o tym liczba uczestników. Ufamy, że nasze spotkanie było doskonałą płaszczyzną do wymiany poglądów na temat zagadnień dotyczących bioekonomii, związanych z badaniami podejmowanymi przez studentów i doktorantów. Mamy nadzieję, że w ten sposób zachęcimy młodych pracowników nauki do podejmowania wyzwań i rozwijania pasji naukowych i że nawiązane znajomości zaprocentują w przyszłości współpracą naukową między młodymi pracownikami, a co za tym idzie, między uczelniami i ośrodkami akademickimi. Zależy nam na tym, żeby studenci jak najwcześniej wchodzili w świat nauki, a uczestnictwo w konferencji i możliwość publikacji były ich pierwszym krokiem i doskonałą okazją, by zaistnieć w świecie naukowym.

Efektym finalnym konferencji jest niniejsza publikacja zawierająca zbiór interesujących, a zarazem różnorodnych artykułów naukowych poruszających rozmaite zagadnienia i problemy z obszaru nauk przyrodniczych i bioekonomii.

Składamy podziękowania wszystkim, którzy przyczynili się do powstania niniejszej publikacji. Uczestnikom konferencji i autorom publikacji życzymy wielu sukcesów naukowych.

W imieniu Komitetu Organizacyjnego
Małgorzata Krzywonos

Mateusz Grabowski, Paweł Ramos, Barbara Pilawa

Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

e-mail: mateusz.grabowski@med.sum.edu.pl

**ANALIZA ODDZIAŁYWAŃ RESWERATROLU,
Kwasów TŁUSZCZOWYCH ORAZ WITAMIN
ROZPUSZCZALNYCH W TŁUSZCZACH
Z PARAMAGNETYCZNYM DPPH
Z WYKORZYSTANIEM SPEKTROSKOPII EPR***

**ANALYSIS OF INTERACTIONS OF RESVERATROL,
FATTY ACID, AND VITAMINS SOLUBLE
IN FATTY ACID WITH PARAMAGNETIC DPPH
BY THE USE OF EPR SPECTROSCOPY**

DOI: 10.15611/pn.2015.411.03

JEL Classification: Q160

Streszczenie: Zbadano interakcje resweratrolu, kwasów tłuszczowych i witamin A, D3, E z wolnymi rodnikami w celu porównania ich zdolności do wygaszania tych rodników. Paramagnetyczne cząsteczki DPPH użyto jako modelowe wolne rodniki. Wyznaczono absorpcję mikrofal o częstotliwości 9.3 GHz przez DPPH i DPPH oddziałujący z testowanymi próbkami. Widma elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) mierzono dla DPPH z mocą 2.2 mW spektrometrem firmy Radiopan (Poznań) i Rapid Scan Unit firmy Jagmar (Kraków). Stosowano programy do analizy spektralnej firmy Jagmar i program LabView. Odnotowano spadek amplitudy od linii EPR DPPH. Reakcje z wolnymi rodnikami miały w kolejności: resweratrol + kwasy OMEGA-3 + witamina E > resweratrol + kwasy OMEGA-3 + witamina A > resweratrol + kwasy OMEGA-3 + witamina D3 > resweratrol > resweratrol + kwasy OMEGA-3. Wszystkie próbki wykazały właściwości antyoksydacyjne. Zmiany oddziaływań resweratrolu z wolnymi rodnikami obserwowano po dodaniu kwasów tłuszczowych i witamin.

Słowa kluczowe: wolne rodniki, resweratrol, kwasy tłuszczowe, witaminy, spektroskopia EPR.

Summary: Interactions of resveratrol, fatty acid and vitamins: A, D3, E with free radicals were examined. The aim of this work was to compare their antioxidative properties as ability to quenching free radicals. Paramagnetic DPPH was used as the model free radicals. Absorption of microwaves of frequency 9.3 GHz by DPPH and DPPH interacting with the tested samples was determined. The electron paramagnetic resonance (EPR) spectra were measured for DPPH with microwave of 2.2 mW by spectrometer produced by Radiopan Firm (Poznań) and the Rapid Scan Unit of Jagmar Firm (Kraków). Programs to spectral analysis of Jagmar Firm

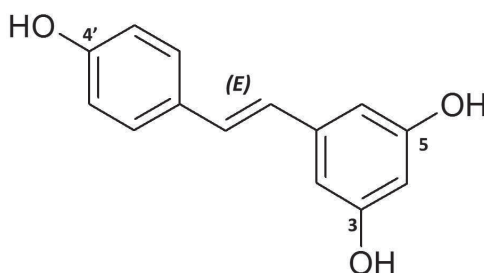
* Badania były finansowane przez Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, umowa nr KNW-1-005/K/4/0.

