

ŁUKASZ ŁOPUSIEWICZ, SŁAWOMIR LISIECKI

Centrum Bioimmobilizacji i Innowacyjnych Materiałów Opakowaniowych  
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie  
Janickiego 35, 71-270 Szczecin  
E-mail: lukasz.lopusiewicz@zut.edu.pl

## MELANINY W DIECIE CZŁOWIEKA

### WSTĘP

Terminem „melaniny” określa się grupę wielkocząsteczkowych pigmentów (czarnych, brązowych, żółtoczerwonych i o barwach pośrednich) odpowiedzialnych za ciemną barwę organizmów. Powstają one w wyniku oksydacyjnej polimeryzacji związków fenolowych i indolowych. Melaniny są najprawdopodobniej najbardziej powszechnymi, odpornymi, heterogenicznymi i najstarszymi ewolucyjnie pigmentami obecnymi w przyrodzie (SOLANO 2014). Są syntetyzowane przez rośliny, zwierzęta, grzyby i bakterie, pełniąc istotną rolę w procesach termoregulacji, chemoprotekcji, kamuflażu i procesach rozmnażania. Nazwa „melanina” pochodzi z greckiego terminu *melanos*, który oznacza „czarny/ciemny” i najprawdopodobniej została użyta po raz pierwszy przez szwedzkiego chemika Jönsa Joacoba Berzeliusa w 1840 r. do opisu ciemnego pigmentu wyizolowanego z oka (SOLANO 2014). Jednak pierwsze odniesienia do pigmentacji skóry u ludzi i w pewien sposób do istnienia melaniny (bez wskazania jej nazwy) są bardzo stare i sięgają czasów starożytnego Egiptu (papiirus Ebersa, ok. 1550 r p.n.e.) i starożytnej Grecji (Herodot) (SOLANO 2014, ŁOPUSIEWICZ i LISIECKI 2016).

### WŁAŚCIWOŚCI MELANIN

Melaniny to związki o nieregularnej i trójwymiarowej strukturze amorficznej, obdarzone ładunkiem ujemnym, zbudowane z monomerów związków fenolowych (dla których najczęstszym substratem jest amino-

kwasy tyrozyna) oraz indolowych, które łącząc się w sposób losowy tworzą strukturę polimeru (SOLANO 2014, ŁOPUSIEWICZ i LISIECKI 2016). Ich struktura i skład zależą nie tylko od budujących je monomerów, ale także od warunków środowiska w jakich zachodzi ich polimeryzacja (HENSON 2005). Melaniny można podzielić na trzy grupy: eumelaniny, feomelaniny i allomelaniny (PLONKA i GRABACKA 2006). Eumelaniny są polimerami złożonymi z pochodnych tyrozyny, głównie kwasu 5,6-dihydroksyindolo-2-karboksyłowego (DHICA) i dihydroksyindolu (DHI). Wzajemny stosunek składowych eumelaniny decyduje o ostatecznej intensywności jej barwy. *In vivo* eumelaniny tworzą złożone kompleksy z białkami i metalami (głównie miedzią, cynkiem, żelazem oraz wapniem). Feomelaniny to żółto-czerwone barwniki, bogate w aminokwasy siarkowe (głównie cysteinę), posiadają w swojej strukturze podjednostki benzotiazyny i benzotiazolu. Allomelaniny są zróżnicowaną grupą barwników nie zawierających albo zawierających małe ilości azotu. Występują głównie w roślinach i grzybach, są syntetyzowane ze związków fenolowych (SOCACIU 2008). Szczególnym rodzajem melanin jest specyficzna dla naczelnych neuromelanina, która stanowi kompleks zmodyfikowanej eumelaniny nawiniętej na rdzeń utworzony z feomelaniny. Rola neuromelaniny w mózgu polega prawdopodobnie na usuwaniu jonów organicznych i nieorganicznych oraz ochronie przez wolnymi rodnikami (ZECCA i współaut. 2001). Melaniny znalazły szerokie zastosowanie m.in. w syntezie nanocząstek metali o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych, w diagnostyce medycznej (obrazowanie opto-

**Słowa kluczowe:** antyoksydanty, dodatki do żywności, melaniny, produkty spożywcze

akustyczne), formowaniu powłok półprzewodnikowych oraz soczewek chroniących przed promieniowaniem UV (ŁOPUSIEWICZ i LISIECKI 2016). Melaniny obecne są również w produktach i surowcach wykorzystywanych przez człowieka w przemyśle spożywczym.

Melaniny mają zazwyczaj ciemny kolor, jednak prezentują szeroką paletę barw od czarnobrazowej (eumelanina, melaniny roślinne, bakteryjne i grzybowe) do żółtoczerwonej (feomelanina). Ta różnorodność kolorów i odcieni wynika z różnej zdolności do absorpcji i rozpraszania światła. Przyjmuje się, że im mniejsze są granule melanimy, tym jaśniejszy mają kolor (PROTA 1992). Spektrum absorpcji światła przez melaniny nie ma jednego charakterystycznego maksimum pochłaniania i jest dość szeroko rozłożone w zakresie długości fal odpowiadających promieniowaniu UV, widzialnemu oraz częściowo podczerwonemu, jednak lepiej pochłaniają fale o krótszej długości. Ogółem, melaniny mają ciemną barwę, ponieważ ich cząsteczki nie wypromieniowują z powrotem zaabsorbowanego światła widzialnego lub niewidzialnego dla ludzkiego oka, ale przekształcają jego energię, rozpraszając ją w postaci ciepła (ŁOPUSIEWICZ i LISIECKI 2016).

Wśród właściwości fizykochemicznych melanin wyróżniają się silne właściwości antyoksydacyjne. Wpływa na to obecność stabilnej populacji organicznych wolnych rodników o-semichinonowych, a także grup utleniających lub redukujących, np. o-chinonów oraz hydrochinonów (PROTA 1992). Dzięki temu posiadają właściwości antyutleniające, chroniące komórki przed cytotoksycznymi reaktywnymi formami tlenu (ang. reactive oxygen species, ROS) i wolnymi rodnikami, takimi jak: tlen singletowy, rodnik hydroksylowy oraz anionorodnik ponadtlenkowy (RÓŻANOWSKA i współaut. 1999, ŁOPUSIEWICZ i LISIECKI 2016). Wykazano, że melaniny obecne m.in. w herbacie, orzechach kasztana chińskiego, owocach roślin *Vitex mollis*, *Randia echinocarpa* i *Crescentia alata* (endemicznych dla Meksyku), nasionach arbuza (*Citrullus lanatus*) wykazują silne właściwości przeciwutleniające i chelatujące jony metali, np. Fe<sup>2+</sup> (SAVA i współaut. 2001a, b; YAO i współaut. 2012; CUEVAZ-JUÁREZ i współaut. 2014; ŁOPUSIEWICZ 2018).

