

ILONA BACHANEK<sup>1</sup>, DOROTA WYSPIAŃSKA<sup>2</sup>, PAULINA MIZGIER<sup>2</sup>, ALICJA ZOFIA KUCHARSKA<sup>2</sup>, MARCIN TACIAK<sup>1</sup>

## Prozdrowotne właściwości mikrokapsułkowanych fitoestrogenów z soi\*

### Health benefits of microencapsulated soy phytoestrogens

<sup>1</sup>Zakład Żywienia Zwierząt, Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt  
im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk, Jabłonna

<sup>2</sup>Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Zbóż, Wydział Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

#### KEYWORDS

microencapsulation, isoflavones,  
digestion, metabolites

#### SUMMARY

Belonging to the flavonoids, isoflavones comprise naturally occurring, secondary plant metabolites that are mainly found within the family of *Fabaceae*. Soybeans are one of the richest sources of isoflavones in normal food. Actually, there are several foods derived or based on soybeans such as soy milk, tofu and tempeh. Furthermore the consumption and use of soybeans (texturized soy protein, concentrated soy protein and soy protein isolate) as additives by the food industry is increasing every year. The main isoflavones found in soybeans are genistein (4',5,7-trihydroxyisoflavone), daidzein (4',7-dihydroxyisoflavone), glycitein (4',7-dihydroxy-6-metoxi-isoflavone) and their respective acetyl, malonyl and aglycone forms. Only aglycones are considered to be active metabolites and have been reported beneficial effects on the physiological function in humans. The soybean isoflavones have been one of the most investigated phytochemicals due to their ability to reduce the incidence of some types of cancer, as well as relieve climacteric symptoms in postmenopausal women. Furthermore soy protein containing isoflavones have several beneficial effects on cardiovascular health.

Microencapsulated delivery system, such as emulsion-based system, complex-coacervates, solid lipid nanoparticles and biopolimeric gelled microspheres, have the potential to protect bioactives, mask taste of undesirable components and release them upon ingestion. An important aspect of the delivery of bioactives is their bioavailability on ingestion. What is importance intestinal flora plays key roles in the metabolism and bioavailability of isoflavones. Microencapsulation of a bioactive mixture like isoflavones would affect intestinal transit times but not compromise the bioavailability of the individual agents.

#### WSTĘP

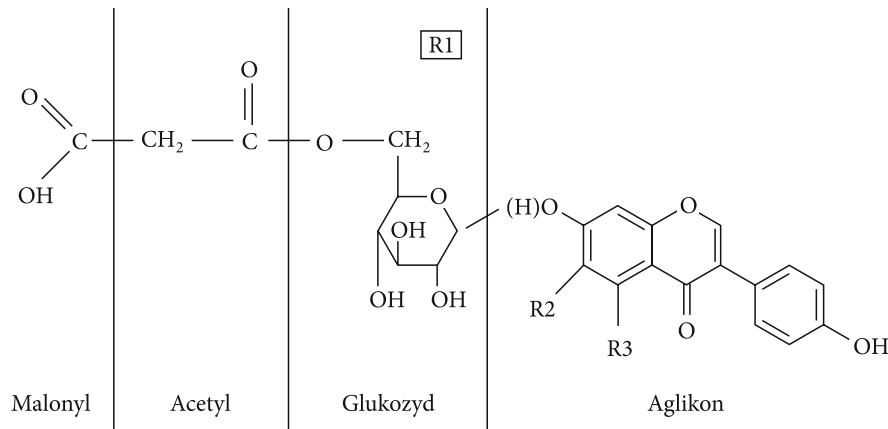
Izoflawony to grupa związków polifenolowych naturalnie występujących w ponad 300 gatunkach. Najczęściej spotykamy je w korzeniach i nasionach takich roślin, jak: soja, koniczyna, lucerna, siemię lniane (1). W ich strukturze wyróżnia się dwa aromatyczne pierścienie połączone układem heterocyklicznym  $\gamma$ -pironu, przez co uważane są za pochodne benzo- $\gamma$ -pironu, tzw. chromonu. W soi izoflawony występują najczęściej w postaci glukozydów, ponadto do formy cukrowej mogą być dołączone reszty malonylowe i acetylowe, co prezentuje rycina 1. Aglikony pozbawione podstawników cukrowych występują

w niewielkich ilościach w niesfermentowanych produktach sojowych.

