

*Mariola Bożena Rogińska, Rafał Wołosiak*

## WPŁYW TEMPERATURY PRZECHOWYWANIA NAPOJÓW OWOCOWYCH NA ZAWARTOŚĆ I AKTYWNOŚĆ WYBRANYCH PRZECIWUTLENIACZY

Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności  
Zakład Oceny Jakości Żywności Wydziału Nauk o Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie

Kierownik: prof. dr hab. *M. Obiedziński*

*W pracy badano zmiany zawartości wybranych przeciwutleniaczy (kwasu askorbinowego, polifenoli ogółem, karotenoidów ogółem i antocyjanów) oraz aktywności przeciwutleniającej napojów owocowych podczas ich przechowywania w temperaturze chłodniczej (5°C) i pokojowej (25°C). Zawartość kwasu askorbinowego i polifenoli ogółem była wyższa w napoju pomarańczowym w porównaniu do wieloowocowego, podobnie jak aktywność przeciwutleniająca wobec rodników ABTS<sup>•+</sup>. Składniki tego drugiego napoju natomiast skuteczniej hamowały proces autooksydacji kwasu linolowego.*

Hasła kluczowe: napoje owocowe, kwas askorbinowy, polifenole, karotenoidy, antocyjany, aktywność przeciwutleniająca.

Key words: fruit drinks, ascorbic acid, polyphenols, carotenoids, anthocyanins, antioxidant activity.

### MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły dwa rodzaje napojów owocowych dostępnych na polskim rynku. Napój wieloowocowy o smaku truskawkowym zawierał umiarkowaną ilość składników owocowych (min. 35%). Największy udział stanowił w nim przecier truskawkowy z zagęszczonego przecieru (19%). Napój ten zawierał ponadto cztery rodzaje soków owocowych (z soków zagęszczonych): winogronowy (9%), truskawkowy (5%), aroniowy (1%) i z czarnej porzeczki (1%) oraz barwiące wyciągi roślin jadalnych (koncentraty barwników z hibiskusa i marchwi). Natomiast napój pomarańczowy charakteryzował znaczny udział składnika owocowego (min. 90%). Warto zaznaczyć, że poza sokiem pomarańczowym (z zagęszczonego soku) występującym w nim w ilości 90%, zawierał również ekstrakt z pomarańczy (6%) oraz miąższ z tego owocu (4%). Pod względem składu napój ten był więc produktem zbliżonym do soku

pomarańczowego. Badane próbki po uprzedniej analizie stanu wyjściowego poddano przechowywaniu bez dostępu światła w dwóch temperaturach, tj. w temperaturze chłodniczej (5°C) oraz pokojowej. Za temperaturę pokojową przechowywania przyjęto 25°C (możliwą do utrzymania przy pomocy ciepłarki), aby uniknąć wahań temperatury pomieszczenia.

Zakres badań obejmował oznaczenie zawartości kwasu L-askorbinowego metodą miareczkową (1), zawartości polifenoli ogółem metodą *Folina-Ciocalteau* (2), aktywności przeciwutleniającej wobec kationorodników ABTS (3), aktywności przeciwutleniającej w reakcji autooksydacji kwasu linolowego w układzie emulsyjnym (4) w obu napojach. Oznaczenie zawartości antocyjanów ogółem (5) wykonano w napoju wieloowocowym. W celu zbadania istotności wpływu temperatury i czasu przechowywania na badane parametry przeprowadzono analizę jednoczynnikową w układzie całkowicie losowym przy poziomie istotności 0,05, stosując metodę analizy wariancji wg modelu liniowego. Istotność statystyczną różnic między wartościami średnimi (uzyskanymi dla przynajmniej 3 powtórzeń) sprawdzano za pomocą procedury HSD *Tukeya*.

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Zawartość kwasu askorbinowego oznaczona metodą miareczkową w stanie wyjściowym w napoju wieloowocowym wynosiła ok. 3 mg/100 cm<sup>3</sup>, natomiast w napoju pomarańczowym była dużo wyższa i wynosiła ok. 52 mg/100 cm<sup>3</sup> (tab. I i II). W napojach owocowych (w składzie których były kiwi i jabłko oraz ananas i mango) przebadanych przez *Borowską* i wespół (6) odnotowano od 7 do 10 mg/100 g tej witaminy. Można zatem stwierdzić, że napój wieloowocowy o smaku truskawkowym zawierał niewielkie ilości oznaczanej witaminy w porównaniu do innych tego typu produktów. Natomiast napój pomarańczowy charakteryzował się zawartością tej witaminy na poziomie charakterystycznym dla soków pomarańczowych (7-9). Wynika to przede wszystkim z większego udziału składnika owocowego w napoju pomarańczowym (min. 90%) w porównaniu do wartości deklarowanej na opakowaniu drugiego napoju (min. 35%). We wszystkich próbkach po przechowywaniu odnotowano spadek zawartości oznaczanej witaminy, ale różnica między wariantami temperaturowymi okazała się istotna tylko w napoju pomarańczowym. Wyraźnie lepsze zachowanie tej witaminy wystąpiło w warunkach chłodniczych (5°C). Zaobserwowane obniżenie poziomu oznaczanego kwasu podczas przechowywania spowodowane było najprawdopodobniej jego degradacją na drodze utleniania (8). Poczynione obserwacje potwierdzają badania innych autorów (10-12).