Wśród metod analitycznych służących do charakterystyki melanin najczęściej stosowane są: spektroskopia UV-VIS (informująca o widmie pochłaniania promieniowania w zakresie światła widzialnego i ultrafioletowego), spektroskopia EPR/ESR (dostarczająca informacji o populacji stabilnych wolnych rodników w cząsteczce), spektroskopia IR (charakteryzująca grupy funkcyjne), spektroskopia NMR i XPS, chromatografia HPLC oraz

chromatografia gazowa ze spektrometrią mas (do badania podjednostek składowych melanin) (KOLCZYŃSKA-SZAFRANIEC i BILIŃSKA 1992, PROTA 1992, HARKI i współaut. 1997, RÓŻANOWSKA i współaut. 1999, ITO i WAKAMATSU 2011, ŁOPUSIEWICZ i LISIECKI 2016).

## MELANINY JAKO SKŁADNIK PRODUKTÓW SPOŻYWCZYCH

Obecność melanin w produktach spożywczych jest zjawiskiem wieloaspektowym. Wynika to z wielu właściwości melanin, bowiem mogą one kształtować barwę produktu (jako dodatek lub być bezpośrednim wskaźnikiem zachodzących w nich zmian np. podczas enzymatycznego brązowienia warzyw i owoców), wpływać na jego trwałość (właściwości przeciwutleniające, możliwość oddziaływania na tworzenie biofilmu przez niepożądaną mikroflorę), bądź oddziaływać z innymi składnikami żywności (takimi jak toksyny czy jony metali).

Wiele owoców i warzyw ciemnieje w wyniku uszkodzenia (przy transporcie lub przez krojenie) zachodzącego przy dostępie powietrza. Zjawisko to zachodzi w wyniku utleniania i dehydrogenacji bezbarwnych polifenoli zawartych w owocach i warzywach przy udziale enzymu oksydazy polifenolowej (ang. polyphenol oxidase, PPO; E.C. 1.14.18.1). W wyniku działania enzymu polifenole (katechol, pochodne tyrozyny) przekształcane są do czerwono-brązowych o-chinonów. O-chinony są wysoce reaktywne i ulegają nieenzymatycznym reakcjom spontanicznej polimeryzacji, które prowadzą do powstania brązowo-czarnych melanin. Działanie PPO na uszkodzone tkanki roślinne może prowadzić do poważnych strat ekonomicznych (transport owoców i warzyw), szczególnie jeśli chodzi o ziemniaki, sałatę i inne warzywa liściaste, jabłka, winogrona, banany i inne owoce tropikalne (BUSCH 1999). Szacuje się, że nawet około połowy owoców może tracić na jakości w związku z brązowaniem podczas transportu. Potencjalni nabywcy źle odbierają uszkodzenia owoców i warzyw, mających ciemne plamy, które mogą również wpłynąć na kolor wytwarzanych z nich soków i przetworów. Jednak zmiany te czasem są pożądane, choćby w procesach fermentacji liści herbaty, kawy, kakao, tytoniu, a także odpowiedzialne są za ciemny kolor suszonych śliwek, daktyli i rodzynek. Enzym PPO znajduje się w plastydach komórek roślinnych, zaś substraty polifenolowe umiejscowione są w wakuolach. Jest to mechanizm zabezpieczający przed niepożądanym utlenianiem tych substratów w zdrowych, nieuszkodzonych tkankach. Rola PPO (która znalazła

zastosowanie m. in. w wytwarzaniu laki, lakierów i werniksów) w tkankach roślinnych nie jest do końca wyjaśniona. Przypuszcza się, że jest ona jednym z kluczowych elementów obrony rośliny w przypadku infekcji bakteryjnych, grzybiczych lub ataku owadów. W momencie zaatakowania tkanek roślinnych następuje naruszenie ich integralności, skutkujące uwolnieniem PPO i polifenoli, dzięki czemu może zajść reakcja enzymatyczna, której końcowym produktem są melaniny, działające jak fizyczna bariera dla mikroorganizmów. Dodatkowo, pośrednie produkty tych przemian, chinony, z uwagi na wysoką reaktywność, mają zdolność do denaturacji białek patogenów i hamowania ich wzrostu, tym samym chroniąc roślinę przed rozwojem choroby (BUSCH 1999). Podobny mechanizm tworzenia melanin wykorzystują owady, jako jeden z głównych mechanizmów odpornościowych, obok specyficznych peptydów o działaniu antimikrobiologicznym (VOLZ i współaut. 2006, TANG 2009). Warto zwrócić na to szczególną uwagę, bowiem owady są postrzegane jako jeden z istotnych składników diety człowieka w przyszłości, z uwagi na rosnącą populację. Owady są wysokobiałkowym pokarmem zwierzęcym, łatwym w hodowli i nie obciążającym środowiska, tak jak np. produkcja mięsa. W niektórych krajach, np. Tajlandii, Meksyku i Ugandzie, owady już teraz są częścią jadłospisu mieszkańców i uważa się je za przysmak. W niektórych krajach Ameryki Południowej, np. Kolumbii, smażone mrówki (których chitynowy pancerz jest ciemno zabarwiony przez obecne w nim melaniny) stanowią słoną przekąskę, często podawane są w kinie zamiast popcornu (RASTOGI 2011).

