

AGNIESZKA NAWIRSKA, ANNA SOKÓŁ-ŁĘTOWSKA,
ALICJA Z. KUCHARSKA

WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE WYTŁOKÓW Z WYBRANYCH OWOCÓW KOLOROWYCH

Streszczenie

Określono właściwości przeciwutleniające wycieków z aronii, czarnej porzeczki, pigwowca japońskiego, jagody kamczackiej i truskawek. W ekstraktach alkoholowych badanych wycieków oznaczono siłę wiązania rodników (DPPH), aktywność przeciwutleniającą metodą ABTS, siłę redukującą (FRAP) oraz zawartość polifenoli ogółem i antocyjanów.

Wykazano, że analizowane ekstrakty miały zdolność do wiązania wolnych rodników, która zależała od rodzaju wycieków. Największą aktywność przeciwutleniającą (w przeliczeniu na suchą masę) stwierdzono w przypadku wycieków z aronii (DPPH – 199,4 mg/g, ABTS – 53,2 mg/g, FRAP – 12,53 mg/g). Równie wysoką aktywność wykazały wycieki z czarnej porzeczki, jakkolwiek wartości FRAP były niskie (5,24 mg/g), natomiast najniższą – wycieki z pigwowca japońskiego (DPPH – 18,21 mg/g, ABTS – 13,97 mg/g, FRAP – 6,12 mg/g). Określono wysoką korelację (od $r = 0,976$ do $r = 0,911$) pomiędzy zawartością polifenoli ogółem i antocyjanów a właściwościami przeciwutleniającymi oznaczonymi jako DPPH i ABTS. Stwierdzono, że właściwości przeciwutleniające badanych wycieków były wysokie, pomimo zastosowania, jako metody utrwalającej, procesu suszenia, w trakcie którego zawartość związków o właściwościach przeciwutleniających uległa znaczącemu zmniejszeniu.

Słowa kluczowe: wycieki z owoców, właściwości przeciwutleniające, DPPH, ABTS, FRAP

Wprowadzenie

Wolne rodniki są to grupy atomów lub cząsteczki mające na ostatniej powłoce jeden lub więcej niesparowanych elektronów, co sprawia, że są one niestabilne i bardzo reaktywne.

Wolne rodniki mogą powstawać w wyniku zanieczyszczenia środowiska, podczas wielu procesów chemicznych np. przy wytwarzaniu powszechnie stosowanych mas plastycznych, wskutek reakcji tlenu z paliwem napędowym podczas pracy silników,

Dr inż. A. Nawirska, dr inż. A. Sokół-Łętowska, dr inż. A. Kucharska, Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Zbóż, Wydz. Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Norwida 25/27, 50-375 Wrocław

w czasie tworzenia smogu. Mogą również tworzyć się jako efekt działania promieni jonizujących lub promieni nadfioletowych [8].

W ustroju człowieka rodniki powstają podczas procesu oddychania, autooksydacji wielu związków, zwłaszcza lipidów, podczas licznych reakcji enzymatycznych, a także w wyniku infekcji bakteryjnych lub wirusowych i związanych z tym procesów fagocytozy [8]. Bardzo istotną rolę w zapobieganiu skutkom działania wolnych rodników odgrywają przeciwutleniacze dostarczane do naszego organizmu wraz z żywnością.

Obecnie zauważyć można rosnące zainteresowanie technologów żywności naturalnymi przeciwutleniaczami. Jest to spowodowane brakiem zaufania konsumentów do syntetycznych dodatków do żywności. Ponadto naturalne antyoksydanty nie są limitowane przez prawo oraz nie wymagają zgody na stosowanie ich do żywności [11]. Na podstawie badań stwierdzono, że naturalne przeciwutleniacze zawarte w wielu owocach, warzywach oraz ziołach odgrywają istotną rolę w profilaktyce i leczeniu wielu chorób, w tym najcięższych chorób cywilizacyjnych, takich jak: cukrzyca, miażdżyca, choroby serca i nowotwory [4, 13].