Wang i Murphy (3) oraz Song i wsp. (4) w swoich badaniach oznaczyli zawartość izoflawonów w nieprzetworzonych produktach pochodzenia sojowego i uzyskali wyniki pomiędzy 1,2-4,2 mg izoflawonów w jednym gramie produktu (np. mąka sojowa, mleko sojowe). Po przeanalizowaniu innych badań, żaden inny owoc czy warzywo nie zawiera większej ilości tych związków.

W ostatnich latach obserwuje się coraz większe zainteresowanie izoflawonami ze względu na ich szerokie spektrum aktywności biologicznej i farmaceutycznej. Z badań *in vivo*

\*Praca wykonana w ramach projektu badawczego nr N N312 279240, Narodowe Centrum Nauki



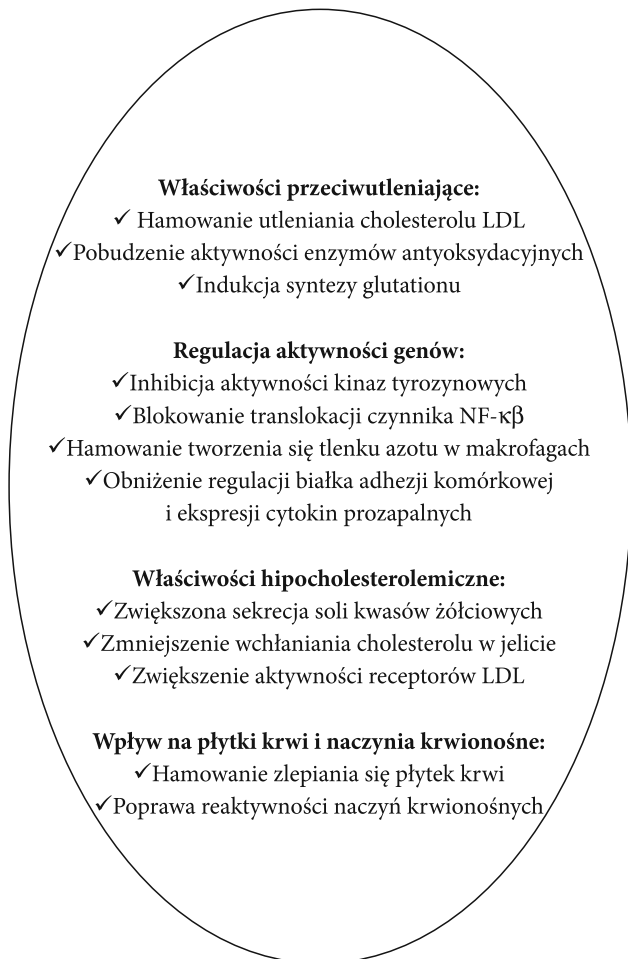
Ryc. 1. Struktura izoflawonów występujących w soi. Podstawniki R1, R2 i R3 są specyficzne dla poszczególnych związków (2)

i *in vitro* wynika, że izoflawony wykazują m.in.: właściwości przeciwzapalne, antymutagenne, przeciwutleniające, przeciwnowotworowe, przeciwbakteryjne czy przeciwmiażdżycowe (5, 6) (ryc. 2). Dotychczas opublikowano wiele doniesień na temat korzystnego wpływu izoflawonów na

