

Piotr Domaradzki, Agnieszka Malik¹⁾, Justyna Zdyb¹⁾

ZAWARTOŚĆ ZWIĄZKÓW POLIFENOLOWYCH I AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCA SOKÓW MARCHWIOWYCH

Katedra Towaroznawstwa i Przetwórstwa Surowców Zwierzęcych
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. *A. Litwińczuk*

¹⁾ Katedra Biotechnologii, Żywnienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. *Z. Targoński*

Badano soki przecierowe z marchwi dostępne w sieci detalicznej miasta Lublina (markety i sklepy z żywnością ekologiczną) oraz otrzymane ze świeżej marchwi. Analizie poddano produkty wiodących marek jak również te produkowane dla sieci dyskontów. Oznaczano zawartość sumy polifenoli (w przeliczeniu na kwas galusowy – GAE) oraz aktywność antyoksydacyjną (w przeliczeniu na Trolox – Tx) w układzie z rodnikiem ABTS i DPPH. Ponadto przeprowadzono analizę kwasów fenolowych metodą HPLC. Soki marchwiowe odznaczały się zróżnicowaną zawartością związków fenolowych. Spośród oznaczanych kwasów fenolowych dominujący w większości produktów był udział kwasu 3-hydroksybenzoesowego, zaś w soku „świeżym” otrzymanym z marchwi odmiany Karotan, udział kwasu chlorogenowego. Wykazano, że wzbogacanie soków z marchwi w witaminy znacznie podnosi ich ogólny potencjał przeciwutleniający.

Hasła kluczowe: soki marchwiowe, związki polifenolowe, aktywność przeciwutleniająca.

Key words: carrot juices, polyphenolic compounds, antioxidant activity.

Aktywne formy tlenu (RFT) i inne wolne rodniki, powstają w procesach oddychania komórkowego, jak również mogą być pobierane z otoczenia (1, 2). W zdecydowanej większości wolne rodniki kojarzone są negatywnie, a ich oddziaływanie jest uznawane za szkodliwe. Niemniej jednak niewielkie ilości RFT są potrzebne do prawidłowego funkcjonowania organizmu m. in. do regulowania metabolizmu i niektórych procesów fizjologicznych. Utrzymanie równowagi pomiędzy ilością RFT, a układem antyoksydacyjnym, który ogranicza ich szkodliwe działanie ma kluczowe znaczenie dla zdrowia (1). Naruszenie tej równowagi na korzyść RFT określono mianem, tzw. stresu oksydacyjnego i uznano za przyczynę licznych zmian chorobowych i degeneracyjnych m.in. stanów zapalnych, AIDS, nadciśnienia, chorób niedokrwiennych i Alzheimerera, wrzodów żołądka oraz odrzutów przeszczepów (1). RFT mogą indukować również poważne uszkodzenia materiału genetycznego, zwiększając ryzyko rozwoju chorób nowotworowych (2). Powszechnie uznaje się,

że szczególne znaczenie w utrzymaniu równowagi potencjału utleniająco-redukcyjnego w organizmie człowieka ma żywność, a wśród niej przede wszystkim owoce i warzywa. Zawarte w nich związki o właściwościach antyoksydacyjnych wymiatają wolne rodniki, przyczyniając się do zachowania zdrowia człowieka (1, 2).

Przeciwutleniacze wspomagają siły obronne organizmu, powstrzymują procesy starzenia, spowalniają rozwój raka, przeciwdziałają chorobom serca – pozwalają dłużej zachować dobrą kondycję i urodę.

Do najważniejszych antyoksydantów znajdujących się w warzywach i owocach należą: witamina C, karotenoidy oraz związki fenolowe (1, 3). Spośród wymienionych przeciwutleniaczy to właśnie polifenole dominują w diecie człowieka, a ich dzienne spożycie dochodzi do 1 g (3). Warzywa są przede wszystkim źródłem kwasów fenolowych, bowiem udział flawonoidów w całkowitej puli polifenoli jest zawyżony (1).

Marchew jest w Polsce warzywem bardzo popularnym. Jej areal upraw obejmuje ok. 30 tys. ha i zajmuje trzecie miejsce, po kapuście i cebuli (4). Dietetycy polecają spożywanie marchwi zarówno w postaci surowej, jak i przetworów, z uwagi na zawartość w niej szeregu substancji o charakterze związków biologicznie czynnych. Do tej grupy związków należy zaliczyć m. in. kwasy fenolowe i karotenoidy.

