

MAGDALENA KOPERA, MARTA MITEK

**WPLYW DODATKU KWASU L-ASKORBINOWEGO DO MIAZGI
OWOCOWEJ NA ZAWARTOŚĆ POLIFENOLI W SOKACH
GRUSZKOWYCH**

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu dodatku kwasu L-askorbinowego do miazgi owocowej na zawartość kwasów fenolowych w sokach gruszkowych.

Materiał do badań stanowiły owoce gruszy odmiany Konferencja zebrane w stanie dojrzałości zbiorczej. Owoce były wstępnie przebierane, a następnie myte. Kolejnym etapem było rozdrabnianie gruszek, w czasie którego dodawany był roztwór kwasu L-askorbinowego w ilości 0, 200 i 400 mg·kg⁻¹ gruszek. Otrzymaną miazgę poddawano tłoczeniu. Następnie sok surowy filtrowano, pasteryzowano i chłodzono do temperatury pokojowej. Soki przechowywano w temp. 20°C. Analizy soków przeprowadzono bezpośrednio po ich wyprodukowaniu oraz po 3, 6, 12, 24 i 36 tygodniach przechowywania.

W sokach oznaczano kwas p-hydroksybenzoesowy, kwas chlorogenowy, (-)epikatechinę, p-kumarowy i kwas synapinowy. Dodatek kwasu L-askorbinowego podczas produkcji soków powodował wzrost zawartości kwasów fenolowych w sokach. Natomiast podczas przechowywania soków obserwowano spadek zawartości omawianych związków.

Słowa kluczowe: sok naturalnie mętny, polifenole, HPLC, kwas L-askorbinowy

Wprowadzenie

Soki naturalnie mętne stanowią, w porównaniu z sokami klarownymi, znacznie bogatsze źródło bioaktywnych substancji [1]. W sokach owocowych zawierających większą ilość pierwotnego miąższu owoców pojemność przeciwutleniająca jest wyższa w porównaniu z sokami klarownymi [8], a ponadto są źródłem wielu cennych składników; jak błonnik pokarmowy, związki fenolowe oraz wprowadzany podczas produkcji kwas askorbinowy [15].

Mgr inż. M. Kopera, dr hab. M. Mitek, prof. SGGW, Zakład Technologii Owoców i Warzyw, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa

Zawartość związków fenolowych w sokach z jabłek i gruszek zależy od odmiany i stopnia dojrzałości owoców oraz warunków klimatycznych [3, 10, 20, 21]. Technologia produkcji soków wpływa istotnie na zawartość związków fenolowych, co udowodnili w badaniach Spanos i wsp. [19] oraz Cliff i wsp. [4]. Procesy technologiczne, takie jak: depektynizacja, klarowanie i filtracja powodują, że w soku jest tylko 5% związków polifenolowych z ilości zawartych w jabłkach [15]. Markowski i Płocharski [11] przetwarzając jabłka, stwierdzili w sokach mętnych 53% początkowej ilości związków fenolowych zawartych w owocach.

W sokach gruszkowych znajduje się kilka grup związków fenolowych [20, 22]. Jedną z nich stanowią kwasy fenolowe, których głównym przedstawicielem jest kwas chlorogenowy. Występuje również ester chinowy kwasu p-kumarowego. Drugą istotną grupą są monomery flawanoli, spośród których w największych ilościach występuje (-)epikatechina oraz (+)katechina [22]. Z polimerów flawanoli – procyjanidyn, występują głównie oligomery i tryмеры [20].

Powstawanie brązowienia soków gruszkowych może być przyczyną utleniania polifenoli przez polifenolooksydazę (PPO) podczas procesu technologicznego, a także poprzez powstawanie produktów Maillarda podczas ogrzewania i przechowywania soku [5].