przebieg menopauzy (7-9). Menopauzie towarzyszy wiele zaburzeń, m.in.: utrata libido, bezsenność, wzrost ciśnienia krwi, a przede wszystkim uderzenia gorąca. Uderzenia gorąca są najczęściej występującymi objawami okresu menopauzalnego, dotykającymi około 70-80% populacji zachodniej i tylko 14-15% populacji japońskiej i chińskiej (7, 10, 11). Badania Murkiesa i wsp. (12) wykazały, że u kobiet w okresie menopauzy, spożywających 45 g mączki sojowej dziennie przez okres 12 tygodni, częstość uderzeń gorąca zmniejszyła się o ok. 40%. Skuteczność ekstraktu izoflawonów sojowych stosowanych w dziennej dawce 52-104 mg potwierdzają badania przeprowadzone przez Drews i wsp. (13) w zmniejszeniu częstości występowania uderzeń gorąca.

Wiele badań wskazuje, że izoflawony mogą mieć istotne znaczenie w przeciwdziałaniu osteoporozie (6, 14, 15). Stwierdzono, że genisteina i biochanina A pobudzają działanie osteoblastów, natomiast hamują działanie osteoklastów (16). Ponadto izoflawony mają wpływ na metabolizm cholekalcyferolu odpowiedzialnego za gospodarkę wapniowo-fosforanową w organizmie, pobudzają sekrecję insulinopodobnego czynnika wzrostu typu I (IGF-I) (17, 18).

Badania epidemiologiczne potwierdzają przeciwnowotworowe działanie izoflawonów. Udowodniono, że genisteina m.in. opóźnia angiogenezę, działa hamująco na aktywność kinaz tyrozynowych, posiada właściwości antyproliferacyjne w stosunku do komórek estrogenozależnych i estrogeniezależnych (19). Doświadczalnie wykazano, że daidzeina, genisteina i biochanina A wywołują proces apoptozy komórek w niektórych nowotworach, np. żołądka, piersi, prostaty (5). Izoflawony mogą także w istotny sposób przyczynić się do obniżania ryzyka rozwoju chorób układu krwionośnego, w tym miażdżycy i choroby wieńcowej serca (5, 7). Dieta bogata w izoflawony powoduje obniżenie stężenia triglicerydów, cholesterolu całkowitego i frakcji LDL oraz cholesterolu endogenego (20). Wykazano także przeciwzapalne, przeciwgrzybicze i przeciwbakteryjne działanie izoflawonów (5).



Ryc. 2. Właściwości biologiczne izoflawonów (21)

## IDEA MIKROKAPSULKOWANIA IZOFLAWONÓW

Ze względu na właściwości prozdrowotne izoflawonów istnieje możliwość praktycznego ich wykorzystania w celu profilaktyki chorób cywilizacyjnych i hormonozależnych (22).

Izoflawony charakteryzują się jednak niewystarczającą stabilnością podczas przechowywania, słabą rozpuszczalnością w wodzie, a co za tym idzie zmniejszoną absorpcją w żołądku i przepuszczalnością przez błony biologiczne. W konsekwencji zmniejsza się również ich dostępność biologiczna w organizmie (23). Badania farmakokinetyczne wykazały, że daidzyna i genistyna są szybko wchłaniane do krążenia obwodowego i wydalane z organizmu z końcowym okresem półtrwania wynoszącym 7-8 godzin. Utrzymanie odpowiedniego stężenia izoflawonów w osoczu jest zatem trudne do osiągnięcia, jeśli nie są one spożywane regularnie i kilkukrotnie w ciągu dnia (24). Ze względu na fasolowy posmak, cierpkość i brązowy kolor, dodatek izoflawonów do produktów spożywczych może być utrudniony. W celu zamaskowania tych niekorzystnych w ocenie sensorycznej cech oraz poprawy rozpuszczalności, biodostępności i stabilności izoflawonów można wykorzystać proces mikrokapsulacji (25).