W przetwórstwie owoców główną masę odpadów stanowią wytloki, powstające przy wytwarzaniu moszczu i są one źródłem wielu cennych składników [5]. Z badań Peschal [7] oraz Sánchez-Alonso [10] wynika, że odpady z przemysłu spożywczego, a w szczególności wytloki, wykazują znaczące właściwości przeciwutleniające.

Celem niniejszej pracy było określenie właściwości przeciwutleniających ekstraktów etanolowych z wysuszonych wytlóków z aronii, czarnej porzeczki, jagody kamczackiej, pigwowca japońskiego i truskawek oraz analiza wpływu zawartości polifenoli ogółem i antocyjanów na właściwości przeciwutleniające badanych materiałów.

Material i metody badań

Material badawczy stanowiły wytloki uzyskane w procesie tłoczenia owoców aronii (*Aronia melanocarpia* Elliott), czarnej porzeczki (*Ribes nigrum*), jagody kamczackiej (*Lonicera kamtschatica*), pigwowca japońskiego (*Chaenomeles japonica* L.) i truskawek (*Fragaria x ananassa*). Wytłoki z aronii, jagody kamczackiej i pigwowca japońskiego otrzymano w Zakładzie Technologii Przetwórstwa Owoców i Warzyw Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, natomiast wytloki z czarnej porzeczki i truskawek pochodziły z ZPOiW Gomar w Pińczowie. Świeże wytloki były zamrażane i w tej postaci przetrzymywane do czasu wykonywania analiz. Przed analizami były rozmrażane i suszone w suszarce owiewowej w temp. 50°C w ciągu 2 godz. Następnie wytloki mielono i poddawano ekstrakcji 80% alkoholem etylowym.

W ekstraktach oznaczano: siłę wiązania rodników 2,2- difenyl-1-pikrylhydrazylowych (DPPH) wg Yena i Chena [14], aktywność przeciwutleniającą metodą z ABTS podaną przez Re i wsp. [9], siłę redukującą ekstraktów (FRAP) wg Benzie

i Strain [1], zawartość polifenoli ogółem (metodą Folina-Ciocaltau'a) [11] i antocyjanów (metodą Fuleki i Francisa) [11].

Otrzymane wyniki zinterpretowano statystycznie przy użyciu programu Statistica 7.1., na podstawie analizy wariancji przy jednokierunkowej klasyfikacji. W celu ustalenia grup jednorodnych wykonano test Duncana.

Wyniki badań i analiza

Stosunkowo niewiele jest w literaturze danych dotyczących właściwości przeciwutleniających wytlóków powstających w procesie tłoczenia owoców. Najczęściej spotyka się dane dotyczące wytlóków z winogron [3, 10].

Wytłoki, które otrzymano podczas tłoczenia owoców w Zakładzie Technologii Owoców i Warzyw Uniwersytetu we Wrocławiu charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością polifenoli ogółem (od 10,46 do 137,48 $\text{mg}\times\text{g}^{-1}$) i antocyjanów (od 6,72 do 122,98 $\text{mg}\times\text{g}^{-1}$). To duże zróżnicowanie związków odpowiedzialnych za właściwości przeciwutleniające odnalazło swoje potwierdzenie w zróżnicowanych wynikach testów przeciwutleniających.

Tabela 1

Zawartość polifenoli ogółem i antocyjanów oraz właściwości przeciwutleniające wytlóków wyrażone jako DPPH, ABTS i FRAP.

Total phenolic and anthocyanins content and antioxidant characteristic of pomace (DPPH, ABTS, FRAP).

