

MARZENA MISIAK
ZBIGNIEW IRZYNIEC

Instytut Chemicznej Technologii Żywności
Politechnika Łódzka

WPŁYW TEMPERATURY I CZASU PRZECHOWYWANIA NA ZAWARTOŚĆ POLIFENOLI I WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE LIOFILIZOWANEJ ARONII

Recenzent: dr hab. inż. Lucjan Krala, prof. PŁ

Badano zmiany zawartości polifenoli i antocyjanów oraz właściwości przeciwutleniających liofilizowanej aronii przechowywanej w temperaturze 3, 23 i 40°C. Stwierdzono, że temperatura przechowywania wywiera silny wpływ na badane wyróżniki. Wykazano, że najkorzystniej jest przechowywać liofilizaty aronii w warunkach chłodniczych (3°C).

1. Wprowadzenie

Ze względu na wielokrotnie potwierdzone właściwości przeciwutleniające, związane głównie z obecnością polifenoli, owoce aronii wywierają korzystny wpływ na zdrowie konsumenta. Składniki owoców aronii wykazują również wysoką aktywność przeciwzapalną, przeciwwirusową oraz antyalergiczną [1].

1.1. Aronia ciemnoowocowa – charakterystyka oraz skład chemiczny

Aronia melanocarpa (ang. Chokeberry) jest krzewem z rodziny różowatych, posiadającym małe kuliste owoce, czarne jagody z błękitnym woskowym nalotem. Aronia jest światłolubna i bardzo wytrzymała na mrozy i suszę. Owoce aronii są bardzo odporne na psucie się w czasie przechowywania [2]. Stwierdzono, że jej

owoce są najbogatszym źródłem polifenoli. Owoce aronii charakteryzują się cierpkim smakiem, spowodowanym obecnością epikatechin oraz pochodnych kwasu hydroksycynamonowego, z tego powodu nie jest spożywana w stanie surowym. Wymienione wyżej związki powodują, że aronia posiada bardzo dużą aktywność przeciwutleniającą, pomimo śladowych ilości takich przeciwutleniaczy jak witamina C czy karotenoidy [3].

1.2. Polifenole – klasyfikacja oraz występowanie

Związki polifenolowe można podzielić pod względem struktury podstawowego szkieletu węglowego na:

- kwasy fenolowe,
- flawonoidy [4].

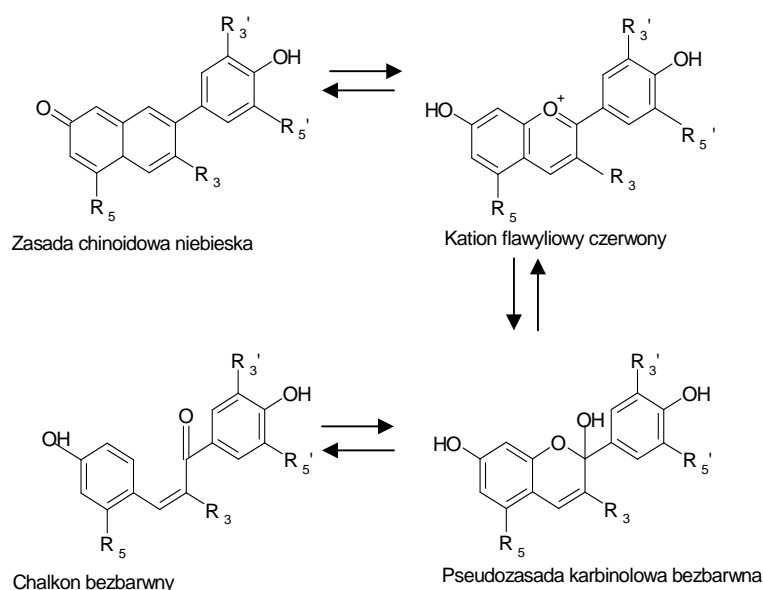
Polifenole występują w owocach, kwiatach, liściach, nasionach, korzeniach, korze i częściach zdrewniałych roślin. Związki te występują także w ziarnach zbóż, nasionach roślin strączkowych i oleistych, ziemniakach, herbacie, kawie i przyprawach roślinnych [5].

