

AGNIESZKA SZAJDEK, EWA DĄBKOWSKA, EULALIA J. BOROWSKA

WPLYW OBRÓBKI ENZYMATYCZNEJ MIAZGI OWOCÓW JAGODOWYCH NA ZAWARTOŚĆ POLIFENOLI I AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCĄ SOKU

Streszczenie

W pracy scharakteryzowano soki z owoców jagodowych - aronii, borówki czernicy, porzeczki czarnej, truskawki i żurawiny pod względem zawartości związków fenolowych ogółem, antocyjanów i aktywności wiązania rodników DPPH[•], określając wpływ procesu maceracji enzymatycznej miazgi oraz pasteryzacji.

Macerację miazgi prowadzono po uprzedniej obróbce termicznej preparatami enzymatycznymi zalecanymi do poszczególnych gatunków owoców. Wykazano korzystny wpływ zastosowania preparatów enzymatycznych na badane wyróżniki soków. Wydajność soków z poszczególnych gatunków owoców jagodowych różniła się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) i była największa (72,2%) w przypadku truskawki. Wśród soków pasteryzowanych, największą zawartością związków fenolowych ogółem - 12205 mg/l, wyróżniał się sok pasteryzowany z aronii, a antocyjanów - 2397 mg/l, sok z borówki czernicy. Stwierdzono destrukcyjne oddziaływanie procesu pasteryzacji soków na antocyjany. W badaniach wykazano, że najbardziej termolabilne były antocyjany soków z truskawki i żurawiny (ok. 4-krotne obniżenie ich zawartości). Maceracja enzymatyczna miazgi owoców, poprzedzająca proces tłoczenia, spowodowała znaczący statystycznie istotny ($p < 0,05$) wzrost aktywności wygaszania rodników DPPH[•] przez wszystkie soki. Spośród badanych soków pasteryzowanych największą aktywnością, równą 98,87 $\mu\text{moli Trolox/ml}$, wyróżniał się sok z aronii.

Słowa kluczowe: soki z owoców jagodowych, polifenole, antocyjany, wiązanie rodników DPPH[•], maceracja, pasteryzacja

Wprowadzenie

Wśród produktów owocowych, soki i napoje stanowią aktualnie grupę o największym spożyciu. Szczególnie miejsce zajmują soki z owoców jagodowych, wyróżniające się bogatym składem związków bioaktywnych o udowodnionych

Mgr inż. A. Szajdek, mgr inż. E. Dąbkowska, prof. dr hab. E. J. Borowska, Katedra Przetwórstwa i

właściwościach prozdrowotnych. Szczególnie podkreśla się ich zdolność do wygaszania aktywności wolnych rodników [3, 7, 8, 13, 14]. W sokach z owoców jagodowych, związki o tych właściwościach reprezentowane są przede wszystkim przez: polifenole (kwasy fenolowe, taniny i dużą grupę flawonoidów wraz z antocyjanami), witaminę C, karotenoidy, ponadto kwasy organiczne, wapń, selen i inne. Wśród wymienionych, szczególne miejsce zajmują związki fenolowe. Udowodniono m.in., że są one efektywnymi przeciwutleniaczami, silniejszymi często od wielu witamin o właściwościach przeciwutleniających. Uważa się, że rola związków fenolowych w organizmie polega prawdopodobnie na ochronie przed utlenianiem kwasu askorbinowego, witaminy E, glutationu i innych substancji ważnych biologicznie, a podatnych na procesy oksydacyjne [1, 10, 11, 12, 19].

Wśród krajowych gatunków owoców, stanowiących surowiec do otrzymywania soków, wymienić należy: truskawkę, porzeczkę czarną, aronię, borówkę czernicę, żurawinę. Informacje literaturowe wskazują na znaczący wpływ zarówno gatunku owoców, jak i procesów jednostkowych na składniki bioaktywne i właściwości przeciwutleniające soków [6, 9].

Celem pracy było określenie wpływu zróżnicowanych warunków maceracji miazgi owoców przed tłoczeniem i pasteryzacji na zawartość związków fenolowych ogółem, antocyjanów i aktywność wiązania rodników DPPH' przez soki z owoców jagodowych.