Za pomocą analizy polifenoli ogółem w stanie wyjściowym przed przechowywaniem próbek wykazano, że większą ich zawartością charakteryzował się napój pomarańczowy (139,8 mg/100 cm<sup>3</sup>) (tab. I i II). Zawierał on o ok. 30 mg/100 cm<sup>3</sup> więcej tych związków w porównaniu do drugiego napoju, co jest zgodne z charakterystyką badanych próbek, ponieważ napój pomarańczowy

zawierał więcej składnika owocowego w porównaniu do napoju wieloowocowego (deklaracja producenta), a to przekłada się na zawartość związków biologicznie aktywnych. Na tle danych literaturowych analizowane napoje cechują się stosunkowo dużą zawartością związków polifenolowych (13). W napoju wieloowocowym po trzech miesiącach uzyskano  $114,6 \text{ mg}/100 \text{ cm}^3$  w próbce przechowywanej w temperaturze  $25^\circ\text{C}$ , a wartość ta okazała się istotnie wyższa od tej ze stanu wyjściowego. Natomiast próbka z temperatury chłodniczej wykazała zawartość polifenoli na poziomie stanu początkowego. W przypadku napoju pomarańczowego obie próbki ostatecznie wykazały tę samą zawartość związków polifenolowych, tj. ok.  $144 \text{ mg}/100 \text{ cm}^3$ , i była to wartość statystycznie nieróżniąca się od stanu wyjściowego. Należy jednak zaznaczyć, że wyniki uzyskane zastosowaną metodą mogą być obarczone pewnym błędem, ponieważ istnieje możliwość reagowania odczynnika *Folina-Ciocalteu* nie tylko z oznaczanymi fenolami, ale m.in. z witaminą C, niektórymi alkaloidami, cukrami czy aminokwasami zawartymi w próbce (14).

W pracy oznaczono zawartość antocyjanów w napoju wieloowocowym o smaku truskawkowym. Na początku doświadczenia zawierał on ok.  $4 \text{ mg}/100 \text{ cm}^3$  tych związków (tab. I). Otrzymana wartość nie jest wysoka i porównywalna z innymi produktami tego rodzaju (13). Po wykonaniu analizy po trzech miesiącach przechowywania stwierdzono, że końcowa zawartość antocyjanów wyniosła w próbce z temperatury chłodniczej  $3,1 \text{ mg}/100 \text{ cm}^3$  i była o  $0,8 \text{ mg}/100 \text{ cm}^3$  niższa od wartości wyjściowej przed przechowywaniem. Natomiast w próbce przechowywanej w temperaturze  $25^\circ\text{C}$  stwierdzono  $1,6 \text{ mg}/100 \text{ cm}^3$  oznaczanych barwników. Była to wartość niższa od stanu wyjściowego o  $2,3 \text{ mg}/100 \text{ cm}^3$ . Zjawisko to znajduje potwierdzenie w badaniach, w których dowiedziono, że najważniejszym czynnikiem powodującym przyspieszenie degradacji antocyjanów podczas przechowywania jest podwyższona temperatura (15). Zróznicowała ona badane próbki pod względem statystycznym.

Na podstawie badania aktywności przeciwutleniającej wobec kationorodników ABTS przed rozpoczęciem próby przechowywania wykazano, że napój wieloowocowy charakteryzował się ponad dwukrotnie niższą aktywnością niż pomarańczowy (tab. I i II). Tłumaczyć można to większą zawartością związków przeciwutleniających w napoju pomarańczowym bogatszym w składniki owocu (13). Analizując końcowy wynik uzyskany dla napoju o smaku truskawkowym można stwierdzić, że wyraźnie zarysowała się różnica między temperaturą przechowywania, ponieważ nastąpił ok. 2-krotny spadek w próbce poddanej przechowywaniu w  $25^\circ\text{C}$  oraz zaledwie ok. 1,3-krotny w drugiej próbce przechowywanej w temperaturze chłodniczej w stosunku do stanu wyjściowego. W napoju pomarańczowym, porównując końcowe wyniki z tymi uzyskanymi podczas analizy stanu wyjściowego, zauważyć można, że w obu warunkach temperaturowych nastąpił ok. 2,5-krotny spadek aktywności przeciwrodnikowej na przestrzeni trzymiesięcznego przechowywania. Temperatura przechowywania statystycznie zróznicowała wszystkie próbki.