Coraz częściej organizowane są kampanie społeczne promujące częste spożywanie nie tylko świeżych warzyw i owoców, ale także przetworzonych m.in. w postaci soków.

Na przestrzeni kilku lat, produkcja napojów bezalkoholowych w Polsce wykazuje systematyczną tendencję wzrostową. Powyższe zjawisko tłumaczone jest wzrostem dochodów, a także upowszechnieniem spożywania produktów o dużych wartościach zdrowotnych (5). Spożycie soków i nektarów w naszym kraju stanowi ponad 10% wszystkich rodzajów napojów zalecanych w diecie (4). Jednakże w ostatnich latach obserwowany jest spadek konsumpcji soków w tym głównie soków jabłkowych i cytrusowych. Tendencji spadkowej nie wykazuje natomiast produkcja soków warzywnych (głównie soku marchwiowego i pomidorowego). Wzrasta również spożycie soków warzywnych jednogatunkowych. Wśród tej grupy dużym zainteresowaniem konsumentów cieszą się soki marchwiowe. Niektórzy badacze podkreślają, że pomimo dostępności wielu funkcjonalnych i orzeźwiających napojów na rynku, ich spożycie jest stosunkowo duże (4, 5).

Celem pracy było oznaczenie zawartości sumy polifenoli, wybranych kwasów fenolowych oraz aktywności antyoksydacyjnej w sokach z marchwi dostępnych w handlu detalicznym, jak i w soku sporządzonym w warunkach domowych.

MATERIAŁY I METODY

Badaniami objęto soki przecierowe z marchwi zarówno dostępne na lokalnym rynku (markety, sklepy z żywnością ekologiczną na terenie miasta Lublina), jak i otrzymane ze świeżej marchwi. Analizie poddano produkty wiodących marek, jak również te, produkowane dla sieci dyskontów. Z każdego asortymentu zakupiono po 3 produkty. Dodatkowo za pomocą sokowirówki otrzymano 3 próbki soku ze świeżej marchwi. Łącznie przebadano 21 próbek. Były to następujące produkty:

- soki przecierowe, w tym pasteryzowane (4 produkty), niepasteryzowane tzw. soki jednodniowe (2 produkty);
- sok świeży otrzymany z marchwi odmiany *Karotan*.

Tab e l a I. Charakterystyka materiału badawczego, na podstawie informacji zamieszczonej na etykiecie przez producenta

Tab l e I. Characteristics of the study material based on the information provided by the producer in the label

Lp.	Produkt – nazwa/firma	Przecier z marchwi w produkcji (%)	Obróbka termiczna – pasteryzacja	Dodatek witamin (mg/100 cm ³)		Substancja słodząca	
				C	E	Cukier	Syrop Glu-Fru
1	Kubuś	35	+	< 30	–	–	+
2	Witaminka	ok. 45	+	20	1,5	+	–
3	Karotka	ok. 55	+	24	4	+	–
4	Siti	55 puree	+	–	–	+	–
5	Marwit	przetarta marchew	–	–	–	–	–
6	VictoriaCymes		–	–	–	–	–
7	Sok świeży	przetarta marchew odmiany <i>Karotan</i>	–	–	–	–	–

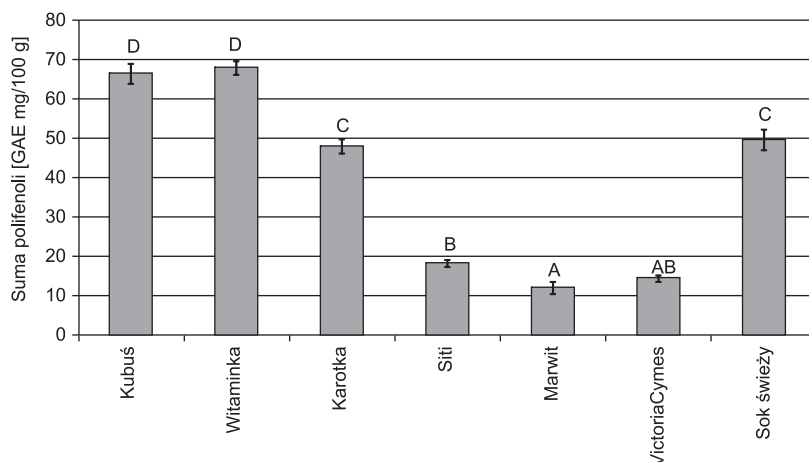
Oznaczenie zawartość sumy polifenoli (w przeliczeniu na kwas galusowy – GAE) wykonano z odczynnikiem fenolowym *Folina i Ciocalteu* (F–C) wg *Singleton* i współpr. (6), pomiar aktywności antyoksydacyjnej (w przeliczeniu na Trolox – Tx) wobec odczynnika ABTS wykonano wg *Miller* i współpr. (7) i wobec odczynnika DPPH wg metody *Brand-Williams* i współpr. (8).