Wysoką efektywnością hamowania brązowienia enzymatycznego charakteryzuje się kwas askorbinowy [9] i jego pochodne [18]. Dodatek kwasu askorbinowego przyczynia się do zachowania związków fenolowych w soku [12, 14]. W zależności od ilości dodanego przeciwutleniacza można modyfikować skład frakcji fenolowej soków, a tym samym otrzymać soki o różnych cechach sensorycznych i dietetycznych [7]. Należy również mieć na uwadze dodatkowe korzyści zdrowotne wynikające z wysokiej zawartości kwasu askorbinowego w sokach [17]. Wzbogacenie soków w kwas askorbinowy pozwala na lepsze zachowanie innych obecnych w soku przeciwutleniaczy, przy czym obserwuje się także działanie odwrotne, polegające na ochronnym wpływie obecnych w sokach polifenoli wobec witaminy C [13].

Zmiany zachodzące w sokach podczas ich przechowywania prowadzą z reguły do obniżenia wartości odżywczej i handlowej soków. Wielu autorów podaje, że podczas przechowywania soków występują straty związków fenolowych [2, 6, 7, 19]. W swoich badaniach Markowski [12] nie stwierdził zmniejszenia zawartości związków fenolowych, zaś w kilku przypadkach wykazał nawet wzrost ich poziomu.

Celem pracy było określenie wpływu dodatku kwasu L-askorbinowego (KA) do miazgi owocowej, podczas produkcji soków gruszkowych, na zawartość związków fenolowych w sokach bezpośrednio po produkcji oraz po przechowywaniu.

Materiał i metody badań

Materiał do badań stanowiły gruszki odmiany Konferencja, pochodzące z Sadu Doświadczalnego Katedry Sadownictwa SGGW, zebrane w stanie dojrzałości zbiorczej w 2003 r.

Po odrzuceniu owoców uszkodzonych, gruszki myto, a następnie rozdrabniano w półtechnicznym szarpaku. Podczas rozdrabniania dozowano roztwór wodny kwasu L-askorbinowego ($20 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ gruszek) w dawkach 0, 200, 400 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ gruszek. Następnie miążgę tłoczono w ręcznej prasie warstwowej, przy czym łączny czas rozdrabniania i tłoczenia nie był dłuższy niż 10 min. Otrzymany moszcz filtrowano przez tkaninę lnianą, rozlewano do szklanych ciemnych butelek o pojemności 330 ml i odpowietrzano, poprzez ogrzanie soku do temp. 85°C . Po zamknięciu butelek prowadzono pasteryzację w temp. 95°C w ciągu 15 min. Otrzymane soki w butelkach schładzano na powietrzu do temperatury ok. 20°C . Butelki przechowywano w pozycji stojącej bez dostępu światła w temp. $20 \pm 1^\circ\text{C}$ [20, 21]. Analizy kwasów fenolowych w sokach przeprowadzono bezpośrednio po ich wyprodukowaniu oraz po 3, 6, 12, 24 i 36 tygodniach przechowywania. W tym celu próbkę soku mieszano z metanolem w proporcji 1:1 i homogenizowano 1 min w temp. pokojowej, po czym wirowano i zlewano supernatant do kolby wyparkowej, a osad ponownie ekstrahowano 10 ml metanolu. Ekstrakcję osadu prowadzono dwukrotnie. Połączone ekstrakty odparowywano pod próżnią w temp. 40°C stosując wyparkę Büchi. Przed naniesieniem próbki na szczyt kolumny uzyskaną fazę wodną po odparowaniu metanolu oczyszczano przy użyciu filtra $0,45 \mu\text{m}$ Millex[®]-HV (Millipore). Do rozdzielania i identyfikacji związków fenolowych stosowano chromatograf firmy PerkinElmer seria 200 z detektorem Diode Array Detektor (DAD). Rozdział prowadzono z zastosowaniem kolumny LiChroCART[®] 125-3 (Merck KGaA), przy prędkości przepływu $1 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$. Temperatura termostataowania kolumny wynosiła 22°C . Fazę ruchomą stanowiła mieszanina woda (A) : kwas mrówkowy (B) : acetonitryl (C) o zmiennych parametrach gradientu A i C. Identyfikacji związków fenolowych dokonywano na podstawie czasu retencji porównywanego ze wzorcem oraz przy użyciu zbieranych przez DAD „widm” UV (spektrum w zakresie 200-700). Zawartość związków fenolowych podano w $\text{mg}\cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ soku.