Wytłoki Pomace	Polifenole ogółem Total phenolics [$\text{mg}\times\text{g}^{-1}$ s.m.]	Antocyjany Anthocyanins [$\text{mg}\times\text{g}^{-1}$ s.m.]	DPPH [$\mu\text{M DPPH}\times\text{g}^{-1}$]	ABTS [$\mu\text{M Trolox}\times\text{g}^{-1}$]	FRAP [$\mu\text{M Fe}^{3+}\times\text{g}^{-1}$]
Aronia Chokeberry	137,48 \pm 5,58 ^a	122,98 \pm 2,17 ^a	199,4 \pm 5,71 ^a	53,2 \pm 3,9 ^a	12,53 \pm 0,01 ^a
Jagoda kamczacka Honeysuckle	113,64 \pm 0,5 ^b	98,97 \pm 2,28 ^b	65,27 \pm 7,54 ^c	62,24 \pm 2,28 ^a	11,13 \pm 0,06 ^b
Czarna porzeczka Black currant	64,52 \pm 4,03 ^c	50,19 \pm 10,17 ^c	138,81 \pm 7,97 ^b	56,88 \pm 9,63 ^a	5,24 \pm 0,17 ^d
Truskawka Strawberry	36,17 \pm 1,21 ^d	6,71 \pm 0,01 ^d	58,67 \pm 5,33 ^c	23,32 \pm 2,2 ^b	2,75 \pm 0,11 ^e
Pigwowiec Japoński Japanese quince	10,46 \pm 0,13 ^e	-	18,21 \pm 0,34 ^d	13,97 \pm 0,06 ^b	6,12 \pm 0,01 ^c

Objaśnienia: / Explanatory notes:

a, b, c, d, e – grupy jednorodne w obrębie kolumn; wyniki podane jako wartość średnia \pm odchylenie standardowe / homogenous groups in columns, results are expressed as the mean values \pm standard deviation.

W tab. 1 przedstawiono zawartość polifenoli ogółem i antocyjanów oraz wyniki testów przeciwutleniających badanych wytlóków. Wytłoki z aronii charakteryzowały się najwyższą zawartością polifenoli ogółem wśród badanych prób (137,48 mg×g⁻¹). Była ona zbliżona do wyników otrzymanych przez Oszmiańskiego i Wojdyłę [6], którzy oznaczyli w wytlókach z aronii 105,83 mg×g⁻¹ polifenoli. Niewiele mniej polifenoli ogółem oznaczono w wytlókach z jagody karczackiej (113,64 mg×g⁻¹), natomiast najniższą zawartość tych związków oznaczono w wytlókach z pigwowca japońskiego (10,46 mg×g⁻¹). Podobną zawartość polifenoli ogółem oznaczono w badaniach Dhiraja i Shetty' a [2] w wytlókach z żurawiny (11,8 mg×g⁻¹). Peschel i wsp. [7], w badaniach nad wytlókami z truskawek, określili zawartość polifenoli ogółem w ekstraktach etanolo-owych średnio na poziomie 38,74 mgGAE×g⁻¹ suchego ekstraktu. Najwięcej polifenoli ogółem, w cytowanych badaniach [7], oznaczono w wytlókach z czerwonych buraków (121,95 mgGAE×g⁻¹ suchego ekstraktu), a najmniej w wytlókach z zielonego groszku (12,09 mgGAE×g⁻¹ suchego ekstraktu).

Zawartość antocyjanów była ściśle skorelowana z zawartością polifenoli (tab. 2). Stężenie czerwonych barwników wahało się od 6,72 mg×g⁻¹ w wytlókach z truskawek do 122,98 mg×g⁻¹ w wytlókach z aronii. Stosunek zawartości antocyjanów w wytlókach z aronii do wytlóków z czarnej porzeczki był porównywalny do stosunku tych związków w owocach aronii i czarnej porzeczki badanych przez Sosnowską i wsp. [12] i wynosił ok. 2,4.

W porównaniu z danymi literaturowymi dotyczącymi zawartości związków czynnych w owocach jagodowych [12], zawartość polifenoli i antocyjanów w badanych wytlókach była znacząco wyższa, co może być tłumaczone dużą zawartością barwników i flawanoidów w skórkach owoców i pozostaniem ich w wytlókach.