Mikrokapsulacja polega na wytworzeniu otoczki wokół rdzenia substancji aktywnej w taki sposób, aby zawartość powstałej kapsułki uwalniała się w określonych warunkach, w sposób kontrolowany (26). Współcześnie proces mikrokapsulacji stosowany jest w papiernictwie, rolnictwie, farbiarstwie, kosmetyce, a także w farmacji, weterynarii i medycynie. W przemyśle spożywczym znalazł wiele zastosowań, m.in. jako nośnik smaku, zapachu i barwy (27). Technika ta pozwala również na rozwiązanie problemów wynikających z ograniczonej stabilności chemicznej i fizycznej związków aktywnych, niekompatybilności pomiędzy matrycą żywnościową a aktywnym składnikiem oraz tych związanych z ich biodostępnością (28). Zastosowanie mikrokapsulacji ułatwia proces dozowania, mieszania oraz transport substancji, ponieważ powstały proszek jest lżejszy od koncentratu (29). Dzięki zamykaniu określonego dodatku do żywności w otoczki można uchronić go przed procesami, jakimi poddawane są produkty (zamrażanie, smażenie, gotowanie, suszenie) i zwiększyć jego stabilność (30). Dodatkową zaletą jest możliwość kontrolowania ilości wprowadzanego materiału aktywnego biologicznie do produktów spożywczych (31).

Próby kapsułkowania izoflawonów za pomocą suszenia rozpyłowego podjęli Sansone i wsp. (23). Celem tych badań było opracowanie nowej powłoki mającej zdolność do hermetyzacji izoflawonów podczas suszenia rozpyłowego, a tym samym poprawa zdolności szybkości rozpuszczania związków w wodzie, przepuszczalności przez błony biologiczne i zwiększenie stabilności produktu końcowego. Poprawę rozpuszczalności i biodostępności podczas mikrokapsulowania polifenoli, w tym izoflawonów, oceniali również Fang i Bhandari (32). Zwiększenie rozpuszczalności genisteiny podczas mikrokapsulacji przy użyciu cyklodekstryn zostało

ocenione przez Daruhazi i wsp. (33). Jeon i wsp. (34) podjęli próbę dodatku otoczki z izoflawonów do mleka. W badaniach oceniono stabilność związków aktywnych, wydajność procesu mikrokapsulacji oraz wpływ na cechy sensoryczne gotowego produktu. Setchell i wsp. (24) wykazali natomiast, że proces mikrokapsulacji może spowolnić uwalnianie *in vitro* izoflawonów oraz tempo ich wchłaniania, a także wydłużyć okres półtrwania związków w organizmie nawet dwukrotnie.