Na rynku dostępny jest makaron barwiony atramentem pochodzącym z woreczka czernidłowego mątki (*Sepia officinalis*), szczególnie popularny we Włoszech (pasta al nero di sepiá), a także sam barwnik zwany pod nazwą „Nero di Sepia”. Wydzielina woreczka czernidłowego zwana sepią, zawierająca melaninę, uwalniana jest w razie zagrożenia. Poza funkcją swoistej „zasłony dymnej”, paraliżuje też narządy węchu drapieżcy. Stwierdzono, że melanina zawarta w sepii występuje w formie aglomeratów tworzących większe skupiska. Aglomeraty te zaś tworzone są przez sferyczne granule o średnicy 100-200 nm (MBONYIRYIVUZE i współaut. 2015). Wykazano również, że melanina z sepii wykazuje działanie antyoksydacyjne, chroniąc lipidy przed utlenianiem oraz chelatując jony  $Fe^{2+}$  (LIN i CHEN 2005).

Kawiozem nazywamy soloną ikrę ryb jesiotrowatych (kawior czarny lub rosyjski), łososiowatych (kawior czerwony), dorszowatych

(kawior norweski) lub innych. Stwierdzono obecność melanin w kawiorze ryb jesiotrowatych, m. in. sterleta (*Acipenser ruthenus*). Melanina odpowiedzialna za ciemnobrunatną barwę ikry zawarta jest w otoczce jajowej. Natomiast u osobników albinotycznych ikra pozbawiona melaniny przybiera barwę mlecznobiałą (KOLMAN i współaut. 2010).

CHITTURI i współaut. (2013) analizowali zawartość melanin w suszonych na słońcu skórkach owoców uprawnych: liściokwiatu garbnikowego (*Phyllanthus emblica*), jabłoni (*Mallus domestica*), banana karłowatego (*Musa acuminata*), jujuby pospolitej (*Ziziphus jujuba*), papai (*Carica papaya*), gujawy (*Psidium guajava*), awokado (*Persea americana*), arbuza (*Citrullus lanatus*), melona (*Cucumis melo*), kiwi (*Actinidia deliciosa*), pomarańczy limety (*Citrus limetta*), ananasa (*Ananas comosus*), mango (*Mangifera indica*), granatu (*Punica granatum*) oraz pigwicy właściwej (*Manilkara zapota*). Wszystkie badane skórki owoców poddane suszeniu na słońcu zawierały melaninę; najwięcej skórki z jabłka (2,21%), mango (2,19%), arbuza (1,92%) oraz papai (1,63%), a najmniejszy poziom odnotowano w przypadku gujawy (0,19%) i awokado (0,19%).

W pewnych przypadkach ciemna barwa będąca wynikiem powstających melanin jest zjawiskiem niepożądanym. Obecność melanin stwierdzono w procesie produkcji cukru z buraków cukrowych. Sok komórkowy buraka nie zawiera substancji barwnych, powstają one dopiero w trakcie procesu technologicznego, nadając oczyszczonym sokom barwę od żółtej do brunatnej. Melaniny są, wraz z substancjami karmelowymi, barwnymi produktami rozkładu związków redukujących oraz melanoidynami (produktami reakcji Maillarda tj. serii reakcji chemicznych, które zachodzą pod wpływem ciepła pomiędzy aminokwasami a cukrami redukującymi) odpowiedzialne za barwę soku cukrowniczego. Melaniny mogą powstawać na drodze autooksydacji bez udziału enzymów, szczególnie w środowisku zasadowym. Obecność substancji barwnych wpływa niekorzystnie na proces technologiczny, m.in. zmniejszając szybkość wzrostu kryształów sacharozy (KOWALSKA i współaut. 2016).

Biorąc pod uwagę właściwości melanin, mogłyby one znaleźć potencjalne zastosowanie nie tylko w medycynie (z uwagi na swoje potencjalne właściwości prozdrowotne), ale także w przemyśle spożywczym, jako przeciwutleniacze, w celu uniknięcia powstawania niepożądanych zmian w produktach spożywczych (mięso, drób, emulsje, napoje, przekąski) tym samym wydłużając ich czas przydatności do spożycia (CUEVAZ-JUÁREZ i współaut. 2014).

## MELANINY W ŻYWNOŚCI A ZDROWIE CZŁOWIEKA

Wiedza na temat potencjalnych prozdrowotnych właściwości melanin obecnych w pożywieniu jest stosunkowo świeża i opiera się głównie na badaniach w układach modelowych *ex vivo* (na izolowanych komórkach bądź tkankach) lub modelach zwierzęcych. Wykazano szeroki zakres możliwych oddziaływań melanin na różne procesy zachodzące w organizmie.

Jedną z roślin zawierających melanine jest czarnuszka siewna (*Nigella sativa*) należąca do rodziny jaskrowatych (Ranunculaceae). Jest to roślina od wieków wykorzystywana w sztuce kulinarnej. Nasiona czarnuszki są poprzecznie zmarszczone, kanciaste, czarne, mają ostry, korzenny smak i jako przyprawa są dodawane do serów, pieczywa i niektórych tłustych mięs. Z nasion pozyskuje się olej bogaty w nienasycone kwasy tłuszczowe (linolowy, oleinowy,  $\alpha$ -linolenowy), stosowany głównie w przemyśle farmaceutycznym. Stwierdzono obecność melaniny w zewnętrznej warstwie nasion czarnuszki (HASSIB 1998, HASSIB i EL HAG 2013). AL-TAYIB i współaut. (2014) wykazali, w doświadczeniu przeprowadzonym na szczurach, że posiada ona właściwości obniżające poziom cukru we krwi. Przez podanie alloksanu u zwierząt została wywołana cukrzyca doświadczalna. Analizowany i porównywany był wpływ insuliny (0,8 IU/kg dziennie) i dawki 50 mg/kg melaniny z nasion czarnuszki na obniżenie poziomu glukozy we krwi i inne parametry hematologiczne takie jak: liczba limfocytów, granulocytów i erytrocytów. Melanina z czarnuszki miała porównywalny do insuliny wpływ na obniżenie poziomu cukru, jednak w odróżnieniu od insuliny nie wpływała na liczbę granulocytów. Choć mechanizm oddziaływania melaniny z czarnuszką nie jest poznany, przypuszcza się, że wynika on w głównej mierze z jej właściwości antyoksydacyjnych i neutralizacji wolnych rodników. Podobnie działają inne naturalne antyoksydanty zdolne do obniżania poziomu cukru we krwi, takie jak kwercetyna (NURALIEV i AVEZOV 1992). Innym rozpatrywanym mechanizmem jest pobudzenie uszkodzonych komórek  $\beta$  wysepek trzustkowych do regeneracji dzięki wydzielaniu interleukiny 6 (IL-6). Dowiedziano, że melaniny mogą wpływać na wydzielanie IL-6, ta zaś chroni komórki przed apoptozą i pobudza je do regeneracji (EL-OBEID i współaut. 2006). Czarnuszka jest więc źródłem prozdrowotnej melaniny zawartej w jej nasionach, działającej obniżająco na poziom cukru we krwi, w odróżnieniu od stosowanej powszechnie insuliny nie wpływając na

poziom komórek odpornościowych. Zwraca się zatem uwagę na jej potencjalne zastosowanie w łagodzeniu objawów i terapii przeciwcukrzycowej (AL-TAYIB i współaut. 2014).