(Kraków) and the program LabView (National Instruments, USA), were used in this study. Interactions of DPPH with the tested samples revealed by decrease of amplitude of EPR line of DPPH. Kinetics of the interactions of the samples with DPPH was determined. It was pointed out that interactions with free radicals decreased in the following order: resveratrol + OMEGA-3+ vitamin E > resveratrol + OMEGA-3 + vitamin A > resveratrol + OMEGA-3 + vitamin D3 > resveratrol > resveratrol + OMEGA-3. The antioxidative properties of all the tested samples were proved. The changes of interactions of resveratrol with free radicals were observed after addition of fatty acids and vitamins to the interacting system.

Keywords: free radicals, resveratrol, fatty acids, vitamin, EPR spectroscopy.

1. Wstęp

Resweratrol to organiczny związek chemiczny będący polifenolową pochodną stilbenu, posiada właściwości antyoksydacyjne. Pozyskiwany jest głównie ze skórek czerwonych winogron [Kiselev 2011; Cherniack, Troen 2013]. Strukturę chemiczną resweratrolu ($C_{14}H_{12}O_3$) przedstawiono na rys. 1 [Zejc, Gorczyca 2008].



Rys. 1. Struktura chemiczna resweratrolu

Źródło: [Zejc, Gorczyca 2008].

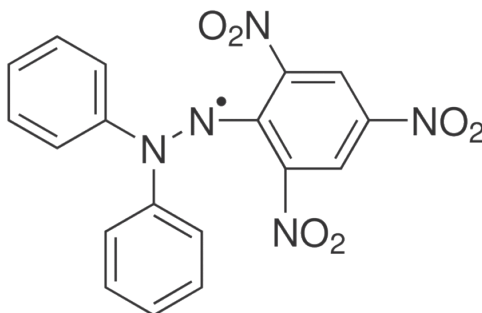
Celem badań było wyznaczenie zmian w oddziaływaniach resweratrolu z wolnymi rodnikami, które występują po dodaniu do układu kwasów OMEGA-3 oraz witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, takich jak witamina A, D3 i E. Badania właściwości antyoksydacyjnych próbek przeprowadzono z wykorzystaniem metody fizycznej polegającej na absorpcji promieniowania mikrofalowego przez próbki umieszczone w polu magnetycznym [Stankowski, Hilczer 2005; Wertz, Bolton 1986; Eaton, Eaton, Salikhov 1998].

2. Część eksperymentalna

2.1. Cząsteczki DPPH jako modelowe wolne rodniki

Jako modelowe wolne rodniki użyto paramagnetyczne cząsteczki DPPH (2,2-dwufenylo-1-pikrylo-hydrazyl). Struktura cząsteczki DPPH jest przedstawiona na rys. 2

[Bartosz 2013]. Niesparowany elektron w cząsteczce DPPH jest zlokalizowany na atomie azotu (N) [Tirzitis, Bartosz 2010].



Rys. 2. Struktura chemiczna DPPH

Źródło: [Tirzitis, Bartosz 2010].

DPPH badano w postaci 96% roztworu w alkoholu etylowym. Do roztworu dodawano kolejno testowane próbki. Przygotowano następujące zestawy próbek:

2.2. Badane próbki

Zbadano oddziaływania z wolnymi rodnikami dla resweratrolu oraz resweratrolu z kwasami OMEGA-3 i witaminami: A, D i E. Resweratrol + kwasy OMEGA-3, resweratrol + kwasy OMEGA-3 + witamina D3, resweratrol + kwasy OMEGA-3 + witamina A oraz resweratrol + kwasy OMEGA-3 + witamina E. Proporcje w badanych próbkach resweratrolu + kwasy OMEGA-3 + witamina były odpowiednio: 1:1:0,25. Proporcje dobrano eksperymentalnie tak, by zobrazować kinetykę procesu.