Dodatkowo przeprowadzono oznaczenie zawartości kwasu askorbinowego w surowcu oraz sokach bezpośrednio po wyprodukowaniu. Oznaczanie wykonano wg PN-A-04019 [16]. Wyniki wyrażano $\text{mg}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ surowca lub $\text{mg}\cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ soku.

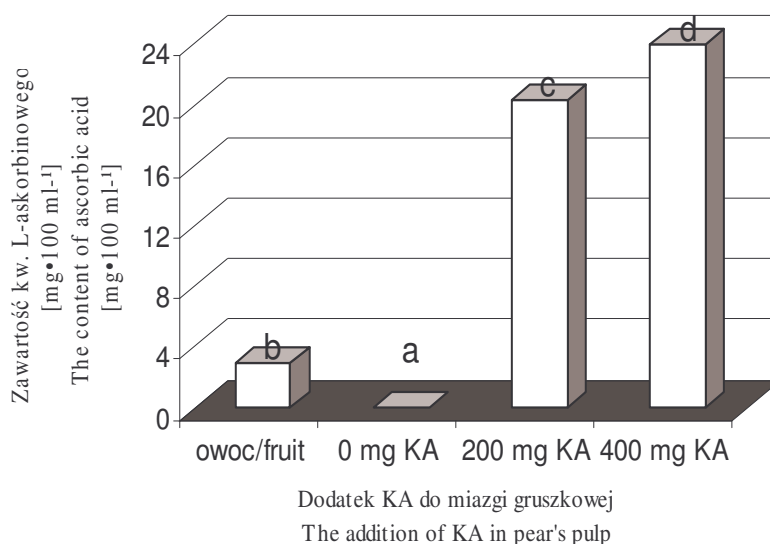
Wyniki doświadczenia opracowano statystycznie przy użyciu dwuczynnikowej analizy wariancji w układzie losowym. Ocenę istotności wpływu poszczególnych czynników przeprowadzono na podstawie testu F Fishera-Snedecora. Do porównań

wartości średnich posłużono się różnicami granicznymi obliczonymi przy użyciu testu Tuckey'a, przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Gruszki nie są bogatym źródłem kwasu askorbinowego, jego zawartość w owocach gruszy odmiany Konferencja wynosiła $2,9 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$.

Analiza statystyczna wyników bezpośrednio po produkcji soków wykazała, że dodatek kwasu L-askorbinowego do miazgi wpływał istotnie na jego zawartość w soku. Wraz ze wzrostem dodawanego kwasu L-askorbinowego istotnie wzrastała zawartość tego kwasu w soku. W sokach gruszkowych wyprodukowanych bez dodatku kwasu L-askorbinowego do miazgi nie stwierdzono jego obecności, natomiast zgodnie z oczekiwaniami soki z dodatkiem 400 mg suplementu wykazywały jego najwyższą zawartość (rys. 1).



Rys. 1. Zawartość kwasu L-askorbinowego w sokach w zależności od dodatku kwasu L-askorbinowego (KA) do miazgi gruszkowej [$\text{mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ soku].

Fig. 1. The content of ascorbic acid of pears juices depending on the addition of L-ascorbic acid (KA) in pear's pulp [$\text{mg} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ of juice].

W sokach z gruszek odmiany Konferencja zidentyfikowano cztery kwasy fenolowe: p-hydroksybenzoesowy, chlorogenowy, p-kumarowy i synapinowy. Stwierdzono także obecność (-)epikatechiny (tab. 1). Zidentyfikowane związki są

typowe dla soków gruszkowych, co potwierdzają wcześniejsze doniesienia literaturowe [20, 22].

Decydujący wpływ na zawartość związków w sokach wywierał dodatek KA. Przeprowadzone badania wskazują, że zawartość kwasu chlorogenowego zależy głównie od stopnia zabezpieczenia tego związku przed procesami enzymatycznego utlenienia czy też hydrolizy. Poziom kwasu chlorogenowego w sokach bezpośrednio po produkcji wynosił, w zależności od ilości dodanego KA, od 8,64 do 26,88 mg·100 ml⁻¹ soku. Zawartość kwasu p-hydroksybenzoesowego, p-kumarowego, synapinowego i epikatechiny była niska i zawierała się w zakresie od 0,15 do 3,67 mg·100 ml⁻¹ soku.