Analiza kwasów fenolowych metodą HPLC w próbkach po liofilizacji poprzedzona była hydrolizą próbek, zgodnie z procedurą opisaną przez *Häkkinena* (9). Do rozdzielania kwasów fenolowych wykorzystano zestaw HPLC firmy Gilson, złożony z: dwóch pomp tłokowych Gilson 306, detektora DAD typ 170, modułu manometrycznego 805, dynamicznego miksera 811C, pętli objętościowej Gilson 20 mm³ oraz programu komputerowego UniPoint wersja 3.01. Rozdziały prowadzono przy użyciu kolumny z odwróconą fazą Symmetry C18, 5 µm, 4,6×250 mm Cartridge (Waters Ireland) oraz prekolumny Symmetry C18 5 µm, 8×20 mm Cartridge (Waters Ireland). Detekcje sygnału monitorowano przy dł. fali 320 nm, a ponieważ fenolokwasy różnią się od siebie maksimami absorpcji również przy długościach fal: 365 nm, 280 nm i 260 nm, w układzie gradientowym wg *Malik* (10), stosując jako elenty: A – 0,1% roztwór kwasu octowego; B – 50% roztwór acetonitrylu. Identyfikację i ilościowe oznaczenie zawartości fenolokwasów dokonano w oparciu o następujące wzorce kwasów: chlorogenowego, kawowego, ferulowego, 3-hydroksybenzoesowego i 4-hydroksybenzoesowego. Wszystkie w/w oznaczenia wykonywano w 2 powtórzeniach.

Analizę statystyczną wykonano za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji wykorzystując program StatSoft STATISTICA ver. 6.0. Istotność różnic pomiędzy średnimi w poszczególnych grupach zweryfikowano testem Tukey'a.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Spośród badanych produktów najbogatszym źródłem związków fenolowych okazały się soki przecierowe z marchwi, pasteryzowane, witaminizowane – „Witaminka” oraz „Kubuś”. Suma polifenoli w tych sokach wynosiła odpowiednio 68,92 mg GAE/100 g i 68,38 mg GAE/100 g. Nieco mniej badanych związków stwierdzono w soku otrzymanym ze świeżej marchwi (52,6 mg GAE/100 g). Istotnie ($p \leq 0,01$) najmniej związków fenolowych zawierały soki jednodniowe „VictoriaCymes” i „Marwit”. W porównaniu z „Witaminką” była to niemal 5-krotnie niższa zawartość (ryc. 1).



Wartości średnie oznaczone różnymi literami nad kolumnami różnią się statystycznie istotnie: A, B, C, D $p \leq 0,01$

Ryc. 1. Zawartość sumy polifenoli w przeliczeniu na GAE w sokach z marchwi.

Fig. 1. Content of total polyphenols in terms of GAE in carrot juices.