Rośliny z rodzaju herbata (*Camellia*) są od setek lat źródłem liści i pąków wykorzystywanych do sporządzania naparów. Z uwagi na wysoką zawartość polifenoli herbata jest uważana za najobfitsze źródło naturalnych przeciwutleniaczy (WISEMAN i współaut. 1997). Polifenole zawarte w herbacie (ang. tea polyphenols, TP) wykazują właściwości przeciwutleniające dzięki zdolności do neutralizowania wolnych rodników oraz chelatowania jonów metali. Jednak testy klinicznie nie wskazują na znaczące działanie przeciwutleniające konsumpcji herbaty. Sprzeczną tę można tłumaczyć heterogeniczną naturą TP oraz zachodzeniem ich polimeryzacji *in vivo* po spożyciu herbaty. Niektóre płyny ustrojowe takie jak: osocze, żółć, soki trzustkowe czy soki w jelicie cienkim zapewniają alkaliczne środowisko, które sprzyja spontanicznej polimeryzacji polifenoli (SAVA i współaut. 2001b). W liściach herbaty polimeryzacja TP zachodzi spontanicznie dzięki obecności enzymu oksydazy polifenolowej i peroksydaz, co w przetwórstwie przemysłowym zwane jest „fermentacją herbaty”. W czasie tego procesu katechiny łączą się tworząc teaflawiny oraz inne flawonoidy, które nadają herbacie specyficzny smak i barwę. Szacuje się, że ok. 15% produktów tych przemian to melaniny (WISEMAN i współaut. 1997). SAVA i współaut. (2001b) podjęli się izolacji i charakterystyki tych barwników z czarnej herbaty (*Camellia sinensis*). Dwukierunkowa ekstrakcja pozwoliła na uzyskanie melanin bezpośrednio z liści herbaty (ang. melanic pigment MP) i polifenoli (TP), które poddano polimeryzacji w warunkach alkalicznych. Analizie została poddana m. in. zdolność do chelatowania jonów  $Fe^{2+}$ , neutralizowania wolnych rodników oraz przeciwdziałanie utlenianiu lipoprotein niskiej gęstości LDL (ang. low-density lipoprotein) w obecności jonów  $Cu^{2+}$ . Zdolność do opóźniania utleniania LDL wykazała tylko melanina MP wyizolowana z liści herbaty, podczas gdy melanina TP takich właściwości nie posiadała, co wynika najprawdopodobniej z hydrofilowej natury melaniny TP uniemożliwiającej jej kontakt z LDL. Melanina MP wykazała silne właściwości neutralizacji wolnych rodników i chelatowania jonów  $Fe^{2+}$ . W związku z tym, wskazuje się na potencjalne prozdrowotne właściwości melanin z herbaty oraz możliwość ich wykorzystania do produkcji tzw. „zdrowej żywności” (SAVA i współaut. 2001b). Obecność melanin stwierdzono również w nasionach herbaty (WEIHUA 1996).

Podjęto również badania mające na celu lepsze poznanie prozdrowotnego działania melanin z herbaty. W tym celu SAVA i współaut. (2001a) podawali doustnie melanicę z herbaty myszom, analizując po okresie immunizacji jej wpływ na masę śledziony (odpowiedzialnej za procesy immunologiczne i wytwarzanie immunoglobulin) oraz poziom przeciwciał w teście PFC (ang. plaque-forming cells). Próbę kontrolną stanowiły myszy, którym podano erythrocyty owcze (ang. sheep red blood cells, SRBC) drogą iniekcji, natomiast próbę negatywną stanowiły myszy nieimmunizowane. Stwierdzono, że melanicę z herbaty (podobnie jak SRBC) znacząco wpłynęła zarówno na poziom przeciwciał u myszy immunizowanych, jak i na masę śledziony, w porównaniu do myszy nie poddanych immunizacji. Wynika z tego, że podawanie doustnie melanin z herbaty może wpływać na aktywację limfocytów B, a tym samym immunomodulująco na organizm (SAVA i współaut. 2001a).

Przypuszcza się, że unikatowe właściwości melanin wynikają głównie z ich działania antyoksydacyjnego. Zbadano właściwości utlenionych i zredukowanych form melanin z czarnej herbaty (HUNG i współaut. 2002). Analiza FT-IR wykazała zmiany w intensywności pasm przy długości fali 3450  $\text{cm}^{-1}$ , odpowiadającej drganiom rozciągającym grup hydroksylowych, które były znacznie słabsze w melanicie utlenionej. Znaczące różnice zaobserwowano również w spektrach UV-Vis. Melaniny jako związki zawierające w swojej budowie składniki aromatyczne, które posiadają grupy auksochromowe, wykazują zmienność właściwości absorpcyjnych w zależności od pH środowiska (CRIPPA i współaut. 1989). Różnica we własnościach przeciwutleniających zredukowanych i utlenionych form melanin wynikała z występowania w różnym stosunku form fenolowych i chinonowych w obrębie ich cząsteczek. Autorzy wykazali również, że zredukowana melanicę opóźnia utlenianie  $\beta$ -karotenu. Jak widać, właściwości melanin (pochodzących z czarnej herbaty) są zależne zarówno od stopnia ich utlenienia, jak i pH środowiska (HUNG i współaut. 2002).

SAVA i współaut. (2003) stwierdzili, że melanicę z czarnej herbaty w zredukowanej formie (ang. reduced melanin-like pigment rMLP) ma właściwości hepatoprotekcyjne, których nie wykazuje w formie natywnej (MLP). Redukcja melaniny spowodowała zmiany w jej strukturze, analiza FT-IR wykazała zmiany w spektrum przy długości fali 3450  $\text{cm}^{-1}$ , odpowiadającej drganiom rozciągającym grup hydroksylowych, w związku z tym w obrębie cząsteczki pojawiło się więcej grup fenolowych (SAVA i współaut. 2003).