Tabela I. Zestawienie wyników uzyskanych dla próbki napoju wieloowocowego

Tabele I. Results obtained after analysis of multifruit drink sample

Rodzaj badanego parametru	Stan wyjściowy	Stan końcowy (po 3 m-cach przechowywania)	
		Próbka przechowywana w 5°C	Próbka przechowywana w 25°C
Kwas askorbinowy [mg/100 cm <sup>3</sup> ]	2,8 <sup>(b)</sup> [±0,3]*	1,8 <sup>(a, A)</sup> [±0,1]	1,5 <sup>(a, A)</sup> [±0,3]
Polifenole ogółem [mg kw.galusowego/100 cm <sup>3</sup> ]	108,5 <sup>(b)</sup> [±0,9]	106,2 <sup>(b, A)</sup> [±1,0]	114,6 <sup>(a, B)</sup> [±1,9]
Antocyjany [mg/100 cm <sup>3</sup> ]	3,9 <sup>(b)</sup> [±0,1]	3,1 <sup>(a, A)</sup> [±0,1]	1,6 <sup>(a, B)</sup> [±0,1]
Aktywność przeciwutleniająca [mg Troloxu/100 cm <sup>3</sup> ]	147,7 <sup>(b)</sup> [±7,1]	116,0 <sup>(a, A)</sup> [±1,3]	75,7 <sup>(a, B)</sup> [±2,5]
Stopień zahamowania reakcji autooksydacji [%]	100 <sup>(a)</sup> [±1,4]	100 <sup>(a, A)</sup> [±1,6]	100 <sup>(a, A)</sup> [±1,9]

a-b (dot. porównania wartości wyjściowej i końcowej); A-B (dot. porównania wartości dla temperatur 5°C i 25°C) – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny przy poziomie istotności 0,05; \* odchylenie standardowe

Tabela II. Zestawienie wyników uzyskanych dla próbek napoju pomarańczowego

Tabele II. Results obtained after analysis of orange drink sample

Rodzaj badanego parametru	Stan wyjściowy	Stan końcowy (po 3 m-cach przechowywania)	
		Próbka przechowywana w 5°C	Próbka przechowywana w 25°C
Kwas askorbinowy [mg/100 cm <sup>3</sup> ]	51,9 <sup>(b)</sup> [±1,2]*	47,3 <sup>(a, A)</sup> [±1,2]	31,2 <sup>(a, B)</sup> [±1,2]
Polifenole ogółem [mg kw.galusowego/100 cm <sup>3</sup> ]	139,8 <sup>(b)</sup> [±2,2]	144,4 <sup>(b, A)</sup> [±2,1]	144,2 <sup>(b, A)</sup> [±0,7]
Aktywność przeciwutleniająca [mg Troloxu/100 cm <sup>3</sup> ]	393,8 <sup>(b)</sup> [±15,3]	158,7 <sup>(a, A)</sup> [±1,5]	164,5 <sup>(a, B)</sup> [±2,4]
Stopień zahamowania reakcji autooksydacji [%]	97,3 <sup>(b)</sup> [±1,6]	89,7 <sup>(a, A)</sup> [±1,5]	81,8 <sup>(a, B)</sup> [±1,8]

a-b (dot. porównania wartości wyjściowej i końcowej); A-B (dot. porównania wartości dla temperatur 5°C i 25°C) – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się w sposób statystycznie istotny przy poziomie istotności 0,05; \* odchylenie standardowe

W pracy przeprowadzono również badanie aktywności przeciwutleniającej w bardziej złożonym procesie autooksydacji kwasu linolowego w układzie emulsyjnym. Analizując wyniki uzyskane na początku doświadczenia można

stwierdzić, że nieznacznie wyższą aktywnością charakteryzował się napój wieloowocowy (tab. I i II). Zahamował on w 100% reakcję autooksydacji, podczas gdy napój pomarańczowy w ok. 97%. Wartość końcowa uzyskana w tym napoju okazała się jednak niższa w stosunku do stanu wyjściowego o ok. 7% dla próbek przechowywanej w 25°C, a o ok. 16% dla próbki chłodzonej. Analiza statystyczna uzyskanych wyników potwierdziła brak istotnego wpływu temperatury na stopień zahamowania reakcji w próbkach napoju o smaku truskawkowym. W napoju pomarańczowym natomiast wartości różniły się istotnie pod względem statystycznym dla dwóch zastosowanych warunków przechowywania.