Antocyjany

Spośród wszystkich związków polifenolowych zawartych w aronii największe znaczenie ma zawartość antocyjanów, naturalnych barwników. Antocyjany należą do obszernej grupy związków, cechujących się obecnością w cząsteczce dwóch pierścieni fenylowych połączonych trójwęglowym łańcuchem ($C_6-C_3-C_6$), tzw. flawonoidów [6].

Pod względem budowy chemicznej antocyjany przedstawia się ogólnie jako kation flawyliowy, posiadający w cząsteczce różne podstawniki R_3' , R_5' (grupy -OH, -OCH₃ lub -H) i R_5 (grupy -O-glukoza, albo -OH), a przede wszystkim R_3 (połączenie glikozydowe z cukrami), charakteryzujące poszczególne antocyjany.

Antocyjany swoją różnorodność zawdzięczają cukrowemu składnikowi, którym najczęściej jest glukoza, a rzadziej galaktoza, ramnoza, arabinoza, czy też ksyloza. Mogą występować w postaci mono-, di-, triglikozydów. Dlatego też antocyjany występujące w produktach naturalnych, posiadają różne właściwości [7,8]. Antocyjany są związkami niestabilnymi, łatwo ulegają przemianom, a tym samym zmianom barwy (rys. 1).



Rys. 1. Schemat zmian strukturalnych antocyjanów [6]

Podczas przechowywania albo też w trakcie procesu technologicznego otrzymywania produktów z aronii może następować rozkład antocyjanów, głównie wywołany reakcjami nieenzymatycznego brązowienia. Barwniki antocyjanowe ulegają zniszczeniu pod wpływem promieni słonecznych, enzymów utleniających i hydrolizujących oraz pod wpływem wielu innych czynników [9].

Antocyjany zaliczane są do grupy tzw. naturalnych substancji nieodżywczych pochodzenia roślinnego. Ze względu na intensywną barwę znajdują szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym, ponieważ zwiększają atrakcyjność wizualną produktów, np. ciast, deserów, czy też win. Stosowane są również do barwienia galaretek, kisielu i napojów. Wykorzystywane są również w przemyśle farmaceutycznym oraz kosmetycznym [10].

2. Suszenie sublimacyjne

Suszenie sublimacyjne, inaczej nazywane liofilizacją, jest jedną z metod utrwalania żywności. Liofilizacja polega na usuwaniu wody z zamrożonego uprzednio produktu poprzez sublimację lodu, czyli przemianę lodu w parę z pominięciem stanu ciekłego. Jest to proces złożony i wieloetapowy. Liofilizacja gwarantuje otrzymanie produktu o wysokich walorach jakościowych [11].

3. Materiał i metody badań

Materiałem do badań były owoce aronii, pochodzące z plantacji w województwie łódzkim. Wyszuszony materiał pakowano w woreczki z folii polietylenowej po około 10 g. Opakowany surowiec dzielono losowo na trzy grupy doświadczalne, które przechowywano w temperaturze 3°C, 23°C, i 40°C.

Ze świeżego surowca i każdej partii aronii liofilizowanej pobierano losowo w jednakowych odstępach czasu (po około 30 dób) po 3 próbki, w których oznaczano:

- zawartość wody metodą suszarkową [12];
 - zawartość antocyjanów metodą Fuleki'ego i Francis'a [13];
- Metoda Fuleki'ego i Francis'a polega na pomiarach absorbancji ekstraktów z badanego produktu rozcieńczonych buforami o pH 1,0 i pH 4,5 przy długości fali $\lambda = 510$ nm. Zawartość antocyjanów liczono ze wzoru:

$$TA_{cy} = [100(5 \cdot A_{pH1,0} - A_{pH4,5}) \cdot n] / 77,5 \quad (1)$$

gdzie:

$A_{pH1,0}$ – absorbancja roztworu rozcieńczonego buforem o pH 1,0,

$A_{pH4,5}$ – absorbancja roztworu rozcieńczonego buforem o pH 4,5,

n – rozcieńczenie próbki.