Tabela 1

Zawartość związków fenolowych w sokach gruszkowych w zależności od dodatku kwasu L-askorbinowego (KA) do miazgi gruszkowej oraz okresu przechowywania soków [mg·100 ml⁻¹]
The content of phenolic compounds of pears juices depending on the addition of L-ascorbic acid (KA) in pear's pulp and storage duration juices [mg·100 ml⁻¹]

Dodatek KA [mg·kg ⁻¹ gruszek] Addition KA [mg·kg ⁻¹ pear]	Okres przechowywania soków [tygodnie] Storage duration [week]					
	0	3	6	12	24	36
kwas p-hydroksybenzoesowy / hydroxybenzoic acid						
0	A 0,33 ab	A 0,49 b	AB 0,19 a	A 0,15 a	A 0,25 ab	A 0,16 a
200	B 0,78 b	B 1,08 c	A 0,10 a	A 0,14 a	A 0,14 a	A 0,08 a
400	C 3,67 c	B 1,02 b	B 0,41 a	A 0,36 a	A 0,16 a	A 0,17 a
kwas chlorogenowy / chlorogenic acid						
0	A 8,64 a	A 6,19 a	A 8,36 a	A 1,75 a	A 1,66 a	A 1,38 a
200	B 21,71 c	B 24,33 c	A 9,96 b	A 4,56 ab	A 6,24 ab	A 1,07 a
400	B 26,88 b	B 22,45 b	B 25,95 b	B 23,31 b	B 22,03 b	A 0,17 a
(-)epikatechina / (-)epicatechin/						
0	B 1,34 c	A 0,69 b	A 0,95 bc	A 0,44 ab	B 0,92 bc	A 0,05 a
200	A 0,87 ab	B 1,77 c	A 1,28 b	B 1,13 b	B 0,68 a	B 0,92 ab
400	B 1,25 b	A 0,96 b	A 1,17 b	B 0,89 b	A 0,10 a	C 1,29 b
p-kumarowy / p-coumaric acid/						
0	A 0,21 a	A 0,18 a	A 0,18 a	A 0,21 a	A 0,19 a	A 0,21 a
200	A 0,20 a	A 0,16 a	A 0,27 a	A 0,16 a	A 0,19 a	A 0,21 a
400	B 0,43 b	B 0,46 b	A 0,22 a	A 0,26 a	A 0,21 a	A 0,16 a
kwas synapinowy / synapic acid/						
0	A 0,15 b	A 0,00 a	A 0,00 a	A 0,00 a	A 0,00 a	A 0,00 a
200	B 0,26 c	C 0,24 bc	B 0,17 b	B 0,12 ab	B 0,12 ab	AB 0,05 a
400	A 0,18 b	B 0,13 ab	B 0,16 ab	C 0,18 b	B 0,16 ab	B 0,09 a

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartości średnie oznaczone taką samą dużą literą (w kolumnach) i małą literą (w wierszach) nie różnią się między sobą statystycznie istotnie przy $\alpha = 0,05$

Mean values followed by the same capital letter (vertically) and little letter (horizontally) do not differ at 5% level of significance

Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała istotny wpływ dodatku KA na zawartość związków fenolowych w sokach. Dodatek do miazgi owocowej KA w ilości 200 i 400 mg·kg⁻¹ gruszek ograniczał degradacją kwasów p-hydroksybenzoesowego i chlorogenowego w sokach. Zawartość (-)epikatechiny i kwasu synapinowego była istotnie wyższa przy dawce 200 mg·kg⁻¹ gruszek w porównaniu z sokiem kontrolnym tj. bez dodatku KA, zaś zwiększenie dodatku KA do ilości 400 mg·kg⁻¹ nie wpłynęło istotnie na zawartość tych związków w sokach. Natomiast na poziom kwasu p-kumarowego istotny wpływ obserwowano dopiero w sokach z dodatkiem KA w ilości 400 mg·kg⁻¹ gruszek. Podsumowując, można stwierdzić, że dodatek KA ograniczał degradacją związków fenolowych zachodzącą podczas tworzenia miazgi.