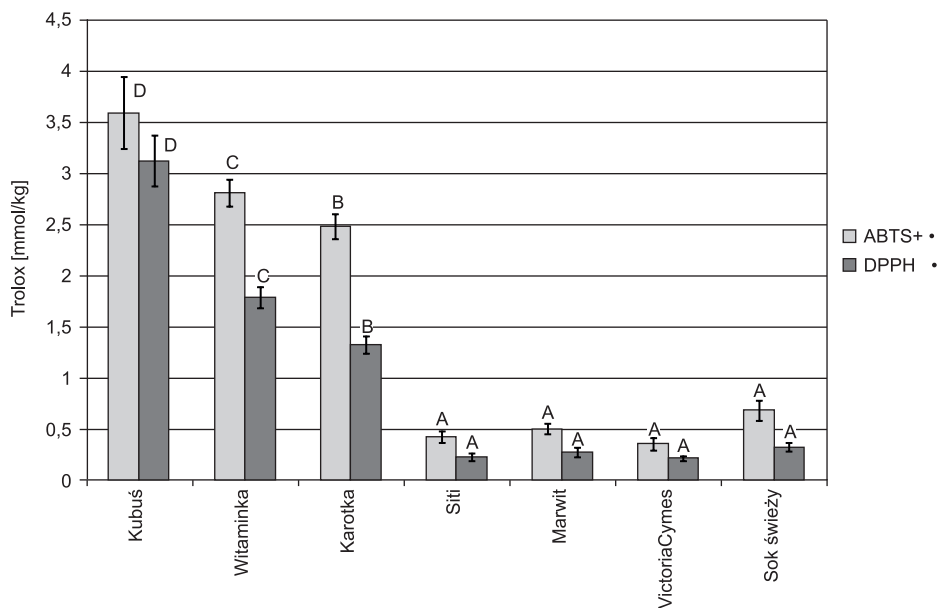
Metoda *Folina-Ciocalteu* (F-C) jest rutynową metodą badań polifenolowych przeciwutleniaczy. Zdaniem *Prior* i współpracowników (11) oznaczenie to cechuje duża prostota i użyteczność do standardowych materiałów biologicznych. Wadą tej metody jest mała specyficzność, odczynnik F-C reaguje z wieloma związkami m.in. z cukrami, kwasem askorbinowym, aminokwasami i białkami, zwiększając tym samym wynik analizy związków fenolowych. Wysoka zawartość związków fenolowych w sokach witaminizowanych, w porównaniu z pozostałymi sokami przecierowymi, zapewne spowodowana jest dużym dodatkiem witamin C i E (tab. I) oraz ich reakcją z odczynnikiem F-C. W związku z powyższym uzyskane wyniki obrazują ogólny poziom pojemności antyoksydacyjnej analizowanych produktów (ryc. 1). *Quitao-Teixeira* i współpracownicy (12) stwierdzili zawartość związków fenolowych w sokach marchwiowych na poziomie od 30,6 do 34,1 mg/100 cm³ w zależności od stosowanej obróbki technologicznej, przy czym zawartość sumy polifenoli w soku świeżym wynosiła 33,4 mg/100 cm³.

Pojemność przeciwutleniająca obejmuje sumę aktywności przeciwutleniającej, wszystkich związków występujących w badanym produkcie, a wykazujących działanie antyoksydacyjne. Do związków tych w produktach z marchwi zaliczamy polifenole, witaminy C i E oraz karotenoidy.

Analizując aktywność antyoksydacyjną soków marchwiowych należy stwierdzić, że we wszystkich analizowanych produktach stwierdzono wyższą aktywność przeciwutleniającą, w układzie z rodnikiem ABTS niż z rodnikiem DPPH (ryc. 2). Istotnie ($p \leq 0,01$) najwyższą aktywność przeciwutleniającą wykazano w soku „Kubuś”, 3,59 mmol Trolox/kg z rodnikiem ABTS oraz 3,12 mmol Trolox/kg z rodnikiem DPPH. Pozostałe soki witaminizowane „Witaminka” i „Karotka” odznaczały się nieco niższą aktywnością przeciwutleniającą.

W sokach świeżych jednodniowych „Marwit” i „VictoriaCymes” oraz pasteryzowanym „Siti” stwierdzono istotnie ($p \leq 0,01$) niższą aktywność przeciwutleniającą w porównaniu z sokami witaminizowanymi. Ich pojemność antyoksydacyjna mieściła się w przedziale od 0,28 do 0,67 mmol Trolox/kg w układzie z rodnikiem ABTS i od 0,18 do 0,27 mmol Trolox/kg w układzie z rodnikiem DPPH (ryc. 2).

Wysokie wartości aktywności przeciwutleniającej stwierdzone w sokach witaminizowanych należy tłumaczyć dodatkiem witamin do tych produktów (tab. I i ryc. 2).



Wartości średnie oznaczone różnymi literami nad kolumnami różnią się statystycznie istotnie: A, B, C, D $p \leq 0,01$

Ryc. 2. Aktywność antyoksydacyjna soków marchwiowych.

Fig. 2. Antioxidant activity of carrot juices.

Stratil i współpr. (13) podają, że aktywność przeciwutleniająca marchwi wynosi ok. 6 mmol Trolox/kg ś.m. w układzie z rodnikiem ABTS i od 1,0 do 2,5 mmol

Trolox/kg ś.m w układzie z rodnikiem DPPH. Zdolność warzyw i owoców do zmiatania wolnych rodników „*in vitro*” zależy od zastosowanego układu badawczego, rodzaju użytego w reakcji rodnika, jak również zdolności związków o charakterze antyoksydacyjnym do inhibicji zastosowanego rodnika. Według *Pool-Zobel* i współpr. (14) sok z marchwi jest bardzo skuteczny w zapobieganiu uszkodzeń DNA i jego zmian oksydacyjnych. Efekt jest nawet silniejszy niż w przypadku stosowania soku pomidorowego czy szpinaku. Obserwacje te potwierdzają hipotezę, że produkty roślinne takie, jak sok z marchwi zmniejszają ryzyko rozwoju chorób nowotworowych.