W doświadczeniu wywoływano uszkodzenia wątroby poprzez podawanie hydrazyny (o silnych właściwościach hepatotoksycznych) oraz podawano zredukowaną melanicę z czarnej herbaty (rMLP). Po 48 godzinach od podania i uśmierceniu zwierząt, analizowano parametry wątroby i krwi poprzez zmierzenie poziomu zredukowanego glutationu (GSH), malondialdehydu (MDA) oraz aminotransferazy alaninowej (ALT). Analizowano również metabolizm antypiryny (fenazonu) u myszy, którym podano rMLP wraz z hydrazyną oraz samą hydrazynę. U myszy narażonych na działanie toksyny, którym podano rMLP stwierdzono znacznie niższy poziom ALT oraz wyższy GSH w porównaniu do myszy, które nie otrzymały rMLP. Wzrost aktywności ALT jest jednym ze wskaźników świadczących o chorobach wątroby (np. zapalenia wątroby, niezależnie od etiologii), natomiast glutation w formie zredukowanej, dzięki wolnej grupie tiolowej, wyłapuje reaktywne czynniki elektrofilowe, ochraniając komórki przed uszkodzeniem przez toksyny, umożliwia również usuwanie z ustroju związków azotowych i chlorowcopochodnych toksyn. Przypuszcza się, że ochronne działanie rMLP na wątrobę wynika ze zdolności do neutralizowania wolnych rodników (BLARZINO i współaut. 1999). Świadczy o tym brak zmian w poziomie MDA (będącego markerem stresu oksydacyjnego) u myszy z podaną hydrazyną oraz rMLP. Antypiryna jest wykorzystywana jako wskaźnik pojemności oksydacyjnej tkanek wątroby i testowania wpływu leków na metabolizm enzymów wątrobowych. U myszy, którym podano hydrazynę, zaobserwowano wyraźne osłabienie metabolizmu antypiryny (niemal 5-krotnie dłuższy okres półtrwania w porównaniu z próbą negatywną). Podanie rMLP znacząco zwiększyło metabolizm antypiryny, do poziomu porównywalnego z próbą kontrolną. Sugeruje się więc, że melaniny z czarnej herbaty mogą znaleźć zastosowanie jako naturalny czynnik hepatoprotekcyjny wykorzystywany w leczeniu schorzeń wątroby (SAVA i współaut. 2003).

CUEVAZ-JUÁREZ i współaut. (2014) analizowali zawartość i właściwości melanin z owoców roślin *Vitex mollis*, *Randia echinocarpa* i *Crescentia alata*, endemicznych dla Meksyku i zwanych lokalnie odpowiednio „avalama”, „papache” oraz „ayale”. Mięsz tych roślin jest jadalny, ma ciemną barwę i wykazuje właściwości prozdrowotne. Udowodniono, że owoce te wykazują m.in. właściwości przeciwdrobnoustrojowe (przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze oraz przeciwwirusowe), antyoksydacyjne, antymutagenne, moczopędne oraz zapobiegające tworzeniu się kamieni w drogach moczowych. Najwyższą zawartością zarówno melanin, jak i po-

lifenoli oraz właściwościami przeciwutleniającymi charakteryzował się *V. mollis*. Najprawdopodobniej wynika to z budowy owoców, które u *V. mollis*, chronione są jedynie cienką skórka, a przez to bardziej narażone na niekorzystne warunki takie jak nasłonecznienie czy zmiany pogody, w odróżnieniu od owoców *R. echinocarpa* i *C. alata*, które chroni gruby, nieprzezroczysty perykarp. Badacze wykazali również, że melanina z *V. mollis* wykazuje bardzo dużą aktywność inhibicyjną w stosunku do  $\alpha$ -glukozydazy, enzymu obecnego w początkowej części jelita cienkiego. Enzym ten rozcina długie łańcuchy wielocukrów, czyli węglowodanów złożonych, na cukry proste, w wyniku czego szybko rośnie poziom glukozy we krwi. Działanie melaniny z *V. mollis* jest prawie 50 razy skuteczniejsze od najczęściej stosowanego inhibitora  $\alpha$ -glukozydazy, askarbozy. Może to mieć szczególne znaczenie w terapii osób chorych na cukrzycę typu 2 (CUEVAZ-JUÁREZ i współaut. 2014).

U niektórych ras kury domowej (*Gallus gallus domesticus*) stwierdza się mutacje powodujące hiperpigmentację (*fibromelanosis*, fenotyp *Fm*) objawiającą się nadmierną melanizacją skóry i organów wewnętrznych (LUKANOV i GENCHEV 2013). Stwierdza się ciemny, dochodzący do czarnego odcień skóry, oczu, błon surowiczych, mięśni, osłonek nerwów, gonad, tchawicy i okostnej, spowodowany nadmiernym gromadzeniem się eumelaniny w tych tkankach (TU i współaut. 2009). Kury, które są nosicielami genów *Fm*, są nazywane w południowo-wschodniej Azji (obszarze pochodzenia tej mutacji) „kurami o czarnych kościach” lub „wu gu ji”. Najbardziej znaną odmianą kur o ciemnej skórze są kury Silkie, dodatkowo charakteryzujące się piórami, które wyglądają jak futro. Jest to najstarsza odmiana kur z mutacją *Fm* wspomnianą już w kronikach Marco Polo z końca XIII w. Obecnie wyróżnia się około 25 odmian kur wykazujących hiperpigmentację, m. in. chińską odmianę Dongxiang, znoszącą jaja, których skorupki zabarwione są na kolor szaro-niebieski, czy Ayam Cemani pochodząca z indonezyjskiej wyspy Jawa, u której wszystkie tkanki organizmu zabarwione są na czarno (LUKANOV i GENCHEV 2013). Kury takie (szczególnie o czarnej skórze, choć obecne są również odmiany o białym oraz żółtym kolorze skóry) są cenione w Chinach, Wietnamie, Tajlandii, Indonezji, Malezji i Korei. Ich spożycie związane jest z rytuałami religijnymi (podobnie jak spożycie w Peru czarnych kawii domowych, zwanych do niedawna świnkami morskimi) oraz tradycyjną medycyną, ponieważ wierzy się, że ich mięso zawiera pewne bliżej nie poznane „zdrowotne substancje oraz mistyczne siły”.