2.3. Pomiary EPR oddziaływania próbek z wolnymi rodnikami

Badania oddziaływania testowanych próbek z wolnymi rodnikami przeprowadzono poprzez porównanie linii EPR wzorcowego DPPH oraz linii EPR DPPH w kontakcie z próbką. Próbki umieszczono w cienkościennych kapilarach o średnicy zewnętrznej wynoszącej 1 mm. Oddziaływania próbki z wolnymi rodnikami powodują wygaszanie linii EPR DPPH. Wyznaczono względną zmianę amplitudy (A) linii EPR DPPH po dodaniu próbki do roztworu alkoholu etylowego.

Widma elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) DPPH rejestrowano spektrometrem EPR na pasmo X (9.3 GHz) z modulacją pola magnetycznego wynoszącą 100 kHz, produkcji firmy Radiopan (Poznań). Do pomiarów widm EPR wykorzystano także system numerycznej akwizycji danych Rapid Scan Unit Firmy Jagmar (Kraków). Całkowita moc mikrofalowa wytwarzana przez klistron spektrometru

wynosiła 70 mW. Przyłożono tłumienie 15 dB, co obniżyło podczas pomiarów moc mikrofalową do wartości 2.2 mW. Niska moc mikrofalowa gwarantuje brak efektu nasycenia mikrofalowego linii EPR.

Amplitudę (A) linii EPR DPPH wyznaczono z dokładnością [+0.01 j. wzgl.]. Zbadano kinetykę oddziaływania próbek z DPPH. Wyznaczono zależność amplitudy (A) linii EPR DPPH od czasu oddziaływania z próbką. Pomiarów wykonano co 5 minut w czasie do 60 minut.

Wyznaczono wartość współczynnika rozszczepienia spektroskopowego g [+0.0002] linii EPR DPPH według wzoru [Stankowski, Hilczer 2005; Wertz, Bolton 1986; Eaton, Eaton, Salikhov 1998]: $g = hv/\mu_B Br$, gdzie h – stała Plancka, v – częstotliwość promieniowania mikrofalowego, μ_B – magneton Bohra, Br – rezonansowa indukcja magnetyczna.

W badaniach EPR stosowano programy do pomiarów i analiz spektroskopowych firmy Jagmar (Kraków) i LabView (National Instruments, USA).

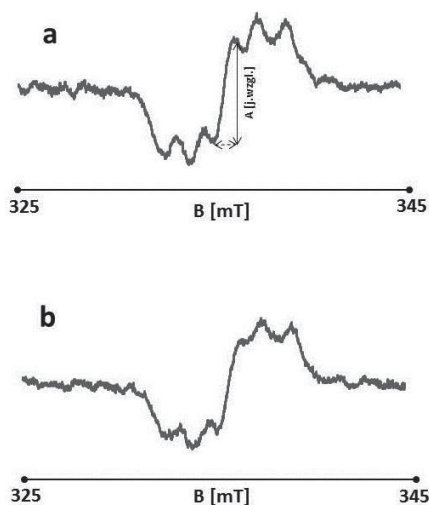
3. Wyniki i dyskusja

Widma EPR cząsteczek wolnorodnikowych DPPH malały po dodaniu do roztworu DPPH w alkoholu etylowym w przypadku wszystkich badanych próbek. Współczynnik rozszczepienia spektroskopowego wynosił 2.0036. Widma EPR DPPH oddziałującego z resweratrol, resweratrol i kwasami OMEGA-3, resweratrol wraz z kwasami OMEGA-3 i witaminą D3, resweratrol wraz z kwasami OMEGA-3 i witaminą A oraz resweratrol wraz z kwasami OMEGA-3 i witaminą E, dla czasów oddziaływania wynoszących 5 minut i 60 minut, pokazano odpowiednio na rys. 3-7. Wygaszanie linii EPR DPPH wskazywało na właściwości antyoksydacyjne resweratrolu oraz układów: resweratrol i kwasy OMEGA-3, resweratrol wraz z kwasami OMEGA-3 i witaminą D3, resweratrol wraz z kwasami OMEGA-3 i witaminą A oraz resweratrol wraz z kwasami OMEGA-3 i witaminą E.