Materiał i metody badań

Soki otrzymano w skali laboratoryjnej. Surowcem były owoce aronii, porzeczki czarnej i truskawki z upraw w okolicy Olsztyna w roku 2004 oraz owoce borówki czernicy i żurawiny błotnej rosnące dziko. Do maceracji miazgi zastosowano preparaty enzymatyczne zalecane w przetwórstwie owoców na soki. Soki otrzymano w skali laboratoryjnej. Próby kontrolne stanowiły soki z poszczególnych gatunków owoców, przy otrzymywaniu których miazgę poddawano obróbce cieplnej (temp. 85°C, 5 min). Macerację miazg owoców prowadzono po ich obróbce termicznej, stosując następujące preparaty enzymatyczne: owoce aronii – preparat Pectinex BE Colour; owoce borówki czernicy – preparat Pektopol PT-400; owoce porzeczki czarnej - preparat Pectinex BE Colour; owoce truskawki - preparat Pektopol PT-400; owoce żurawiny - preparat Gammapect LC Colour. Dawki preparatów zastosowanych do obróbki miazgi podano w tab. 1. Macerację enzymatyczną prowadzono w temp. 50°C przez 1,5 godz. Po procesie maceracji enzymy inaktywowano ogrzewając miazgę w temp. 85°C przez 2 min. Następnie tłoczono sok w prasie laboratoryjnej (ZPBB O/Bydgoszcz), dzielono

go na 2 części, po czym jedną z nich zamrażano do analiz, natomiast drugą rozlewano do opakowań szklanych i pasteryzowano w temp. 95°C przez 10 min.

We wszystkich wariantach doświadczenia określano wydajność procesu. W sokach oznaczano zawartość: polifenoli (jako ekwiwalent kwasu galusowego) wg Singletona i Rossi [15], antocyjanów (jako cyjanidyno-3-glukozyd) wg Wrolstada [20] oraz aktywność wygaszania rodnika DPPH^{*} (jako EC₅₀ w µl soku oraz jako µmol Troloxu/ml soku) wg Brand-Williams i wsp. [4].

Tabela 1

Dawki preparatów enzymatycznych zastosowanych do maceracji miazgi owoców jagodowych.
Doses of enzymatic preparations applied to berry fruits mash maceration.

Miazga owoców jagodowych Berry fruits mash	Preparat enzymatyczny Enzymatic preparation	Dawka preparatu [ml preparatu / 250 g miazgi] Dose of preparation [ml preparation / 250 g mash]*
Aronia / Chokeberry	Pectinex BE Colour	0,038
Borówka czernica / Bilberry	Pektopol PT-400	0,038
Porzeczka czarna / Black currant	Pectinex BE Colour	0,050
Truskawka / Strawberry	Pektopol PT-400	0,030
Żurawina / Cranberry	Gammapect LC Colour	0,050

* preparaty przed dodaniem do miazgi rozcieńczano 10-krotnie wodą destylowaną / the preparations were diluted ten-fold distilled water before adding to mash

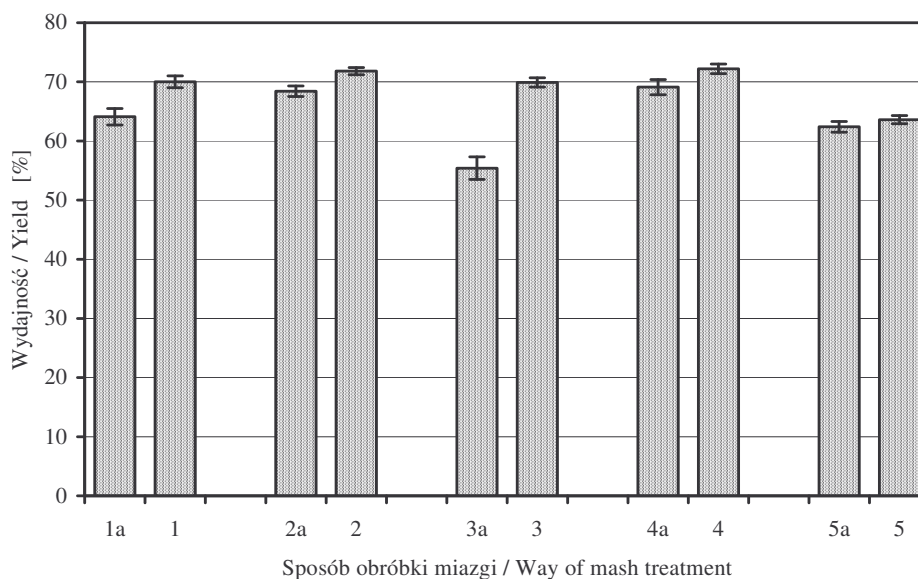
Analizę statystyczną wyników przeprowadzono stosując jednoczynnikową analizę wariancji z testem Duncana na poziomie istotności $p < 0,05$ przy użyciu programu komputerowego Statistica 6.0. Doświadczenie przeprowadzono trzykrotnie, a wszystkie analizy wykonano w trzech powtórzeniach.