Istnieją doniesienia, że spożycie potraw z tych ptaków wzmacnia układ odpornościowy i działa korzystnie na procesy anaboliczne. Potrawy takie uważa się za pomocne w terapii cukrzycy, anemii, bólów menstruacyjnych i problemów poporodowych. Stwierdzono jednakże, że mięso kur z hiperpigmentacją ma znacznie wyższy poziom karnozyny ( $\beta$ -alanylo-L-histydyny), dipeptydu działającego jako fizjologiczny bufor w mięśniach, mającego właściwości antyoksydantu, wpływającego inhibicyjnie na proces glikacji białek. Poza tym, melanina obecna w tkankach tych zwierząt wykazuje właściwości przeciwutleniające, opóźniające utlenianie lipidów i chelatujące jony  $Fe^{2+}$  (LIN i CHEN 2005). Poza Azją spożycie kur noszących geny *Fm* nie jest popularne, jednak są coraz częściej hodowanymi odmianami ptaków ozdobnych, w związku ze swoim unikatowym wyglądem (LUKANOV i GENCHEV 2013).

Uszak bzoowy (*Auricularia auricula* syn. *A. auricula-judae*) jest grzybem z gromady grzybów podstawkowych (Basidiomycota) należącym do rodziny uszakowatych (Auriculariaceae). Jest to gatunek kosmopolityczny zasiedlający wszystkie kontynenty z wyjątkiem Antarktydy, pospolity także w Polsce. Znalazł szerokie zastosowanie, szczególnie w krajach Azji, w Chinach od wieków wykorzystywany jest w sztuce kulinarnej i tradycyjnej medycynie. Owocniki uszaka bzoowego, zwane w Chinach „czarną żywnością”, są niemal pozbawione smaku, ale spożywane są (jako tzw. „grzyby mun”) z uwagi na swoją chrząstkowatą konsystencję (ZOU i współaut. 2015). Przyjmuje się, że melaniny są głównym (obok polisacharydów, szczególnie  $\beta$ -glukanów) składnikiem aktywnym, wpływającym na właściwości prozdrowotne owocników *A. auricula*. Wykazano, że owocniki uszaka bzoowego mają wiele właściwości prozdrowotnych, włączając w to właściwości przeciwnowotworowe, obniżające poziom cholesterolu, hipoglikemiczne, antyoksydacyjne i antykoagulacyjne (BIN i współaut. 2012). Mimo wielowiekowej tradycji stosowania owocników *A. auricula* w medycynie i sztuce kulinarnej, wiedza o melaninie w nich zawartej jest stosunkowo nowa. BIN i współaut. (2012) wykazali, że melanina otrzymana z owocników grzyba hamowała wytwarzanie biofilmu przez bakterie patogeniczne takie jak: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *P. fluorescens*. Najprawdopodobniej wynika to z inhibicyjnego wpływu melaniny na zjawisko „quorum sensing” (sposób „porozumiewania się” między sobą bakterii za pomocą cząsteczek związków chemicznych), co zostało wykazane m. in. na przykładzie działania ekstraktu z *A. auricula* na bakterie *Chromobacterium violaceum* (ZHU i współ-

aut. 2011). Zjawisko „quorum sensing” ma istotne znaczenie w wirulencji i zdolnościach bakterii do wytwarzania biofilmu, a właściwość melaniny do zaburzania tego procesu może znaleźć potencjalne zastosowanie w walce z patogenami człowieka, szczególnie w obliczu ich wzrastającej antybiotykooporności (ZHU i współaut. 2011). Warto zaznaczyć, że istnieją doniesienia o aktywności inhibicyjnej tworzenia biofilmu nie tylko przez melaniny grzybowe, ale również przez melaniny bakteryjne, np. ze *Streptomyces* sp. i z *Providencia rettgeri* (VASANTHABHARATHI i współaut. 2011, LAXMI i współaut. 2016). Obecność melanin stwierdzono również w innych grzybach jadalnych: trufli czarnozarodnikowej (*Tuber melanosporum*), zwanej też truflą perygordzką (HARKI i współaut. 1997), oraz pieczarce dwuzarodnikowej (*Agaricus bisporus*) (WEIJN i współaut. 2012), brak jest jednak doniesień w dostępnej literaturze o ich właściwościach przeciwdrobnoustrojowych i wpływie na rozwój biofilmów bakteryjnych.

Choć przedstawione przykłady świadczą o pozytywnym działaniu melanin zawartych w pożywieniu, należy pamiętać o istnieniu w literaturze doniesień o możliwych negatywnych oddziaływaniach egzogennych melanin. Warto zwrócić uwagę na obecność w produktach spożywczych barwników o strukturze feomelaniny, która jest szczególnie podatna na fotodegradację. Pod wpływem promieniowania UV może generować nadtlenek wodoru i anionorodnik ponadtlenkowy, czego skutkiem są oksydacyjne uszkodzenia kwasów nukleinowych, białek i lipidów, a tym samym może przyczyniać się do powstawania niekorzystnych zmian produktu. Feomelanina również powiązana jest ze wzrostem poziomu prozapalnej histaminy (ŁOPUSIEWICZ i LISIECKI 2016, LEMBO i współaut. 2017).

## PODSUMOWANIE

Melaniny to związki o niezwykłych właściwościach. Pełnią istotną rolę w wielu procesach zachodzących w organizmie. Można je również znaleźć w niektórych produktach spożywanych przez człowieka, takich jak grzyby, nasiona roślin uprawnych, czarnej herbacie. Zawierają je niektóre owoce i warzywa. Znaleźć je można również w mięsie kur wykazujących hiperpigmentację, kawiorze i gotowych produktach, np. makaronie barwionym atramentem z sepii. Spożycie melanin wiąże się z wieloma efektami prozdrowotnymi, gdyż wykazują właściwości przeciwutleniające, hepatoprotekcyjne, zdolność do obniżania poziomu cukru, immunomodulujące czy hamujące tworzenie biofilmu przez patogeny występujące w żywności. To

sprawia, że melaninom należy poświęcić więcej uwagi jako potencjalnie cennym dodatkom do żywności.