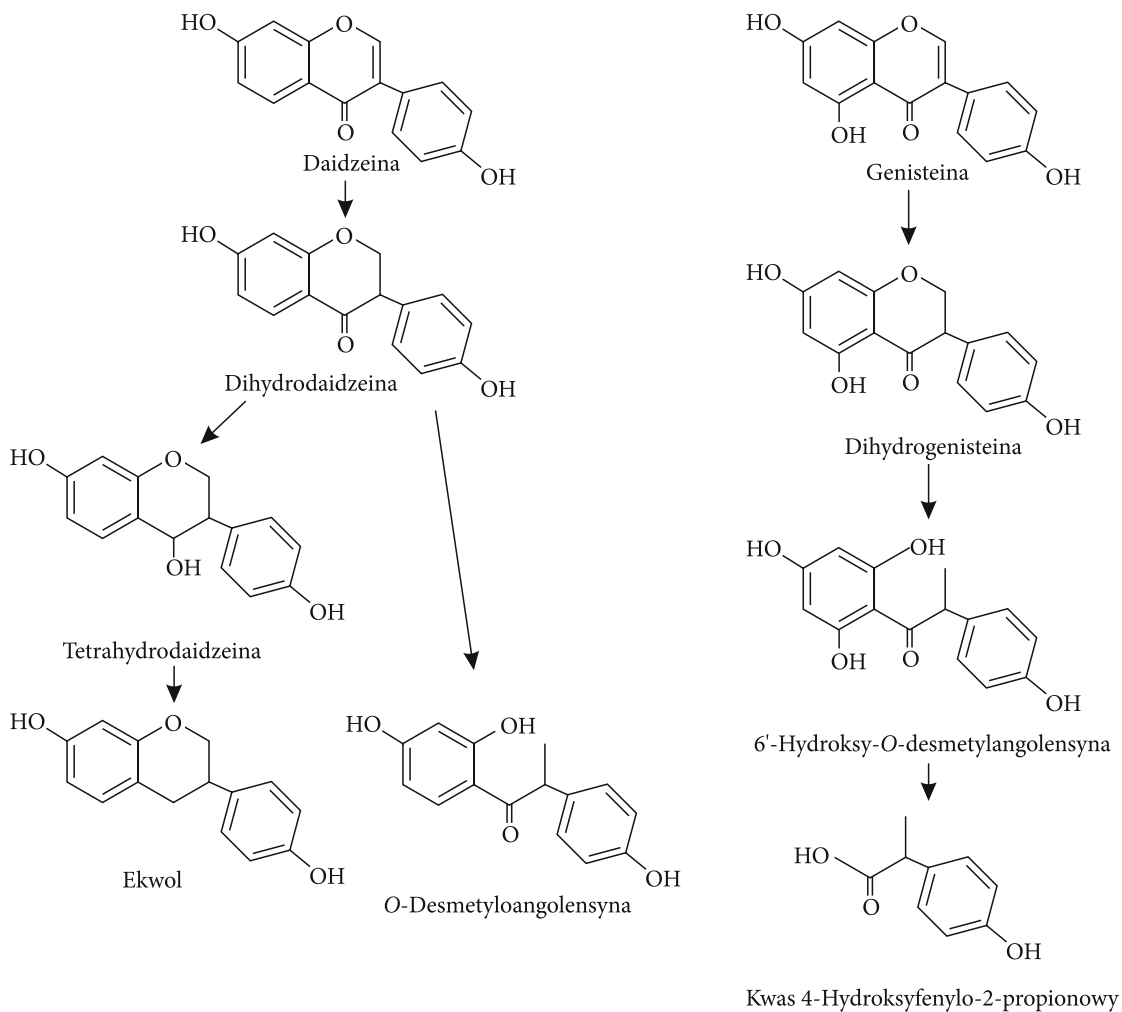
## SPOWOLNIONE TRAWIENIE MIKROKAPSULEK JAKO ŹRÓDŁO WIĘKSZEJ ILOŚCI PROZDROWOTNYCH METABOLITÓW

Izoflawony obecne w produktach sojowych są bogate w formy glukozowe oraz malonylowe, które nie są wchłaniane przez organizm. Natomiast po dostaniu się do układu pokarmowego związki te są rozkładane przez enzymy jelitowe oraz enzymy bakteryjne do pozbawionych reszt cukrowych i malonylowych, aktywnych aglikonów. Ponadto dzięki bakteriom zasiedlającym jelito grube aglikony mogą być dalej metabolizowane do aktywnych związków. I tak z genistyny w wyniku działania  $\beta$ -glukozydazy powstaje genisteina, która jest przekształcana przez dihydrogenisteinę, 6'-hydroksy-O-desmetylolangolensyny do kwasu 4-hydroksyfenylo-2-propionowego (ryc. 3). Daidzyna natomiast przekształcana jest do daidzeiny przez  $\beta$ -glukozydazę, a następnie ulega bio-konwersji do O-demetyloangolensyny (O-DMA) lub ekwolu, gdzie związkiem pośrednim jest dihydrodaidzeina (ryc. 3). Procesy zachodzące w jelicie grubym są jednak mniej poznane, co wynika z dużej różnorodności mikroflory i trudności w ich zasymulowaniu *in vitro*.