Wyniki i dyskusja

Przy otrzymywaniu soków z owoców aronii, borówki czernicy, porzeczki czarnej, truskawki i żurawiny uzyskano różne wydajności (rys. 1). Zastosowanie do maceracji miazgi preparatów enzymatycznych wpłynęło na zwiększenie wydajności soków, w największym stopniu z porzeczki czarnej. W warunkach przeprowadzonego doświadczenia, największe, porównywalne wydajności uzyskano z truskawki (72,2%) i borówki czernicy (71,8%).

Soki z poszczególnych gatunków owoców charakteryzowały się statystycznie istotnie zróżnicowaną ($p < 0,05$) zawartością związków fenolowych ogółem, w tym antocyjanów (tab. 2). Wynika to przede wszystkim z dużych różnic zawartości tych

bioaktywnych związków w surowcu. Najwięcej polifenoli, na poziomie 12205 mg/l i 10639 mg/l, stwierdzono w sokach z aronii i porzeczki czarnej. Analizując wyniki, należy podkreślić korzystne oddziaływanie obróbki cieplnej i maceracji enzymatycznej miazgi owoców na uwalnianie polifenoli, w tym antocyjanów. W obrębie poszczególnych gatunków, soki kontrolne (bez uprzedniej maceracji miazgi) charakteryzowały się kilkakrotnie mniejszym stężeniem tych związków.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

1a - miazga z aronii bez maceracji / chokeberry mash without maceration; 1 - miazga z aronii po maceracji / chokeberry mash after maceration; 2a - miazga z borówki czernicy bez maceracji / bilberry mash without maceration; 2 - miazga z borówki czernicy po maceracji / bilberry mash after maceration; 3a - miazga z porzeczki czarnej bez maceracji / black currant mash without maceration; 3 - miazga z porzeczki czarnej po maceracji / blackcurrant mash after maceration; 4a - miazga z truskawki bez maceracji / strawberry mash without maceration; 4 - miazga z truskawki po maceracji / strawberry mash after maceration; 5a - miazga z żurawiny bez maceracji / cranberry mash without maceration; 5 - miazga z żurawiny po maceracji / cranberry mash after maceration.

Rys. 1. Wydajność soków z owoców jagodowych.

Fig. 1. The yield of berry fruits juices.

Jak wykazały nasze wcześniejsze badania [17] i wyniki innych autorów [2, 5, 18], zawartość polifenoli w soku w znaczącym stopniu uwarunkowana jest rodzajem preparatów enzymatycznych zastosowanych do maceracji miazgi. Wg Buchert i wsp. [5], soki z borówki czernicy, przy otrzymywaniu których stosowali 5 różnych preparatów, zawierały związki fenolowe w szerokim zakresie 2,67 g/l – 4,50 g/l.

Tabela 2

Zawartość związków fenowych ogółem i antocyjanów w sokach z owoców jagodowych.
Content of total phenolics and anthocyanins in berry fruits juices.