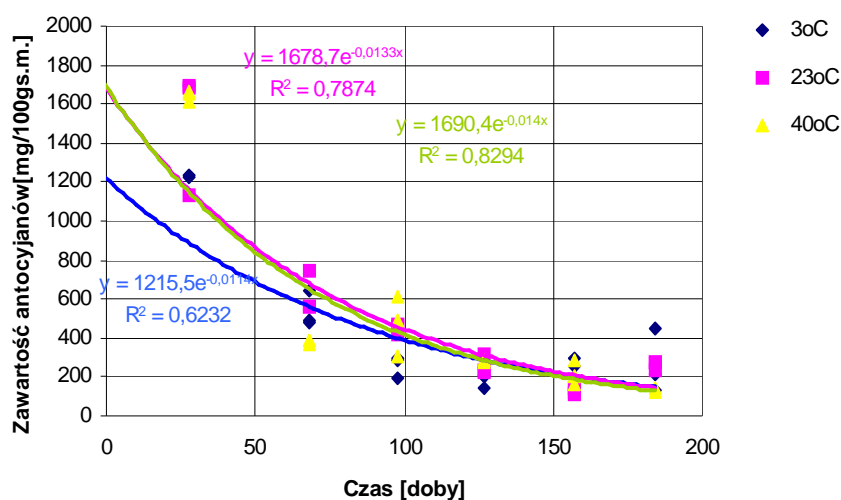
Ilość antocyjanów podawano w mg/100 g s.m.

- sumę związków polifenolowych metodą Folina-Ciocalteu [14];
- Metoda Folina-Ciocalteu wykorzystuje redukcyjne właściwości związków polifenolowych. Odczynnik Folina-Ciocalteu zawiera w swym składzie kwas fosfowolframowy oraz kwas fosfomolibdenowy. Substancje te po utlenieniu fenoli przekształcają się do tlenków odpowiednio wolframu i molibdenu. Powstały barwny roztwór wykazuje maksymalną absorbancję przy długości fali $\lambda = 700$ nm. Ilość polifenoli podawano w mg/100 g s.m. w przeliczeniu na katechinę, dla której sporządzono krzywą wzorcową.
- stopień zmiatania wolnych rodników DPPH, metodą Yena i Chena [15];
- Metoda polega na określeniu stopnia redukcji stabilnych rodników DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazylu) przez antyoksydanty zawarte w żywności. Zmiany właściwości przeciwutleniających określono przez podanie ilości ekstraktu badanej próby, która powodowała 50% redukcję wolnych rodników DPPH (współczynnik IC_{50}).

4. Wyniki i dyskusja

4.1. Zmiany zawartości antocyjanów

Badania wykazały, że zawartość antocyjanów w świeżych owocach aronii wynosi 600 mg/100 g s.m. Stwierdzono, że w liofilizatach zawartość antocyjanów ulegała obniżeniu w miarę upływu czasu przechowywania. Udokumentowano, że temperatura 3°C znacznie spowalniała ten proces sprzyjając zachowaniu znacznie większej zawartości antocyjanów w liofilizatach w porównaniu z ich przechowywaniem temperaturze wyższej (rys. 2). Na podstawie obliczeń kinetycznych stwierdzono istotny wpływ czasu przechowywania na zawartość antocyjanów. Wykazano, że po 185 dobach przechowywania zawartość antocyjanów zmalała o około 80% dla temperatury 3°C oraz 90% dla pozostałych temperatur przechowywania.

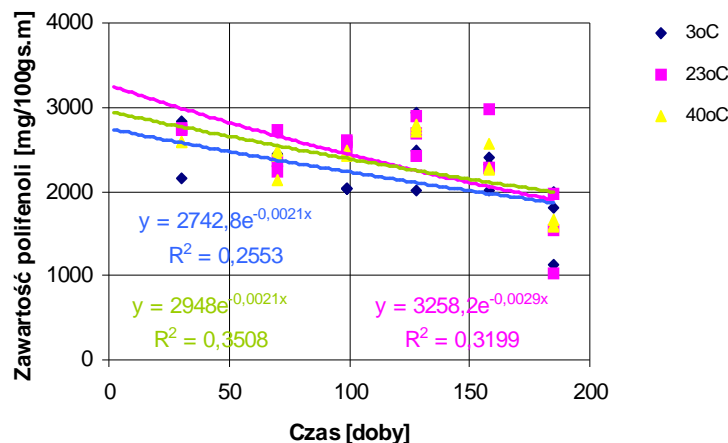


Rys. 2. Zmiany zawartości antocyjanów w czasie przechowywania

4.2. Zmiany zawartości związków polifenolowych

Zawartość związków polifenolowych w świeżych owocach aronii wynosiła 2500 mg/100g s.m. Z danych literaturowych wynika, że zawartość związków polifenolowych w aronii może być 1,5-krotnie wyższa i wynosić nawet 3870 mg/100g s.m.[16]. Tak duże różnice wyników mogą być spowodowane stosowaniem innych procedur analitycznych, np. przeliczeniem zawartości polifenoli na katechinę, a nie na kwercetynę.