Dzięki przedłużonemu pasażowi w jelicie, większa ilość aglikonów ma szansę dotrzeć do okrężnicy i tam ulec bio-konwersji. Aby wydłużyć czas przebywania pokarmu w jelicie, można zastosować w diecie większe ilości tzw. włókna pokarmowego, jakimi są: błonnik, inulina, oligosacharydy czy skrobia oporna. Substancje te nie ulegają strawieniu w jelicie cienkim, dzięki czemu do końca wpływają na jego perystaltykę oraz pasaż treści pokarmowej, a co za tym idzie lepsze wykorzystanie spożytego pokarmu. Ponadto niestrawione włókno będzie stymulowało mikroflorę do większej aktywności, dzięki czemu aglikony również będą intensywniej metabolizowane. Setchell i wsp. (35) w swoich badaniach pokazali, że dodatek opornej skrobi modyfikuje mikroflorę jelita w taki sposób, że pobudza ją do produkcji ekwolu.

Ideą mikrokapsulowania ekstraktów sojowych jest zamknięcie izoflawonów w otoczce z trudnostrawnych oligofruktanów, takich jak inulina. Dzięki temu nie ulegają one trawieniu i wchłonięciu we wcześniejszych partiach układu pokarmowego. Izoflawony w postaci niezmienionej docierają do jelita grubego, gdzie zostaje strawiona osłona, a następnie trawieniu ulegają związki w niej zamknięte (36).

Jednym z powodów, dla których warto dążyć do wzrostu koncentracji aglikonów w jelicie grubym, jest ekwol. Jest to



Ryc. 3. Ścieżka metabolizmu daidzeiny i genisteiny (40)

ważny metabolit przemian daidzeiny poprzez dihydrodaidzeinę. Powstaje dzięki działaniu enzymów bakterii jelitowych. Wykazuje on większą aktywność estrogeną w porównaniu do pozostałych metabolitów izoflawonów. Występuje jedynie u 30-50% populacji ludzkiej, są to tzw. producenci ekwolu, którzy wykazują mniejsze ryzyko zachorowania na raka piersi czy raka prostaty (37). Spowodowane jest to różnicą w zasiedleniu mikroflory jelita.

Setchell i wsp. (35) udowodnili w swoich badaniach, że tylko producenci ekwolu wykazują zmniejszoną mineralizację kości (ang. *bone mineral density* – BMD) w kręgosłupie lędźwiowym po 2 latach podawania izoflawonów. Badania Tousena i wsp. (38) dowiodły, że podawanie daidzeiny wraz z dodatkiem skrobi odpornej wpływa na znaczne zmniejszenie spadku poziomu BMD piszczeli u myszy OVX (poddanych owariektomii, w celu wyeliminowania naturalnych

estrogenów) w porównaniu z dietami z dodatkiem samej skrobi odpornej lub samej daidzeiny. Bardzo podobne rezultaty otrzymali inni badacze, którzy stosowali kombinacje dodatków z izoflawonami, np. z fruktooligosacharydami (39) czy probiotykami.

## PODSUMOWANIE

Dzięki procesowi mikroksułowania izoflawonów jest szansa na ograniczenie ich niepożądanego smaku i barwy w produktach spożywczych, przy jednoczesnym wydobyciu z tych związków jak największej ilości ich metabolitów, które są uznawane za prozdrowotne komponenty diety. W związku z tym, że fitoestrogeny to temat ciągle budzący kontrowersje i sprzeczności między naukowcami, należy kontynuować i pogłębiać badania nad tymi aktywnymi związkami.