Wariant Variant	Soki niepasteryzowane Nonpasteurized juices		Soki pasteryzowane Pasteurized juices	
	Polifenole Phenolics [mg/l]	Antocyjany Anthocyanins [mg/l]	Polifenole Phenolics [mg/l]	Antocyjany Anthocyanins [mg/l]
Soki z aronii: Chokeberry juices: bez maceracji without maceration po maceracji after maceration	1926 ^{aA} ± 35	1457 ^{aC} ± 5	2052 ^{aA} ± 48	951 ^{aD} ± 3
	10921 ^{bA} ± 74	4642 ^{bC} ± 16	12205 ^{bB} ± 96	1864 ^{bD} ± 9
Soki z borówki czernicy: Bilberry juices: bez maceracji without maceration po maceracji after maceration	1237 ^{eA} ± 30	694 ^{cC} ± 4	852 ^{eB} ± 21	416 ^{eD} ± 6
	3650 ^{dB} ± 55	2722 ^{dC} ± 12	6261 ^{dA} ± 43	2397 ^{dD} ± 27
Soki z porzeczki czarnej: Blackcurrant juices: bez maceracji without maceration po maceracji after maceration	2624 ^{eA} ± 19	1327 ^{eC} ± 11	3011 ^{eB} ± 26	882 ^{eD} ± 8
	8127 ^{fA} ± 44	2935 ^{fC} ± 17	10639 ^{fB} ± 52	2246 ^{fD} ± 14
Soki z truskawki: Strawberry juices: bez maceracji without maceration po maceracji after maceration	504 ^{gA} ± 6	255,2 ^{gC} ± 0,8	368 ^{gB} ± 22	81,2 ^{gD} ± 1,8
	1272 ^{hA} ± 17	211,4 ^{hC} ± 1,3	1199 ^{hA} ± 10	53,7 ^{hB} ± 0,7
Soki z żurawiny: Cranberry juices: bez maceracji without maceration po maceracji	1040 ^{iA} ± 8	137,7 ^{iC} ± 0,5	1061 ^{iA} ± 13	87,2 ^{iD} ± 0,6
	2846 ^{jA} ± 26	183,1 ^{jC} ± 0,9	3952 ^{jB} ± 22	57,6 ^{jB} ± 0,3

after maceration				
------------------	--	--	--	--

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Różne litery (a,b,c...) w kolumnach oznaczają różnice statystycznie istotne ($p < 0,05$) / Different letters (a,b,c...) in the same column indicate statistically significant differences ($p < 0,05$).

Różne litery w wierszach (A,B,C,D) oznaczają różnice statystycznie istotne ($p < 0,05$) / Different letters (A,B,C,D) in the same row indicate statistically significant differences ($p < 0,05$).

Tabela 3

Aktywność wygaszania rodników DPPH' przez soki.

DPPH' scavenging activity by juices.

Wariant Variant	Soki niepasteryzowane Nonpasteurized juices		Soki pasteryzowane Pasteurized juices	
	EC ₅₀ [μl soku] EC ₅₀ [μl juice]	[μmol Trolox / ml soku] [μmol TE / ml juice]	EC ₅₀ [μl soku] EC ₅₀ [μl juice]	[μmol Trolox / ml soku] [μmol TE / ml juice]
Soki z aronii: Chokeberry juices:				
bez maceracji without maceration	1,97 ^a ± 0,04	22,37 ^a ± 0,40	2,18 ^a ± 0,05	20,21 ^a ± 0,46
po maceracji after maceration	0,35 ^b ± 0,03	125,98 ^b ± 10,18	0,45 ^b ± 0,02	98,97 ^b ± 4,09
Soki z borówki czernicy: Bilberry juices:				
bez maceracji without maceration	6,73 ^c ± 0,06	6,54 ^c ± 0,06	6,95 ^c ± 0,09	6,33 ^c ± 0,08
po maceracji after maceration	1,40 ^d ± 0,04	31,51 ^d ± 0,80	1,46 ^d ± 0,04	30,21 ^d ± 0,73
Soki z porzeczki czarnej: Blackcurrant juices:				
bez maceracji without maceration	2,22 ^e ± 0,04	19,84 ^e ± 0,32	2,38 ^e ± 0,03	18,47 ^e ± 0,22
po maceracji after maceration	0,65 ^f ± 0,03	67,68 ^f ± 2,14	0,68 ^f ± 0,02	65,14 ^f ± 2,05
Soki z truskawki: Strawberry juices:				
bez maceracji without maceration	10,82 ^g ± 0,05	4,06 ^g ± 0,02	10,94 ^g ± 0,07	4,02 ^g ± 0,03
po maceracji after maceration	3,94 ^h ± 0,02	11,17 ^h ± 0,06	6,70 ^c ± 0,04	6,56 ^c ± 0,03
Soki z żurawiny: Cranberry juices:				
bez maceracji without maceration	4,10 ⁱ ± 0,04	10,73 ⁱ ± 0,09	4,25 ^h ± 0,05	10,35 ^h ± 0,12

po maceracji after maceration	1,63 ^j ± 0,03	26,97 ^j ± 0,47	1,95 ⁱ ± 0,03	22,54 ⁱ ± 0,33
----------------------------------	--------------------------	---------------------------	--------------------------	---------------------------

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Różne litery (a,b,c...) w kolumnach oznaczają różnice statystycznie istotne ($p < 0,05$) / Different letters (a,b,c...) in the same column indicate statistically significant differences ($p < 0,05$).