Wyniki dotyczące zmian zawartości związków fenolowych w czasie przechowywania soków wskazują, że po 36 tygodniach przechowywania soków pozostało w nich średnio od 5 do 68% początkowej zawartości badanych polifenoli. Po 3 tygodniach przechowywania soków stwierdzono istotne zmniejszenie poziomu kwasów p-hydroksybenzoesowego, p-kumarowego i synapinowego. Warto dodać, że po tym okresie przechowywania w sokach bez dodatku KA nie wykryto obecności kwasu synapinowego. Przechowywanie soków przez 6 tygodni wpłynęło istotnie na spadek poziomu kwasu p-hydroksybenzoesowego. Natomiast zawartość pozostałych kwasów i epikatechiny w sokach nie uległa istotnej zmianie. Zawartość kwasu chlorogenowego i epikatechiny uległa istotnej zmianie dopiero po 12 tygodniach przechowywania, w stosunku do początkowej zawartości tych związków w sokach bezpośrednio po produkcji. Po kolejnych 24 tygodniach przechowywania zaobserwowano istotne zmniejszenie zawartości kwasu p-kumarowego, a po 36 tygodniach kwasu chlorogenowego i synapinowego. Przyczyną strat zawartości kwasów fenolowych i epikatechiny w czasie przechowywania soków mogły być procesy chemicznego utleniania i związana z tym polimeryzacja i kondensacja utlenionych związków. Obserwowane straty tych związków są podobne do tych, jakie podają źródła literaturowe [2, 6, 7, 11, 12, 19, 20].

Wnioski

1. W naturalnie mętnych sokach z gruszek odmiany Konferencja stwierdzono występowanie kwasów: p-hydroksybenzoesowego, chlorogenowego, p-kumarowego, synapinowego oraz (-)epikatechiny.

2. Zastosowanie dodatku kwasu L-askorbinowego w sposób istotny wpłynęło na ograniczenie degradacji zawartości kwasu p-hydroksybenzoesowego i kwasu chlorogenowego w sokach.
3. Podczas przechowywania soków obserwowano zmniejszenie zawartości omawianych związków. Po 36 tygodniach przechowywania soków pozostało w nich średnio od 5 do 68% początkowej zawartości badanych polifenoli.
4. Analiza związków fenolowych może być przydatna do charakteryzowania soków gruszkowych oraz do wykrywania zafałszowań soków otrzymanych z półproduktów.