**KONFLIKT INTERESÓW**  
**CONFLICT OF INTEREST**

Brak konfliktu interesów  
None

**ADRES DO KORESPONDENCJI**

Ilona Bachanek  
Zakład Żywnienia Zwierząt  
Instytut Fizjologii i Żywnienia Zwierząt  
im. Jana Kielanowskiego  
Polskiej Akademii Nauk  
ul. Instytucja 3, 05-110 Jabłonna  
tel. +48 (22) 765-33-01  
bachanekilona@gmail.com

**PIŚMIENICTWO**

1. Klejdus B, Mikelová R, Petrlová J et al.: Determination of isoflavones in soy bits by fast column high-performance liquid chromatography coupled with UV-visible diode-array detection. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 5848-5852.
2. Rostagno MA, Villares A, Guillamón E, Garcia-Laufente A: Sample preparation for the analysis of isoflavones from soybeans and soy foods. *J Chromatogr* 2009; 1216: 2-29.
3. Wang HJ, Murphy PA: Isoflavone content in commercial soybean foods. *J Agric Food Chem* 1994; 42: 214.
4. Song TT, Barua K, Buseman G, Murphy PA: Soy isoflavone analysis: quality control and a new internal standard. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 1474-1479.
5. Czerpak R, Pietryczuk A, Jabłońska-Trypuć A et al.: Aktywność biologiczna izoflawonoidów i ich znaczenie terapeutyczne i kosmetyczne. *Post Fitoter* 2009; 2: 113-121.
6. Kwiatkowska E: Fitoestrogeny – rola prozdrowotna i zawartość w produktach. *Post Fitoter* 2009; 2: 107-112.
7. Bijak M, Połać I, Borowiecka M et al.: Izoflawony jako alternatywa dla terapii hormonalnej wieku menopauzalnego. *Prz Menopauzalny* 2010; 6: 402-406.
8. Rotsztejn H: Znaczenie fitoestrogenów w świetle obecnej wiedzy. *Prz Menopauzalny* 2005; 4: 47-50.
9. Kołodziejczyk J, Olas B, Wachowicz B: Właściwości lecznicze izoflawonów w łagodzeniu objawów towarzyszących menopauzie i nie tylko. *Kosmos* 2012; 61(2): 331-339.
10. Baber R: Phytoestrogens and post reproductive health. *Maturitas* 2010; 66: 344-349.
11. Prescha A, Biernat J: Wpływ fitoestrogenów pokarmowych na organizm człowieka. Cz. II. Przeciwdziałanie skutkom menopauzy oraz działanie przeciwnowotworowe. *Bromat Chem Toksykol* 2008; 4: 941-948.
12. Murkies AL, Lombard C, Strauss BJ et al.: Dietary flour supplementation decreases post-menopausal hot flushes: effect of soy and wheat. *Maturitas* 1995; 21: 189-195.
13. Drewny K, Seremak-Mrozikiewicz A, Puk E et al.: Skuteczność działania standaryzowanego ekstraktu izoflawonów sojowych (Soyfem) (52-104 mg/24 h) w umiarkowanym i średnio ciężkim zespole klimakterycznym. *Ginekol Pol* 2007; 78: 307-311.
14. Gheribi E: Znaczenie fitoestrogenów roślinnych w profilaktyce osteoporozy. *Post Fitoter* 2012; 3: 192-196.
15. Alekel DL, Germain AS, Peterson CT et al.: Isoflavone-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(3): 844-852.
16. Cassidy A: Potential risk and benefits of phytoestrogen-rich diets. *Int J Vitam Nutr Res* 2003; 73(2): 120-126.
17. Tempfer CB, Bentz EK, Leodolter S et al.: Phytoestrogens in clinical practice: a review of the literature. *Fertil Steril* 2007; 87: 1243-1249.
18. Wangen KE, Duncan AM, Merz-Demlow BE et al.: Effects of soy isoflavones on markers of bone turnover in premenopausal and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3043-3048.
19. Gryniewicz G, Gadzikowska M: Fitoestrogeny jako selektywne modulatory aktywności receptorów estrogenowych. *Post Fitoter* 2003; 4: 10-14.
20. Nestel P: Isoflavones: effects on cardiovascular risk and functions. *Inter Congress Series* 2004; 1262: 317-319.
21. Rimbach G, Boesch-Saadatmand Ch, Frank J et al.: Dietary isoflavones in the prevention of cardiovascular disease – a molecular perspective. *Food Chem Toxicology* 2008; 4: 1308-1319.
22. Makowska-Wąs J, Janeczko Z: Biodostępność polifenoli roślinnych. *Post Fitoter* 2004; 3: 126-137.
23. Sansone F, Picerno P, Mencherini T et al.: Enhanced technological and permeation properties of a microencapsulated soy isoflavones extract. *J Food Eng* 2013; 115: 298-305.
24. Setchell KDR, Brzezinski A, Brown NM et al.: Pharmacokinetics of a slow-release formulation of soybean isoflavones in healthy postmenopausal women. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 1938-1944.
25. Seok JS, Kim JS, Kwak HS: Microencapsulation of water-soluble isoflavone and physico-chemical property in milk. *Arch Pharm Res* 2003; 26(5): 426-431.
26. Danyluk B, Medyński A, Pospiech E et al.: Ocena wpływu mikrokapsułkowanego chlorku sodu na stan mikrobiologiczny mięsa schabu i z karkówki przechowywanego w warunkach chłodniczych i zamrażalniczych. *ŻNTJ* 2004; 39: 32-45.