Analizując zawartość wybranych kwasów fenolowych w sokach należy stwierdzić, że wszystkie soki, z wyjątkiem soku świeżego, odznaczały się najwyższą zawartością kwasu 3-hydroksybenzoesowego (tab. II). Istotnie ($p \leq 0,01$) najwięcej tego kwasu fenolowego (139,39 mg/kg s.m.) oznaczono w soku przecierowym, jednodniowym „Marwit”. W sokach z marchwi stwierdzono również wysoką zawartość kwasu ferulowego od 7,14 do 65,05 mg/kg s.m. Wysokie stężenia kwasów fenolowych oznaczono w soku „Witaminka”. Zawierał on istotnie ($p \leq 0,01$) najwięcej kwasu ferulowego (65,05 mg/kg s.m.) oraz chlorogenowego (46,42 mg/kg s.m.). Kwas chlorogenowy był również dominującym kwasem w soku otrzymanym ze świeżej marchwi (30,45 mg/kg s.m.) (tab. II).

Tab e l a II. Zawartość kwasów fenolowych w sokach z marchwi

Tab l e II. Content of phenolic acids in carrot juices

Produkt (nazwa/firma)	Kwasy fenolowe (mg/kg s.m.)				
	3-OH- -benzoesowy	ferulowy	chlorogenowy	kawowy	4-OH- -benzoesowy
Kubuś	24,25 ^B ± 0,71	10,44 ^A ± 1,23	8,32 ^C ± 0,74	4,75 ^B ± 0,35	1,90 ^A ± 0,23
Witaminka	71,23 ^D ± 2,89	65,05 ^E ± 2,63	46,42 ^E ± 2,14	14,75 ^E ± 1,03	6,74 ^D ± 0,76
Karotka	43,75 ^C ± 3,44	18,75 ^C ± 0,98	5,25 ^B ± 0,11	6,73 ^C ± 0,44	0,91 ^A ± 0,25
Siti	29,02 ^B ± 1,56	27,52 ^D ± 1,54	7,93 ^C ± 0,17	4,65 ^B ± 0,32	1,51 ^A ± 0,33
Marwit	139,39 ^F ± 3,67	14,30 ^B ± 1,04	3,84 ^{AB} ± 0,67	1,75 ^A ± 0,23	4,23 ^{BC} ± 0,67
VictoriaCymes	104,54 ^E ± 3,50	17,55 ^{BC} ± 1,90	1,43 ^A ± 0,04	0,51 ^A ± 0,05	4,73 ^C ± 0,30
Sok świeży	0,02 ^A ± 0,05	7,14 ^A ± 0,87	30,45 ^D ± 1,89	11,80 ^D ± 1,12	3,42 ^B ± 0,23

Wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się statystycznie istotnie: A, B, C, D, E, F $p \leq 0,01$

Według *Talcott* i *Howard* (15) zawartość poszczególnych kwasów fenolowych w puree z marchwi różnych odmian wynosiła: kwasu 4-hydroksybenzoesowego od 11,27 do 100,32 mg/kg s.m., kwasu kawowego od 2,95 do 11,14 mg/kg s.m., kwasu chlorogenowego od 2,04 do 55,25 mg/kg s.m. Ponadto, cytowani autorzy stwierdzili obecność kwasu syringowego i wanilinowego, jednak nie były one obecne we wszystkich odmianach.

Analizując zawartość kwasów fenolowych w poszczególnych produktach z marchwi, prezentowanych w niniejszej pracy, należy stwierdzić, iż są to wyniki zróżnicowane. Uzasadnieniem tych różnic jest fakt odmiennego składu analizowanych

produktów (różny procentowy udział przecieru z marchwi w produkcji, tab. I). Nie bez znaczenia pozostaje tu także różnorodność odmianowa marchwi wykorzystywanej w przetwórstwie, jak i rodzaj stosowanej obróbki technologicznej m.in. obieranie, obróbka hydrotermiczna i enzymatyczna.

WNIOSKI

1. Soki marchwiowe dostępne w sprzedaży detalicznej odznaczały się zróżnicowaną zawartością związków fenolowych.

2. Spośród oznaczanych kwasów fenolowych, dominujący w większości produktów był udział kwasu 3-hydroksybenzoesowego, zaś w soku świeżym kwasu chlorogenowego.