Literatura

- [1] Czapski J.: Technologia produkcji soków owocowych i warzywnych. Mat. Międzyn. Symp. "Fruit and Vegetable Juices and Drinks – Today and in the XXI Century", Ryto 1999, s. 139-147.
- [2] Chobot R.: Stabilizacja soków jabłkowych naturalnie mętnych przez obróbkę mechaniczną i techniczną moszczu. Przem. Spoż., 1985, **37 (9)**, 409-411.
- [3] Cliff M., Dever M.: Characterisation of varietal apple juice. Can Inst. Food Sci. Technol. J., 1990, **23 (4/5)**, 217-222.
- [4] Cliff M., Dever M.C., Gayton R.: Juice extraction process and apple cultivar influence on juice properties. J. Food Sci., 1991, **56 (6)**, 1614-1617, 1627.
- [5] Cornwell C.J., Wrolstad R.E.: Causes of browning in pear juice concentrate during storage. J. Food Sci., 1981, **46**, 515-518.
- [6] Dever M.C., Cliff M., Vento L.: Effect of apple storage on quality of non-oxidative juice. Can. Inst. Food Sci. Technol. J., 1991, **24 (5)**, 252-258.
- [7] Gasik A., Horubała A., Kubicz E.: Wpływ dodatku przeciwutleniaczy do miazgi jabłkowej na zawartość związków fenolowych w sokach. Przem. Spoż., 1991, **5/6**, 140-142.
- [8] Horubała A.: Pojemność przeciwutleniająca i jej zmiany w procesach przetwarzania owoców i warzyw. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 1999, **3**, 30-31.
- [9] Lozano J.E., Drudis-Biscarri R., Ibarz-Ribas A.: Enzymatic browning in apple pulps. J. Food Sci., 1994, **59 (3)**, 564-567.
- [10] Markowski J.: Wybrane czynniki warunkujące jakość naturalnie mętnych soków jabłkowych. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 1997, **10**, 37-39.
- [11] Markowski J., Plocharski W.: Determination of phenolic compounds in apples and processed apple products. J. Fruit Orn. Plant Res. Special ed., 2005, 93-104.
- [12] Markowski J.: Some parameters affecting quality and stability of cloudy apple juice. Fruit Proc., 1998, **7**, 277-282.
- [13] Mitek M., Kalisz S.: Współczesne poglądy na właściwości przeciwutleniające soków owocowych i warzywnych. Przem. Spoż., 2003, **5**, 37-39.
- [14] Oszmiański J., Sożyński J.: Wpływ sposobu otrzymywania soku jabłkowego na zawartość polifenoli i barwę. Zesz. Nauk. AR Wrocław, Technol. Żywności, 1981, **136 (2)**, 57-62.
- [15] Oszmiański J.: Soki naturalnie mętne - dobry kierunek w przetwórstwie jabłek. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2006, **2**, 20-22
- [16] PN-90/A-75101/04. Produkty spożywcze. Oznaczanie zawartości witaminy C.

- [17] Roig MZ.S., Kennedy J.F.: L-ascorbic acid: an overview. *Int. J. Food Nutr.*, 1993, **44**, 59-72.
- [18] Sapers G.M., Hicks K.B., Philips J.B., Garzarella L., Pondish D.L., Matulaitis R.M., McCormack T.J., Sondey S.M., Seib P.A., El-Ataway Y.S.: Control of enzymatic browning in apple with ascorbic acid derivatives poluphenol oxidase inhibitors, and complexing agent. *J. Food Sci.*, 1989, **54** (4), 997-1002.
- [19] Spanos G.A., Wrolstad R.E., Hestherbell D.A.: Influence of processing and storage on the phenolic composition of apple juice. *J. Agric. Food Chem.*, 1990, **38**, 1572-1579.
- [20] Spanos G.A. i Wrolstad R.E.: Influence of variety, maturity, processing, and storage on the phenolic composition of pear juice. *J. Agric. Food Chem.*, 1990, **38**, 817-824.
- [21] Spanos G.A. i Wrolstad R.E.: Influence of processing and storage on the phenolic composition of thompson seedless grape juice. *J. Agric. Food Chem.*, 1990, **38**, 1565-1571.
- [22] Tanriöven D., Ekşi A.: Phenolic compounds in pear juice from different cultivars. *Food Chem.*, 2005, **93**, 89-93.

EFFECT OF ADDITION L-ASCORBIC ACID IN PULP ON POLYPHENOLS CONTENT IN PEARS JUICES

S u m m a r y

The aim of the study was evaluating the effects of addition L-ascorbic acid in pulp on polyphenols content in pear juices.

The materials for the study involves samples of fruit juice obtained from pear cultivar Conference. The pears were harvested at commercial maturity. The steps involved in the processing of the raw material are picking, washing, filtering, grinding (with addition ascorbic acid 0, 200, 400 mg·kg⁻¹ pears), pressing, bottling, sealing, pasteurisation and cooling (to 20°C) in order. After manufacturing juices were stored for 3, 6, 12, 24 i 36 weeks in temperature 20°C.

The phenolic content of pears juices using the HPLC technique were analyzed. The results indicated that p-hydroxybenzoic acid, chlorogenic acid, (-)-epicatechin, p-cumaric acid, synapic acid. The study proved that the ascorbic acid dose influenced on increasing individual phenolic acid. Storage duration of pears juices resulted losses polyphenols content in juices.

Key words: cloudy pear juice, polyphenols, HPLC, ascorbic acid ☒