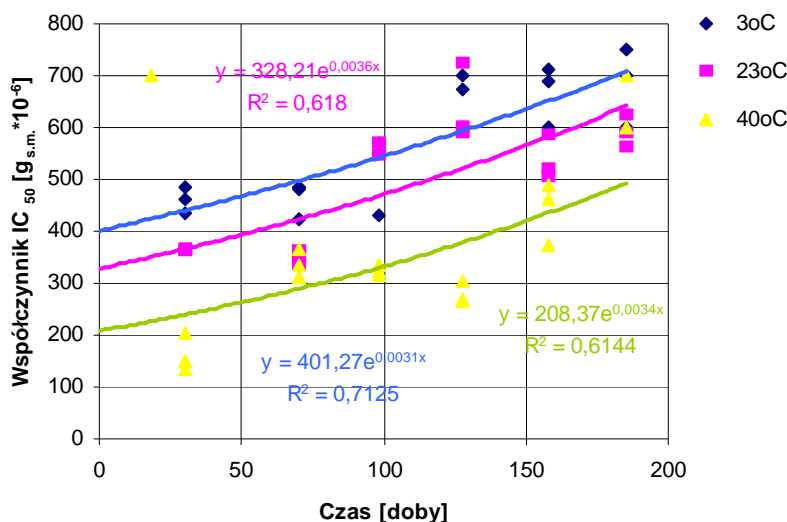
Wyniki badań przedstawione na rys. 3 sugerują, że w miarę upływu czasu przechowywania zawartość polifenoli w liofilizowanych owocach aronii obniża się. Jednakże temperatura przechowywania nie wpływa istotnie na te zmiany. Wykazano, że zawartość polifenoli w liofilizatach aronii zmalała w czasie przechowywania o około 30%, 50%, 60% odpowiednio dla temperatury 3°C, 23°C 40°C.



Rys. 3. Zmiany zawartości związków polifenolowych w liofilizowanych owocach aronii w czasie przechowywania

4.3. Zmiany stopnia zmiatania wolnych rodników DPPH

Przeprowadzone analizy wykazały, że badane owoce aronii mają wysoką zdolność zmiatania wolnych rodników. Podczas przechowywania liofilizatów aronii zaobserwowano spadek zawartości związków polifenolowych i w konsekwencji stopniowy wzrost współczynnika IC_{50} , czyli ilości ekstraktu potrzebnej do zredukowania 50% wolnych rodników DPPH. Po upływie 185 dób przechowywania wartość współczynnika IC_{50} wzrosła o około 30%, 40%, 70%, odpowiednio dla temperatury 3°C, 23°C oraz 40°C. Zależność funkcjonalną pomiędzy efektywnością zmiatania wolnych rodników a czasem przechowywania ustalono, badając kinetykę tych zmian (rys. 4). Badania te wykazały istnienie korelacji między czasem przechowywania a temperaturą, na co wskazują wysokie wartości współczynników determinacji (R^2). Najszybciej malała zdolność zmiatania wolnych rodników DPPH przez liofilizaty aronii przechowywane w temperaturze 3°C. Szybkość spadku efektywności zmiatania wolnych rodników w funkcji czasu stosuje się do reakcji pierwszego rzędu. Czas połowicznej przemiany wynosi 94,5 doby, a stała szybkości reakcji 0,0047.

Rys. 4. Zmiany współczynnika IC₅₀ w czasie przechowywania

5. Podsumowanie

Podsumowując wyniki badań wpływu temperatury i czasu przechowywania na właściwości przeciwutleniające liofilizowanej aronii, można stwierdzić, że zarówno temperatura, jak i czas mają duże znaczenie. Analiza wyników obliczeń kinetycznych daje podstawę do stwierdzenia, że liofilizowane owoce aronii powinny być przechowywane w warunkach chłodniczych (3°C). Po sześciu miesiącach przechowywania w tej temperaturze zawartość związków polifenolowych oraz efektywność zmiatania wolnych rodników w liofilizatach aronii zmniejszyła się o około 30%. Temperatura pokojowa (23°C) oraz wyższa (40°C) jest mniej korzystna. Po analogicznym okresie przechowywania efektywność zmiatania wolnych rodników przez badane owoce zmniejszyła się aż o 70%, a antocyjanów o 90%.