### WNIOSKI

1. W pracy stwierdzono znaczące ilości kwasu askorbinowego w napoju pomarańczowym, stosunkowo dużą zawartość polifenoli w obu napojach i umiarkowaną antocyjanów w napoju o smaku truskawkowym.

2. W wyniku przechowywania badanych napojów odnotowano obniżenie w nich zawartości kwasu askorbinowego i antocyjanów. Efektu tego nie stwierdzono w przypadku znacznie stabilniejszych związków fenolowych.

3. W próbkach, które były znaczącym źródłem badanych substancji biologicznie aktywnych, stopień ich degradacji uzależniony był od temperatury przechowywania.

4. Badane napoje charakteryzowały się dobrymi właściwościami przeciwutleniającymi. Wpływ przechowywania na aktywność napoju pomarańczowego był wyraźnie większy niż w przypadku napoju wieloowocowego.

M. B. Rogińska, R. Wołosiak

### INFLUENCE OF STORAGE TEMPERATURE ON THE CONTENT AND ACTIVITY OF ANTIOXIDANTS IN FRUIT DRINKS

#### Summary

Changes of selected antioxidants (kwasu askorbinowego, polifenoli ogółem, karotenoidów ogółem i antocyjanów) content and antioxidant activity of fruit drinks during their cold storage (5°C) and ambient temperature storage (25°C) were determined in the study. Ascorbic acid and total phenolics contents were higher in orange drink comparing to strawberry drink, similarly to their activity against ABTS<sup>•+</sup>. However, the constituents of strawberry drink were more effective in retarding linoleic acid hydroperoxide formation.

### PIŚMIENNICTWO

1. Polska Norma PN-A-04019: Produkty spożywcze. Oznaczanie witaminy C, Polski Komitet Normalizacyjny, 1998; Warszawa. – 2. *Slinkard K., Singleton V. L.*: Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods, *Am. J. Enol. Viticult.*, 1977; 28(1): 49-55. – 3. *Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.*: Antioxidant activity applying an improved

ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Bio. Med.*, 1999; 26(9-10): 1231-1237. – 4. *Kuo J.-M., Yeh B.-D., Pan B.S.*: Rapid photometric assay evaluating antioxidative activity in edible plant material, *J. Agr. Food Chem.*, 1999; 47(8): 3206-3209. – 5. *INA Method 116.000*: Anthocyanin content in bilberry by pH-differential spectrophotometry. – 6. *Borowska J., Szajdek A., Zadernowski R.*: Jakość żywieniowa soków przecierowych i napojów (1), *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 2004; 2: 26-27. – 7. *Danielczuk J., Jakubowski A., Czarnecka A.*: Badania porównawcze oznaczania zawartości kwasu L-askorbinowego metodą enzymatyczną i metodami wg Polskiej Normy w wybranych sokach owocowych i warzywnych, *Prace Instytutów i Laboratoriów Badawczych Przemysłu Spożywczego*, 2000; tom 55: 127-151. – 8. *Klimczak I., Malecka M., Szlachta M., Gliszczyńska-Świągło A.*: Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices, *J. Food Compos. Anal.*, 2007; 20(3-4): 313-322. – 9. *Meléndez-Martínez A. J., Vicario I. M., Heredia F. J.*: Provitamin A carotenoids and ascorbic acid contents of the different types of orange juices marketed in Spain, *Food Chem.*, 2007; 101(1): 177-184. – 10. *Arena E., Fallico B., Maccarone E.*: Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storage, *Food Chem.*, 2001; 74(4): 423-427.

11. *Fik M., Michalczyk M.*: Zmiany jakości przechowywanego soku z czarnej porzeczki, *Chłódnictwo*, 2001; 4: 34-38. – 12. *Kalisz S.*: Wpływ sposobu otrzymywania soków truskawkowych na zawartość antocyjanów i barwę, *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 2008; 60(5): 149-160. – 13. *Kalisz S., Mitek M.*: Zawartość składników o właściwościach przeciwutleniających w sokach i napojach z owoców kolorowych, *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 2003; 35(2) Suplement: 61-67. – 14. *Kusznierewicz B., Wolska L., Bartoszek A., Namieśnik J.*: Charakterystyka polifenoli: występowanie, właściwości, przegląd metod analitycznych, *Brom. Chem. Toksykol.*, 2005; 1: 81-92. – 15. *Kalisz S., Wolniak M.*: Zmiany związków fenolowych podczas przechowywania soków malinowych, *Żywność Nauka. Technologia. Jakość*, 2006; 47(2) Suplement: 93-100.

Adres: 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159c.