Na rysunku 8 przedstawiono kinetykę oddziaływania testowanych próbek z DPPH. Amplituda (A) linii EPR DPPH maleje wraz ze wzrostem czasu oddziaływania z próbką, a następnie osiąga wartość stałą. Dla wszystkich próbek amplituda stabilizuje się po czasie wynoszącym 25 minut.

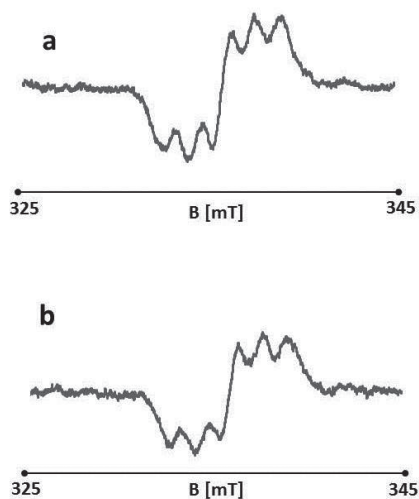
Na rysunku 9 porównano amplitudy linii EPR DPPH po 60 minutach oddziaływania z poszczególnymi próbkami. Amplituda (A) linii EPR rośnie według następującej kolejności: resweratrol + kwasy OMEGA-3 + witamina E > resweratrol + kwasy OMEGA-3 + witamina A > resweratrol + kwasy OMEGA-3 + witamina D3 > resweratrol > resweratrol + kwasy OMEGA-3. Kolejność ta charakteryzuje oddziaływania próbek z wolnymi rodnikami. Ze wzrostem amplitudy (A) maleją oddziaływania z wolnymi rodnikami oraz właściwości antyoksydacyjne próbek. Dodanie kwasów OMEGA-3 do resweratrolu powodowało lekki wzrost amplitudy linii DPPH, czyli lekkie obniżenie oddziaływań leku z wolnymi rodnikami. Kwasy OMEGA-3 wraz z witaminami D3, A i E zwiększały oddziaływania resweratrolu z wolnymi rodnikami, ponieważ

amplitudy (A) linii EPR DPPH w przypadku tych złożonych układów były mniejsze aniżeli dla resweratrolu i resweratrolu z kwasami OMEGA-3.



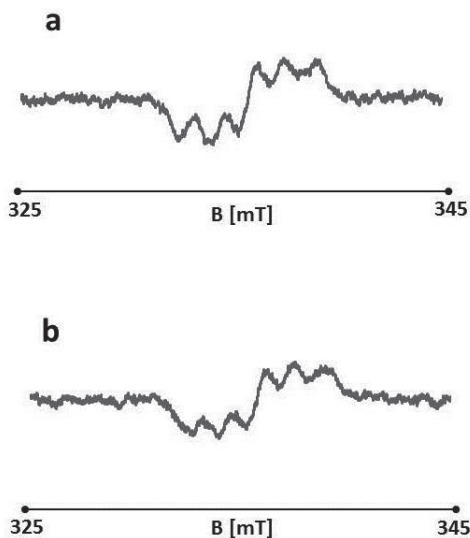
Rys. 3. Widmo EPR DPPH oddziałującego z resweratrolem w czasie: (a) 5 minut oraz (b) 60 minut. B – indukcja magnetyczna, A – wyznaczana amplituda sygnału EPR

Źródło: badania własne.



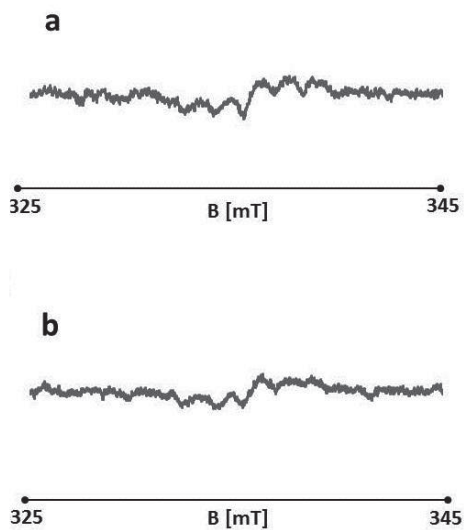
Rys. 4. Widmo EPR DPPH oddziałującego z resweratrolem i kwasem OMEGA-3 w czasie: (a) 5 minut oraz (b) 60 minut. B – indukcja magnetyczna

Źródło: badania własne.