6. Literatura

- [1] **K. Raj Narayana, M. Spiral Reddy, M.R. Chaluvadi, D.R. Kriszna:** Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects therapeutic potential. *Indian J. Pharmacol.* **33**, 2 -16, (2001).
- [2] **Borowska J.:** Owoce i warzywa jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy. Cz. I. *Przem. Ferm. Owoc.Warz.* **5**, 11-12, (2003).

- [3] **Borowska J.:** Owoce i warzywa jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy. Cz. II. Przem. Ferm. Owoc. Warz. **3**, 94-96, (1995).
- [4] **Cieślik E.:** Występowanie przeciwutleniaczy w owocach jagodowych. [w:] *Przeciwutleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne technologiczne molekularne i analityczne.* Red. Grajek W., WNT, Warszawa, s. 201-204, (2007).
- [5] **Maniak B., Targoński Z.:** Przeciwutleniacze naturalne występujące w żywności. Przem. Ferm. Owoc. Warz. **40** (4), 7-9, (1996).
- [6] **Irzyniec Z.:** Antocyjany. [w:] *Technologia chłodnictwa żywności składniki pokarmowe i kontrola ich przemian.* Red. S. Michałowski, PŁ, Łódź, s. 148-155, (1995).
- [7] **Oszmiański J.:** Prozdrowotne polifenole w chorobach serca i naczyń krwionośnych. Przem. Ferm. Owoc. Warz., **7**, 42-43, (2008).
- [8] **Kozłowska-Wojciechowska M.:** Antyoksydanty – sprzymierzeńcy zdrowia. Wiad. Ziel. **5**, 8, (1985).
- [9] **Sikora J., Markowicz M.:** Właściwości związków biologicznie aktywnych zawartych w owocach aronii czarnoowocowej (*Aronia melanocarpa* Elliot). Farm. Polska **64** (17), 780-785, (2008).
- [10] **Wilka-Jeszka J., Zajac K.B.:** Antocyjany naturalne barwniki dla przemysłu spożywczego. Cz. I. Budowa, właściwości i metody otrzymywania barwników antocyjanowych – przegląd wiadomości. Przem. Ferm. Owoc. Warz. **3**, 21, (1991).
- [11] **Irzyniec Z., Klimczak J.:** Suszenie sublimacyjne. [w:] *Technologia chłodnictwa żywności procesy i ich kontrola.* Red. S. Michałowski, PŁ, Łódź, s. 110-122, (1994).
- [12] **Irzyniec Z., Klimczak J.:** Woda i aktywność wody. [w:] *Technologia chłodnictwa żywności składniki pokarmowe i kontrola ich przemian.* Red. S. Michałowski, PŁ, Łódź, s. 75-76, (1995).
- [13] **Vernon L. Singleton, Rudolf Orthofer, Rosa M. Lamuela-Raventos.:** Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin – Ciocalteu Reagent. Meth. Enzymol. **14**, 155-158, (1999).
- [14] **Fuleki T., Francis F.I.:** Quantitative methods for anthocyanins. 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. 2. Determination of total anthocyanin and degradation index for Canberry juice. J. Food Sci. **33**, 72-78, (1968).
- [15] **Yen G.C., Chen H.Y.:** Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. J. Agric. Food Chem. **43**, 27-32, (1995).
- [16] **Kalemba D., Góra J., Kurowska A.:** Charakterystyka chemiczna owoców aronii czarnoowocowej. Przem. Ferm. Owoc. Warz. **12**, 25-26, (1985).

**EFFECT OF THE TEMPERATURE AND STORAGE
TIME ON POLYPHENOL CONTENT
AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF FREEZE -
DRIED CHOKEBERRIES**

Summary

The research present changes of antioxidant properties of freeze – dried chokeberries stored in various temperatures. The temperature and storage time have the pronounced effect on antioxidant properties. Storage in cooling conditions (3°C) is the most advantageously.

Institute of Chemical Food Technology
Technical University in Lodz