Zawartość polifenoli i antocyjanów ma bezpośredni związek z właściwościami przeciwutleniającymi. Stąd też najwyższą aktywność wśród przebadanych wytlóków wykazały wytloki z aronii, zarówno w testach DPPH, jak i FRAP. W testach ABTS najwyższe wyniki uzyskano w przypadku wytlóków z jagody karczackiej. Należy jednak zauważyć, że pomiędzy wynikami uzyskanymi z analizy wytlóków z aronii, czarnej porzeczki i jagody karczackiej nie było różnic statystycznie istotnych. Pozostałe wytloki również tworzyły jedną grupę jednorodną. Aktywność przeciwutleniająca, oznaczona wobec rodników ABTS, wytlóków z jagody karczackiej była 5-krotnie większa niż aktywność wytlóków z pigwowca japońskiego. Jeszcze większą różnicę otrzymano przy oznaczeniu siły wiązania wolnych rodników DPPH. W tym teście najlepsze wyniki otrzymano z analizy wytlóków z aronii i były one 10-krotnie większe niż w przypadku wytlóków z pigwowca japońskiego.

Wytłoki z pigwowca wykazywały stosunkowo wysoką siłę redukującą FRAP i pomimo niewielkiej zawartości polifenoli były to wyniki 2-krotnie wyższe niż uzyskane z wytlóków z truskawek i nieco wyższe niż z wytlóków z czarnej porzeczki.

Stwierdzono wysoką korelację (tab. 2) pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą oznaczoną wobec DPPH i ABTS a zawartością polifenoli i antocyjanów ($R > 0,9$). Natomiast siła redukująca FRAP nie korelowała z zawartością polifenoli i antocyjanów.

Tabela 2

Współczynniki korelacji pomiędzy wybranymi składnikami i aktywnością przeciwutleniającą ekstraktów z wyłoków.

Correlations coefficients between some constituents and antioxidant activity of pomace extracts.

Wyróżnik Distinguishing mark	DPPH	ABTS	FRAP	Polifenole Phenolics	Antocyjany Anthocyanins
DPPH	1	-	-	-	-
ABTS	0,837	1	-	-	-
FRAP	0,500	0,659	1	-	-
Polifenole Phenolics	0,976	0,927	0,532	1	-
Antocyjany Anthocyanins	0,938	0,911	0,593	0,995	1

Wnioski

1. Wyłoki z wybranych owoców kolorowych mają zdolność wiązania wolnych rodników, zaś ilość związków o właściwościach przeciwutleniających w dużym stopniu zależy od rodzaju tych wyłoków.
2. Największą aktywność przeciwutleniającą wykazały wyłoki z aronii w dwóch spośród trzech rodzajów oznaczeń, natomiast najniższą wyłoki z pigwowca japońskiego. Miało to bezpośredni związek z zawartością antocyjanów i polifenoli, jako związków o potwierdzonych właściwościach przeciwutleniających.
3. Właściwości przeciwutleniające badanych wyłoków były znaczne mimo zastosowania procesu suszenia, jako metody utrwalającej, w trakcie którego część związków o właściwościach przeciwutleniających ulega znaczącej redukcji.

Literatura

- [1] Benzie I.F.F., Strain J.J.: The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 1996, **239**, 70-76.
- [2] Dhiraj A.V., Shetty K.: Ellagic acid production and phenolic antioxidant activity in cranberry pomace (*Vaccinium macrocarpon*) mediated by *Lentinus edodes* using a solid-state system. *Process Biochemistry*, 2003, **39**, 367-379.
- [3] Gómez-Plaza E., Miñano A., López-Roca J.M.: Comparison of chromatic properties, stability and antioxidant of anthocyanin-based aqueous extracts from grape pomace obtained from different vinification methods. *Food Chemistry*, 2006, **97**, 87-94.