3. W soku świeżym (otrzymany z marchwi odmiany *Karotan*), w porównaniu z sokami niepasteryzowanymi (jednodniowymi), wykazano wyższą zawartość sumy polifenoli, jak również lepszą zdolność zmiatania wolnych rodników.

4. Wzbogacanie soków z marchwi w witaminy znacznie podnosi ich ogólny potencjał przeciwutleniający, co z punktu widzenia żywieniowego, wydaje się mieć szczególne znaczenie dla ochrony organizmu przed szkodliwym działaniem stresu oksydacyjnego.

P. Domaradzki, A. Malik, J. Zdzyb

THE CONTENT OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF CARROT JUICES

Summary

Carrot pulp juices and juice obtained from fresh carrots available in retail markets in Lublin were studied. Both the products of leading brands and those manufactured for discount chains were analysed. The content of total polyphenols (in terms of gallic acid- GAE) and antioxidant activity (expressed as Trolox- Tx) in the system with ABTS and DPPH radicals were determined in the samples. Phenolic acids were also analysed by HPLC. Carrot juices were characterized by differences in the content of phenolic compounds. In most products the dominant, among the assayed phenolic acids, was the 3-hydroxybenzoic acid. In the fresh juice, however, obtained from *Karotan* carrots chlorogenic acid was the prevailing one. It has been found that enrichment of carrot juices with vitamins significantly improves their overall antioxidant potential.

PIŚMIENNICTWO

1. *Grajek W. (red.):* Przewodnik przeciwutleniający w żywności, aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne. WNT, Warszawa 2007. – 2. *Markowski J., Mieszczakowska M., Fastyn M., Plocharski W.:* Aktywność antyoksydacyjna owoców i przetworów z jabłek. *Przem. Ferm. i Owoc. Warz.*, 2008; 4: 25-26. – 3. *Budryn G., Nebesny E.:* Fenolokwasy – ich właściwości, występowanie w surowcach roślinnych, wchłanianie i przemiany metaboliczne. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2006; 39(2): 103-110. – 4. *Dobrowolska A., Tuszyński T.:* Preferencje wybranej grupy młodzieży dotyczące spożycia soków marchwiowych. *Przem. Ferm. i Owoc. Warz.*, 2008; 9: 32-33. – 5. *Nosecka B.:* Napoje bezalkoholowe. Produkcja, ceny, spożycie. *Przem. Spoż.*, 2009; 6: 10-13. – 6. *Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos M.:* Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymol.*, 1999; 299: 152-178. – 7. *Miller N.J., Rice-Evans C., Davies M.J., Gopinathan V.*

Milner A.: A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Sci.*, 1993; 84: 407-412. – 8. *Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berster C.*: Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* 1995; 28: 5-30. – 9. *Häkkinen S.H., Kärenlampi S.O., Heinonen J.M., Mykkänen H.M., Törrönen A.R.*: HPLC method for screening of flavonoids and phenolic acids in berries. *J. Sci. Food Agri.*, 1998; 77: 543-551. – 10. *Malik A.*: Aktywność antyoksydacyjna soków z owoców jagodowych na tle przemian wybranych związków fenolowych podczas przechowywania. Rozprawa doktorska AR, Lublin 2003.

11. *Prior R.L., Wu X., Schaich K.*: Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agri. Food Chem.*, 2005; 53: 4290-4302. – 12. *Quitao-Teixeira L.J., Odriozola-Serrano I., Soliva-Fortuny R., Mota-Ramos A., Martin-Belloso O.*: Comparative study on antioxidant properties of carrot juice stabilised by high-intensity pulsed electric fields or heat treatments. *J. Sci. Food Agric.*, 2009; 89: 2636-2642. – 13. *Stratil P., Klejduš B., Kuban V.*: Determination of Total Content of Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Vegetables-Evaluation of Spectrophotometric Methods. *J. Agri. Food Chem.*, 2006; 54: 607-616. – 14. *Pool-Zobel B.L., Bub A., Müller H., Wollowski I., Rechkemmer G.*: Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: first results of a human intervention trial with carotenoid-rich food. *Carcinogenesis*, 1997; 18 (9): 1847-1850. – 15. *Talcott S.T., Howard L.R.*: Chemical and Sensory Quality of Processed Carrot Puree As Influenced by Stress-Induced Phenolic Compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 1999; 47: 1362-1366.

Adres: 20-950 Lublin, ul. Akademicka 13.