## Streszczenie

Terminem „melaniny” określa się grupę wielkocząsteczkowych pigmentów (czarnych, brązowych, żółtoczerwonych i o barwach pośrednich) odpowiedzialnych za ciemną pigmentację organizmów. Pełnią kluczową rolę w wielu procesach fizjologicznych. Melaniny obecne są również w produktach i surowcach wykorzystywanych przez człowieka w przemyśle spożywczym. Ich obecność stwierdzono w niektórych grzybach jadalnych, owocach, warzywach, nasionach roślin uprawnych, czarnej herbacie, kawiorze, mięsie kur z hiperpigmentacją. Melaniny te wykazują szereg potencjalnie prozdrowotnych właściwości m. in. aktywność przeciwutleniająca, immunomodulująca, hepatoprotekcyjna, zdolność do obniżania poziomu cukru we krwi oraz chelatowania jonów metali. Hamują również tworzenie biofilmu przez mikroorganizmy, co może otworzyć nowy rozdział walki z antybiotykoopornymi patogenami. Spożycie melanin może więc wpływać na organizm w wieloraki sposób, przyczyniając się do poprawy jego funkcjonowania. Melaniny izolowane z różnych źródeł mogą stanowić wartościowe źródło naturalnych barwników do żywności.

## LITERATURA

- AL-TAYIB O. A., EL TAHIR K. E., IDRIS M. H., ERAM K. E., HASSIB A. M., 2014. *Nigella sativa* L. seeds melanin: A new hypoglycemic agent. Comparison with insulin in alloxan-diabetic rats. *Schol. Acad. J. Pharm.* 3, 332-335.
- BIN L., WEI L., XIAOHONG C., MEI J., MINGSHENG D., 2012. *In vitro* antibiofilm activity of the melanin from *Auricularia auricula*, and edible jelly mushroom. *Ann. Microbiol.* 62, 1523-1530.
- BLARZINO C., MOSCA L., FOPPOLI C., COCCIA R., DE MARCO C., ROSEI M. A., 1999. *Lipoxygenase/HZO-caroten catalyzed oxidation of dihydroxyindoles: synthesis of melanin pigments and study of their antioxidant properties*. *Free Rad. Biol. Med.* 26, 446-453.
- BUSCH J. M., 1999. *Enzymic browning in potatoes: a simple assay for a polyphenol oxidase catalysed reaction*. *Biochem. Edu.* 27, 171-173.
- CHITTURI S., GOPICHAND V., VUPPU S., 2013. *Studies on protein content, protease activity, antioxidants potential, melanin composition, glucosinolate and pectin constitution with brief statistical analysis in some medicinally significant fruit peels*. *Der Pharmacia Lettre* 5, 13-23.
- CRIPPA R., HORAK V., PROTTA G., SVORONOS P., WOLFRAM L., 1989. *Chemistry of melanins*. *Alkaloids* 36, 253-323.
- CUEVAS-JUÁREZ E., YURIAR-ARREDONDO K. Y., PIÓLEÓN J. F., MONTES-AVILA J., LÓPEZ-ANGULO G., DÍAZ-CAMACHO S., DELGADO-VARGAS F., 2014. *Antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory properties of soluble melanins from the fruits of *Vitex mollis* Kunth, *Randia echinocarpa* Sesé et Mociño and *Crescentia alata* Kunth*. *J. Funct. Foods* 9, 78-88.
- EL-OBEID A., AL-HARABI S., AL-JOMAH N., HASSIB A., 2006. *Herbal melanin modulates tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), interleukin 6 (IL-6) and vascular endothelial growth factor (VEGF) production*. *Phytomedicine* 13, 324-333.