27. Gouin S: Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends Food Sci Technol* 2004; 15: 330-343.
28. Ubbink J, Krüger J: Physical approaches for the delivery of active ingredients in foods. *Trends Food Sci Tech* 2006; 17: 244-254.
29. Druri M, Pawlik A: Techniki mikrokapsułkowania aromatów spożywczych. *Przem Spoż* 2001; 3: 26-33.
30. Janiszewska E, Witrowa-Rajchert D: Mikrokapsułkowanie aromatów. *Przem Spoż* 2006; 5: 40-44.
31. Wojtowicz E, Zawirska-Wojtasiak R, Adamiec J et al.: Odor active compounds content in spices and their microencapsulated powders measured by SPME. *J Food Sci* 2010; 8: 441-445.
32. Fang, Z, Bhandari B: Encapsulation of polyphenols – a review. *Trends Food Tech* 2010; 21: 510-523.
33. Daruhazi AE, Szente L, Balogh B et al.: Utility of cyclodextrins in the formulation of genistein – Part 1. Preparation and physicochemical properties of genistein complexes with native cyclodextrins. *J Pharmaceut Biomed* 2008; 48: 636-640.
34. Jeon BJ, Kim NC, Han EM et al.: Application of microencapsulated isoflavone into milk. *Arch Pharm Res* 2005; 28(7): 859-865.
35. Setchell KD, Brown NM, Zimmer-Nechemias L et al.: Evidence for lack of absorption of soy isoflavone glycosides in humans, supporting the crucial role of intestinal metabolism for bioavailability. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 447.
36. Augustin MA, Abeywardena MY, Patten G et al.: Effects of microencapsulation on the gastrointestinal transit and tissue distribution of a bioactive mixture of fish oil, tributyrin and resveratrol. *J Func Food* 2011; 3: 25-37.
37. Wang XL, Kim HJ, Kang SI et al.: Production of phytoestrogen S-equol from daidzein in mixed culture of two anaerobic bacteria. *Arch Microbiol* 2007; 187: 155-160.
38. Tousey Y, Abe F, Ishida T et al.: Resistant starch promotes equol production and inhibits tibial bone loss in ovariectomized mice treated with daidzein. *Metabolism* 2011; 60(10): 1425-1432.
39. Ohta A, Uehara M, Sakai K et al.: A combination of dietary fructooligosaccharides and isoflavone conjugates increases femoral bone mineral density and equol production in ovariectomized mice. *J Nutr* 2002; 132(7): 2048-2054.
40. Aura AM: Microbial metabolism of dietary phenolic compounds in the colon. *Review* 2008; 7: 407-429.

nadesłano: 08.11.2017

zaakceptowano do druku: 29.11.2017