- [4] Middleton E., Kandaswamy C., Theoharides T.C.: The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 2000, **52**, 673-751.
- [5] Nawirska A.: Odpady z przemysłu owocowego. *Agroprzemysł*, 2003, **2**, 44-46.
- [6] Oszmiański J., Wojdyło A.: Aronia melanocarpa phenolics and their antioxidant activity. *Eur Food Res Technol*, 2005, **221**, 801-813.
- [7] Peschal W., Sánchez-Rabaneda F., Diekmann W., Plescher A., Gartzía I., Jiménez D., Lamuela-Raventós R., Buxaderas S., Codina C.: An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit waste. *Food Chem.*, 2006, **97**, 137-150.
- [8] Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M.: *Antioxydants in food*. Woodhead Publishing Limited Cambridge 2001.
- [9] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical & Medicine*, 1999, **26**, Nos. 9/10, 1231-1237.
- [10] Sánchez-Alonso I., Jiménez-Escrig A., Saura-Calixto F., Borderías A.J.: Effect of grape antioxidant dietary fibre on the prevention of lipid of lipid oxidation in minced fish: Evaluation by different methodologies. *Food Chemistry*, 2007, **101**, 372-378.
- [11] Sokół-Lętowska A., Oszmiański J.: Właściwości przeciwutleniające naturalnych polifenoli. *Zeszyt. Nauk. AR we Wrocławiu, Technologia Żywności XII*, 1998, **328**, 73-84.
- [12] Sosnowska D., Podśędek A., Anders B.: Aktywność antyoksydacyjna preparatów flawonoidów z owoców jagodowych. *Mat. Konf. Flawonoidy i ich zastosowanie. Rzeszów 2004*, 277-286.
- [13] Temple N.J.: Antioxidants and disease: more questions than answers. *Nutrition Research*, 2000, **20**, 449-459.
- [14] Yen G.C., Chen H.Y.: Antioxidant and pro-oxidant effect of various tea extracts, *J. Agric. Food Chem.*, 1997, **45**, 30-34.

ANTIOXIDANT CHARACTERISTICS OF POMACE FROM DIFFERENT FRUITS

S u m m a r y

Samples of chokeberry, black currant, honeysuckle, Japanese quince and strawberry pomace were investigated for antioxidant characteristics. Free radical scavenging activity was determined using the DPPH method in alcoholic extracts. Antioxidant activity was established in the ABTS approach. The reducing power of the extracts was measured by the ferric reducing/antioxidant power (FRAP) technique. The Folin-Ciocalteu method and the Fuleki-Francis method was used to determine the total phenolics content and the amount of anthocyanins, respectively. All the samples examined display antioxidant properties that vary from one pomace type to another. The highest antioxidant activity (in terms of dry weight) is that of the chokeberry pomace (DPPH, $199.4 \text{ mg} \times \text{g}^{-1}$; ABTS, $53.2 \text{ mg} \times \text{g}^{-1}$; FRAP, $12.53 \text{ mg} \times \text{g}^{-1}$). Black currant pomace displays a similar antioxidant activity although the FRAP values measured are surprisingly low ($5.24 \text{ mg} \times \text{g}^{-1}$). The lowest antioxidant activity is that of the Japanese quince pomace (DPPH, $18.21 \text{ mg} \times \text{g}^{-1}$; ABTS, $13.97 \text{ mg} \times \text{g}^{-1}$; FRAP, $6.12 \text{ mg} \times \text{g}^{-1}$). High correlation was observed (from $r = 0,976$ to $r = 0,911$) between total phenolic content and anthocyanins and antioxidant characteristics marked as DPPH and ABTS respectively. In sum, the antioxidant properties of all the pomace samples tested are high despite the drying process applied, during which the content of the compounds characterized by antioxidant characteristics decreases notably.

Key words: pomace fruits, antioxidant characteristics, DPPH, ABTS, FRAP ☒