Wśród badanych soków największą zawartością antocyjanów wyróżniały się trzy rodzaje soków: z borówki czernicy, porzeczki czarnej i aronii (tab. 2). Analizując oddziaływanie procesu pasteryzacji na tę grupę związków, wykazano bardzo małą stabilność antocyjanów w sokach z truskawki i żurawiny. Soki te, po termicznym utrwaleniu, zawierały tylko 53,7 mg/l i 57,6 mg/l antocyjanów. Są to ilości 3-4-krotnie mniejsze aniżeli w sokach niepasteryzowanych. Zaobserwowano przy tym większą ich destrukcję w tych sokach, gdzie miazgę przed procesem tłoczenia poddawano obróbce termicznej i enzymatycznej.

Na mniejszą stabilność antocyjanów aronii po procesie depektynizacji wskazują też Oszmiański i Sożyński [13]. Jako jeden z kierunków tych zmian, niektórzy autorzy wskazują możliwość oksydatywnej polimeryzacji, w wyniku czego powstają produkty o barwie brunatnej [6].

Wśród analizowanych soków największą aktywnością wygaszania rodników DPPH[•] wyróżniały się soki z aronii; 1ml soku niepasteryzowanego wykazywał aktywność równoważną z 125,98 μmol Troloxu, a 1ml soku pasteryzowanego – 98,97 μmol Troloxu (tab. 3).

Należy podkreślić, że soki te charakteryzowały się jednocześnie najwyższą zawartością związków fenolowych ogółem (tab. 2). O wysokiej aktywności przeciwutleniającej soku z aronii donoszą także Oszmiański i Wojdyło [14]. Najmniej aktywne były natomiast soki pasteryzowane z truskawki. Wykazano ponadto znaczący, korzystny wpływ maceracji enzymatycznej miazgi na aktywność soków, natomiast oddziaływanie procesu pasteryzacji nie było jednoznaczne.

Wnioski

1. Soki otrzymane z owoców: aronii, borówki czernicy, porzeczki czarnej, truskawki i żurawiny, różniły się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) pod względem zawartości związków fenolowych ogółem, w tym antocyjanów oraz właściwości przeciwutleniających.
2. Zastosowanie preparatów enzymatycznych do maceracji miazgi zwiększyło znacząco wydajność soków, stopień uwalniania polifenoli - w tym antocyjanów oraz aktywność wygaszania rodników DPPH[•].
3. Wykazano, że proces pasteryzacji spowodował w większości niewielki wzrost zawartości związków fenolowych ogółem; wyjątek stanowiły soki z truskawki.

4. Stwierdzono destrukcyjne oddziaływanie procesu pasteryzacji soków na antocyjany - w warunkach przeprowadzonego doświadczenia najbardziej termolabilne były antocyjany soków z truskawki i żurawiny.
5. Mimo zmian zawartości związków fenolowych podczas pasteryzacji nie stwierdzono jednoznacznego wpływu tego procesu na aktywność wiązania rodników DPPH[•].

Praca była prezentowana na XI Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Warszaw, 24–25 maja 2006.