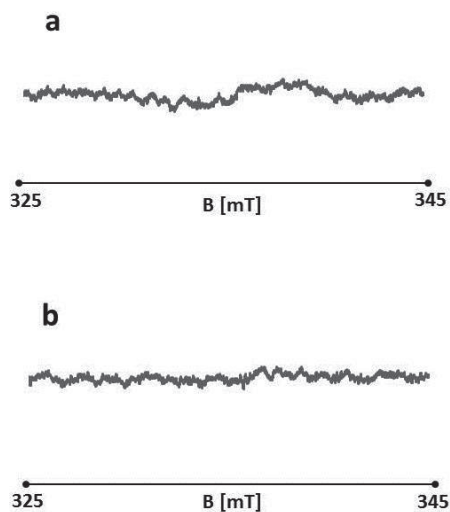
Rys. 5. Widmo EPR DPPH oddziałującego z resweratrolem, kwasem OMEGA-3 i witaminą D3 w czasie: (a) 5 minut oraz (b) 60 minut. B – indukcja magnetyczna

Źródło: badania własne.



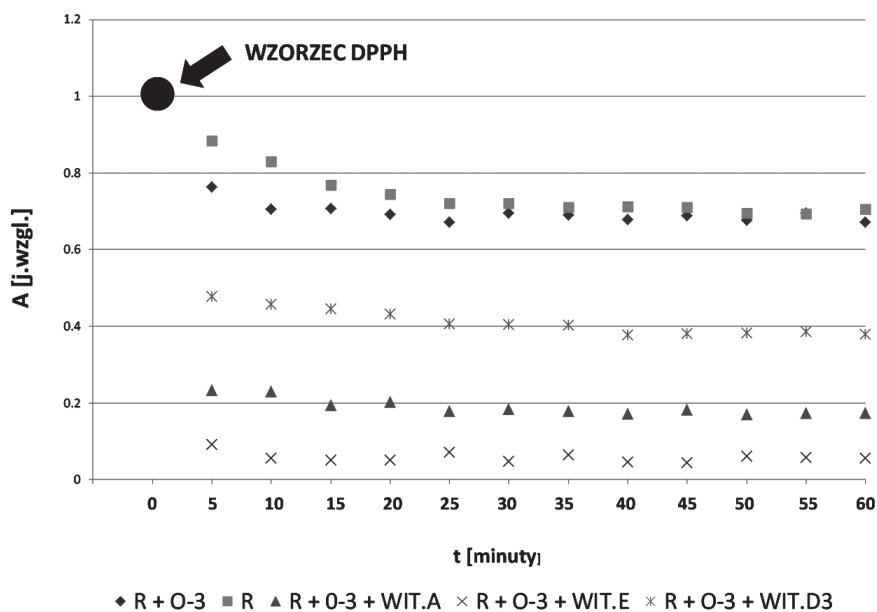
Rys. 6. Widmo EPR DPPH oddziałującego z resweratrolem, kwasem OMEGA-3 i witaminą A w czasie: (a) 5 minut oraz (b) 60 minut. B – indukcja magnetyczna

Źródło: badania własne.