- HARKI E., TALOU T., DARGENT R., 1997. *Purification, characterisation and analysis of melanin extract from Tuber melanosporum Vitt.* Food Chem. 58, 69-73.
- HASSIB A., 1998. *Nigella melanin*. Patent No. 451, Sudan.
- HASSIB A., EL HAG H., 2013. *Process for producing melanin using cultures of the genus Nigella*. Patent WO 2012125091.
- HENSON J. M., 2005. *Melanin*. Biopolymers Online. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600035.bpol1008/full>.
- HUNG Y.-C., SAVA V. M., MAKAN S. Y., CHEN T. J., HONG M.-Y., HUANG G. S., 2002. *Antioxidant activity of melanins derived from tea: comparison between different oxidative states*. Food Chem. 78, 233-240.
- ITO S., WAKAMATSU K., 2011. *Diversity of human air pigmentation as studied by chemical analysis of eumelanin and pheomelanin*. J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol. 25, 1369-1380.
- KOLCZYŃSKA-SZAFRANIEC U., BILIŃSKA B., 1992. *Infrared studies of natural pheomelanins*. Curr. Topics Biophys. 16, 77-80.
- KOLMAN R., WISZNIIEWSKI G., FOPP-BAYAT D., DUDA A., 2010. *Rezultaty eksperymentalnego rozrodu sterleta Acipenser ruthenus, z udziałem form o normalnym i albinotycznym zabarwieniu*. Komunikaty Rybackie 3, 9-13.
- KOWALSKA M., GAJEWNIK B., SUMIŃSKA T., BARYGA A., 2016. *Parametry mikrobiologiczne i fizykochemiczne soku surowego z buraków cukrowych przed i po ozonowaniu*. Żywność, Nauka, Technologia, Jakość 3, 140-152.
- LAXMI M., KURIAN N., SMITHA S., BHAT S., 2016. *Melanin and bacteriocin from marine bacteria inhibit biofilms of foodborne pathogens*. Indian J. Biotechnol. 15, 392-399.
- LEMBO S., DI CAPRIO R., MICILLO R., BALATO A., MONFRECOLA G., PANZELLA L., NAPOLITANO A., 2017. *Light-independent pro-inflammatory and pro-oxidant effects of purified human hair melanins on keratinocyte cell cultures*. Exp. Dermatol. 26, 592-594.
- LIN L., CHEN W., 2005. *The study of antioxidant effects in melanins extracted from various tissues of animals*. Asian-Australas. J. Anim. Sci. 18, 277-281.
- ŁOPUSIEWICZ Ł., LISIECKI S., 2016. *„Czarne złoto” – melaniny w życiu człowieka*. Kosmos 65, 621-629.
- ŁOPUSIEWICZ Ł. 2018. *Antioxidant, antibacterial properties and the light barrier assessment of raw and purified melanins isolated from Citrullus lanatus (watermelon) seeds*. Herba Pol. 64, 25-36.
- LUKANOV H., GENCHEV A., 2013. *Fibromelanosis in domestic chickens*. Agricult. Sci. Technol. 5, 239-246.
- MBONYIRYIVUZE A., NURU Z. Y., NGOM B. D., MWAIKUNGA B., DHALMINI S. M., PARK E., MAAZA M., 2015. *Morphological and chemical composition characterization of commercial sepia melanin*. Am. J. Nanomat. 3, 22-27.
- NURALIEV I. N., AVEZOV G. A., 1992. *The efficacy of Quercetin in alloxan diabetes*. Eksp. Klin. Farmakol. 55, 42-44.
- PLONKA P. M., GRABACKA M., 2006. *Melanin synthesis in microorganisms-biotechnological and medical aspects*. Acta Biochim. Pol. 53, 429-443.
- PROTA G., 1992. *Melanins and melanogenesis*. San-Diego:Academic Press.
- ROSTOGI N., 2011. *Provisioning services from ants: food and pharmaceuticals*. Asian Myrmecol. 4, 103-120.
- RÓŻANOWSKA M., SANRA T., LAND E., TRUSCOTT G., 1999. *Free radical scavenging properties of melanin interaction of eu- and pheomelanin models with reducing and oxidising radicals*. Free Rad. Biol. Med. 26, 518-525.
- SAVA V., GALKIN B., HUNG M. Y., YANG P. C., HUANG G. S., 2001a. *A novel melanin-like pigment derived from black tea leaves with immuno-stimulating activity*. Food Res. Intern. 34, 337-343.
- SAVA V. M., YANG S. M., HUNG M. Y., YANG P. C., HUANG G. S., 2001b. *Isolation and characterisation of melanic pigments derived from tea and tea polyphenols*. Food Chem. 73, 177-184.
- SAVA V. M., HUNG Y. C., BLAGODARSKY V. A., HONG M. Y., HUANG G. S., 2003. *The liver-protecting activity of melanin-like pigment derived from black tea*. Food Res. Intern. 36, 505-511.
- SOCACIU C., 2008. *Food colorants: chemical and functional properties*. CRC Press, Cliy-Napoca.
- SOLANO F., 2014. *Melanins: skin pigments and much more - types, structural models, biological functions, and formation routes*. New J. Sci. 2014, 1-28.
- TANG H., 2009. *Regulation and function of the melanization reaction in Drosophila*. Fly 3, 105-111.
- TU Y., SUN Y., TIAN Y., XIE M., CHEN J., 2009. *Physicochemical characterisation and antioxidant activity of melanin from the muscles of Taihe Black-bone silky fowl (Gallus gallus domesticus Brisson)*. Food Chem. 114, 1345-1350.
- VASANTHABHARATHI V., LAKSHMINARAYANAN R., JAYALAKSHMI S., 2011. *Melanin production from marine Streptomyces*. Afr. J. Biotechnol. 10, 11224-11234.
- VOLZ J., MÜLLER H. M., ZDANOWICZ A., KAFATOS F. C., OSTA M. A., 2006. *A genetic module regulates the melanization response of Anopheles to Plasmodium*. Cell Microbiol. 8, 1392-1405.
- WEIHUA H., 1996. *Natural tea black hair dyeing agent and making method thereof*. Patent CN 1116089, IPC Class: A61K 7/13.
- WEIJN A., BASTIAAN-NET S., WICHERS H. J., MES J. J., 2013. *Melanin biosynthesis pathway in Agaricus bisporus*. Fungal Genet. Biol. 55, 42-53.
- WISEMAN S. A., BALENTINE D. A., FREI B., 1997. *Antioxidants in tea*. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 37, 705-718.
- YAO Z., QI J., WANG L., 2012. *Isolation, fractionation and characterization of melanin-like pigments from chestnut (Castanea mollissima) shells*. J. Food Sci. 77, 671-676.
- ZECCA L., TAMPELLINI D., GERLACH M., RIEDERER P., FARELLO R. G., SULZER D., 2001. *Substantia nigra neuromelanin: structure, synthesis, and molecular behaviour*. J. Clin. Pathol. Mol. Pathol. 54, 414-418.
- ZHU H., HE C.-C., CHU Q.-H., 2011. *Inhibition of quorum sensing in Chromobacterium violaceum by pigments extracted from Auricularia auricular*. Lett. Appl. Microbiol. 52, 269-274.
- ZOU Y., HU W., MA K., TIAN M., 2015. *Physicochemical properties and antioxidant activities of melanin and fractions from Auricularia auriculara fruiting bodies*. Food Sci. Biotechnol. 24, 15-21.



**KOSMOS Vol. 67, 3, 555–563, 2018**

ŁUKASZ ŁOPUSIEWICZ, SŁAWOMIR LISIECKI

*Center of Bioimmobilization and Innovative Packaging Materials, West Pomeranian University of Technology in Szczecin,  
35 Janickiego Str., 71-270 Szczecin, E-mail: lukasz.lopusiewicz@zut.edu.pl*

## MELANINS IN HUMAN DIET

## Summary

The term „melanins” refers to a group of macromolecular pigments (black, brown, yellow-red and colors in between) responsible for the dark pigmentation of organisms. They play a pivotal role in many physiological processes. Melanins are also present in the products and the raw materials used in food industry. Their presence was found in some edible mushrooms, fruits, vegetables, seeds of crops, black tea, caviar, meat of chickens with hyperpigmentation. These melanins have a number of potentially health-promoting properties: antioxidant, immunomodulatory, hepatoprotective activity, the ability to lower blood sugar level, and metal chelation. Melanins also inhibit biofilm formation by microorganisms, which could open a new chapter in the fight against antibiotic-resistant pathogens. Consumption of melanins can thus affect the body in many ways, contributing to improvement of its functioning. Melanins isolated from different sources can be a valuable source of natural dyes for food.

Key words: antioxidants, food additives, food products, melanins