Literatura

- [1] Ara V.: The black chokeberry: A healthy fruit that will soon be “on all tongues”? *Fruit Process.*, 2002, **13**, 500-504.
- [2] Bagger-Jørgensen R, Meyer A.S.: Effects of different enzymatic pre-press maceration treatments on release of phenols into blackcurrant juice. *Eur. Food Res. Technol.*, 2004, **219**, 620-629.
- [3] Borowska J.: Owoce i warzywa jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy (1). *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2003, **5**, 11-12.
- [4] Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C.: Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 1995, **28**, 25-30.
- [5] Buchert J., Koponen J.M., Suutarinen M., Mustranta A., Lille M., Törrönen R., Poutanen K.: Effect of enzyme-aided pressing on anthocyanin yield and profiles in bilberry and blackcurrant juices. *J. Sci. Food Agric.*, 2005, **85**, 2548-2556.
- [6] Dietrich H., Rechner A., Patz C.D.: Bioactive compounds in fruit and juice. *Fruit Process.*, 2004, **14**, 50-55.
- [7] Espín J. C., Soler-Rivas C., Wichers H. J., García-Viguera C.: Anthocyanin – based natural colorants: A new source of antiradical activity for foodstuff. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 1588-1592.
- [8] Heinonen I. M., Meyer A.S., Frankel E.N.: Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 4107-4112.
- [9] Horubała A.: Pojemność przeciwutleniająca i jej zmiany w procesach przetwarzania owoców i warzyw. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 1999, **3**, 30-32.
- [10] Kähkönen M. P., Hopia A. I., Vuorela H. J., Rauha J-P., Pihlaja K., T. S. Kujala T. S., Heinonen M.: Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 3954-3962.
- [11] Kalt W., Forney C. F., Martin A., Prior R. L.: Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 3954-3962.
- [12] Łata B.: Owoce jagodowe źródłem antyoksydantów. *Ogrodnictwo*, 2002, **6**, 11-13.
- [13] Oszmiański J, Sożyński J.: Wpływ warunków otrzymywania oraz przechowywania soku z aronii na związki fenolowe i barwę. *Zesz. Nauk. AR Wrocław*, 1989, **184**, 90-95.
- [14] Oszmiański J., Wojdyło A.: *Aronia melanocarpa* phenolics and their antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol.*, 2005, **221**, 809-813.
- [15] Singleton V.L., Rossi J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdc-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult.*, 1965, **16**, 144-158.
- [16] Slimestad R., Solheim H.: Anthocyanins from blackcurrants (*Ribes nigrum* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50**, 3228-3231.

- [17] Szajdek A., Borowska J., Czaplicki S.: Biologically active substances and antioxidant properties of fruits and juices of aronia and black currant. *Plodowodstwo*, 2004, **15**, 321-325.
- [18] Versari A, Biesenbruch S, Barbanti D, Farnell PJ, Galassi S.: Effect of pectolic enzymes on selected phenolic compounds in strawberry and raspberry juices. *Food Res. Int.*, 1997, **30**, 811-817.
- [19] Wilska-Jeszka J.: Struktura i właściwości antyoksydacyjne polifenoli. *Mat. II Konf. Nauk. „Żywność a Zdrowie”*, Łódź 1999, s. 27-36.
- [20] Wrolstad R.E.: Color and pigment analyses in fruits products. Oregon State University, Agricultural Experiment Station Bulletin, 1976, p. 624.

THE INFLUENCE OF BERRY FRUITS MASH ENZYMATIC TREATMENT ON THE POLYPHENOLS CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF JUICE

S u m m a r y

This study characterizes the content of phenolic compounds and anthocyanins and also the DPPH' radical scavenging activity of berry juices made of chokeberry, bilberry, black currant, strawberry and cranberry fruit, and examined the effects of mash maceration process and pasteurization.

Mash maceration was carried out with the use of enzymatic preparations, recommended for individual species of fruit, after previous heat treatment. The research demonstrated favorable effects of using enzymatic preparation on the characteristics of the examined juices. It was proven that juice productive was statistically different ($p < 0.05$) for individual species of berries, and achieved the largest value (72.2%) in the case of strawberry. Among pasteurized juices, the highest total content of phenolic compounds – 12205 mg/l was found for pasteurized chokeberry juice, and as regards anthocyanins – 2397 mg/l found for bilberry juice. It was demonstrated that juice pasteurization had destructive effects on anthocyanins. The study showed that anthocyanins in strawberry and cranberry juices proved to be the most heat-labile (about a four-fold drop). The enzymatic maceration of fruit mash which preceded the pressing process resulted in a considerable, spastically significant ($p < 0.05$) increase in DPPH' radical scavenging in all analyzed juices. Among the pasteurized juices under examination, the greatest activity of 98.87 $\mu\text{mol Trolox equivalent/ml}$ was found for chokeberry juices.

Key words: berry fruit juices, polyphenols, anthocyanins, DPPH' scavenging, maceration, pasteurization