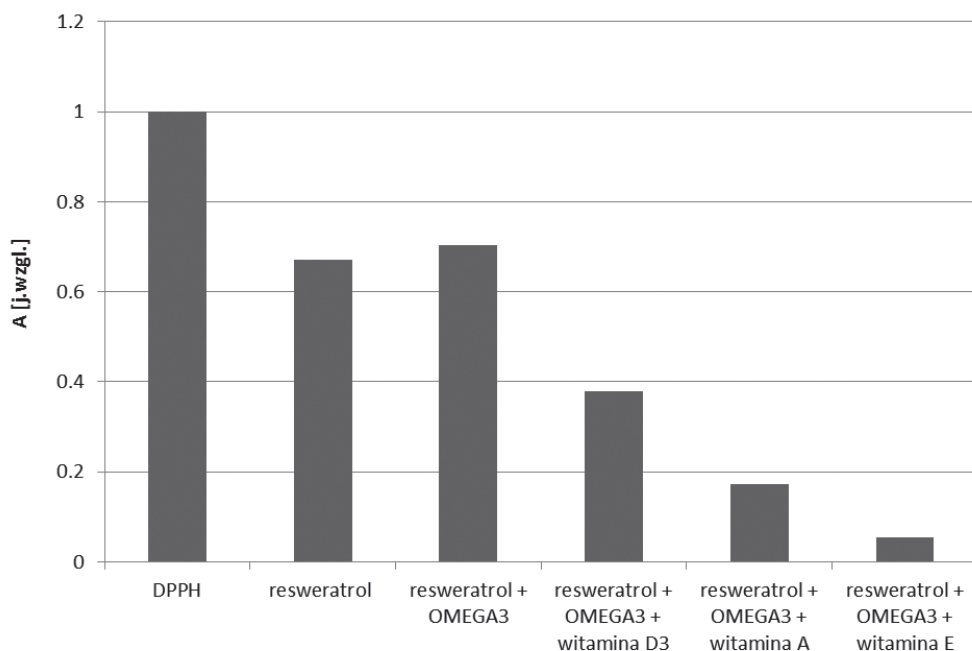
Rys. 7. Widmo EPR DPPH oddziałującego z resweratrol, kwasem OMEGA-3 i witaminą E w czasie: (a) 5 minut oraz (b) 60 minut. B – indukcja magnetyczna

Źródło: badania własne.



Rys. 8. Kinetyka zmian amplitudy (A) linii EPR DPPH badanych próbek z czasem (t). R – resweratrol, O-3 – OMEGA-3, WIT.D3 – witamina D3, WIT.A – witamina A, WIT.E – witamina E

Źródło: badania własne.



Rys. 9. Porównanie amplitud (A) linii EPR DPPH oddziałującego 60 minut z resweratrol, resweratrol + kwasy OMEGA-3, resweratrol + kwasy OMEGA-3 + witamina D3, resweratrol + kwasy OMEGA-3 + witamina A oraz resweratrol + kwasy OMEGA-3 + witamina E

Źródło: badania własne.

Uzyskane rezultaty potwierdziły przydatność spektroskopii elektronowego rezonansu paramagnetycznego do testowania oddziaływań substancji leczniczych z wolnymi rodnikami. Wykazano przydatność analizy porównawczej linii EPR DPPH i DPPH w kontakcie z testowaną próbką.

4. Podsumowanie

Porównanie widm EPR wolnego rodnika DPPH i DPPH oddziałującego z resweratrol, kwasami OMEGA-3 i witaminami rozpuszczalnymi w kwasach tłuszczowych (A, D3 i E) potwierdziły ich właściwości antyoksydacyjne. Wykazano, że oddziaływania z wolnymi rodnikami malały w następującej kolejności: resweratrol + kwasy OMEGA-3 + witamina E > resweratrol + kwasy OMEGA-3 + witamina A > resweratrol + kwasy OMEGA-3 + witamina D3 > resweratrol > resweratrol + kwasy OMEGA3. Dodanie kwasów OMEGA-3 do resweratrolu powodowało lekkie obniżenie oddziaływań leku z wolnymi rodnikami. Kwasy OMEGA-3 wraz z witaminami D3, A i E zwiększały oddziaływania resweratrolu z wolnymi rodnikami.

Literatura

- Bartosz G., 2013, *Druga twarz tlenu*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Cherniack P.E., Troen B.R., 2013, *Resveratrol: Effects on lipids and cardiovascular risk*, Science+Business Media, New York.
- Eaton G.R., Eaton S.S., Salikhov K.M., 1998, *Foundations of modern EPR*, World Scientific, Singapore-New Jersey-London, Hong Kong.
- Kiselev K.V., 2011, *Perspectives for production and application of resveratrol*, Applied and Environmental Microbiology, 90, s. 417-425.
- Stankowski J., Hilczer W., 2005, *Wstęp do spektroskopii rezonansów magnetycznych*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Tirzitis G., Bartosz G., 2010, *Determination of antiradical and antioxidant activity: Basic principles and new insights*, Biochimica Polonica Acta, 57(1), s. 139-442.
- Wertz J.E, Bolton Jr, 1986, *Electron Spin Resonance: Elementary Theory and Practical Applications*, Chapman and Hall, London.
- Zejc A., Gorczyca M., 2008, *Chemia leków. Podręcznik dla studentów farmacji i farmaceutów*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa.