

ELŻBIETA KLIMCZAK, ELŻBIETA ROZPARA, BOGUSŁAW KRÓL

ROZMIESZCZENIE ELAGOTANIN W SOKU, MIĄŻSZU I NASIONACH JAKO DODATKOWE KRYTERIUM OPTIMALNEGO ZAGOSPODAROWANIA TRUSKAWEK

Streszczenie

Celem pracy było określenie rozmieszczenia kwasu elagowego i elagotanin pomiędzy najważniejsze strumienie masy procesu przetwarzania owoców truskawek na soki, z wykorzystaniem preparatu pektynolitycznego. Doświadczenia wykonano w skali laboratoryjnej z użyciem owoców truskawek odmiany Honeoye, która zaliczana jest do najlepszych odmian towarowych w uprawie ekologicznej i integrowanej. Oznaczenie zawartości kwasu elagowego i sanguiny H-6 wykonano metodą HPLC. Wykazano, że w procesie laboratoryjnego otrzymywania soku truskawkowego przechodzi do niego średnio 1/3 wolnego kwasu elagowego i prawie połowa kwasu elagowego uwolnionego z cząsteczek elagotanin. Pozostała ilość kwasu elagowego wolnego i uwolnionego znajduje się w miąższu i nasionach, w stosunku 2 : 1. Wyszuszony miąższ, powstający w ilości 1,2 % masy przerabianego surowca, w 100 g s.m. zawierał 73 mg wolnego kwasu elagowego, 855 mg sanguiny H-6 i 1030 mg kwasu elagowego uwolnionego. Wykazano, że suche nasiona, stanowiące 1 % masy surowca, zawierały podobną ilość wolnego kwasu elagowego oraz istotnie mniejszą ilość uwolnionego kwasu elagowego (710 mg/100 g s.m.). W nasionach zawartość sanguiny H-6 wynosiła około 450 mg/100 g s.m. i była niemal dwukrotnie mniejsza niż w miąższu.

Słowa kluczowe: truskawki, sok truskawkowy, miąższ, nasiona truskawek, elagotaniny, kwas elagowy

Wprowadzenie

Przetwórstwo truskawek do produkcji przecierowych i zagęszczonych soków ocenia się na poziomie 30 tys. ton rocznie [16]. Szacuje się, że w procesie produkcji soku powstaje 10 – 15 % wytloków w przeliczeniu na owoce. Zgodnie z prawem ochrony środowiska wszystkie wytloki powinny być zagospodarowane lub przeznaczone do odzysku [16, 17, 27]. Możliwości odzysku cennych składników z wytloków jest wiele (źródło polifenoli i błonnika pokarmowego, otrzymywanie ekstraktów ole-

Mgr inż. E. Klimczak, prof. dr hab. B. Król, Instytut Chemicznej Technologii Żywności, Wydz. Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź, dr E. Rozpara, Instytut Ogródnictwa, Zakład Odmianoznawstwa, Zasobów Genowych i Szkółkarstwa, ul. Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice

jowych bogatych w nienasycone kwasy tłuszczowe, źródło związków pektynowych). Skład błonnika pokarmowego oraz aktywność antyoksydacyjna są najczęstszym kryterium wyboru sposobu utylizacji wyłoków owocowych [1, 5, 14, 15]. Od niedawna wyłoki truskawkowe są postrzegane jako źródło nasion do produkcji oleju metodą ekstrakcji nadkrytycznej [22].

W wielu europejskich krajach strefy klimatu umiarkowanego truskawki, obok malin i jeżyn, są głównym źródłem kwasu elagowego i elagotanin. Kwas elagowy w owocach truskawek występuje w postaci aglikonu, glikozydów i wielkocząsteczkowych elagotanin. Elagotaniny są estrami monosacharydu (zwykle β -D-glukozy) i kwasu heksahydroksydifenylowego. Elagotaniną charakterystyczną dla owoców truskawek jest sanguina H-6, tj. dimer β -1-O-galloilo-2,3:4,6-bis-heksahydroksydifenilo-D-glukozy. Jedną z cech elagotanin jest ich zdolność do hydrolizy w środowisku kwaśnym [6, 23, 26]. Następstwem hydrolizy elagotanin w przewodzie pokarmowym jest wydłużone uwalnianie kwasu elagowego do krwi [6, 13]. Kwas ten może być uznawany jako chemiczny marker obecności tanin hydrolizujących w surowcach roślinnych, a także biomarker w badaniach biodostępności elagotanin dostarczanych z dietą [23]. Częsteczki wolnego kwasu elagowego w przewodzie pokarmowym przekształcane są w glukuronid kwasu dimetyloelagowego. Związek ten metabolizowany jest przez mikroflorę jelita grubego do pochodnych hydroksy-6H-dibenzopiran-6-onu (glukuronidu 3,8-dihydroksy-6H-dibenzo- β -D-piran-6-onu i jego aglikonu urolityny A, glukuronidu hydroksy-6H-dibenzo- β -D-piran-6-onu i jego aglikonu urolityny B oraz do glukuronidu 3,8,10-trihydroksy-6H-dibenzo- β -D-piran-6-onu). Urolityny włączane są do obiegu jelitowo-wątrobowego i niektóre z nich mają udowodnione działanie biologiczne, w tym jako analogi hormonów [3, 6, 9, 23, 24].

W literaturze przedmiotu znajdują się dane o zawartości kwasu elagowego i elagotanin w owocach truskawek [23, 26, 28] oraz w klarownych i mętnych sokach truskawkowych [20], natomiast informacje o zawartości kwasu elagowego i elagotanin w odpadach z przemysłowego przetwórstwa truskawek na soki są nieliczne [11]. Scharakteryzowanie profilu polifenoli nasion i miąższu truskawek umożliwi lepsze wykorzystanie odpadów z przetwórstwa truskawek na soki, jako źródła naturalnych przeciwutleniaczy [1, 11, 19].

Celem pracy było określenie rozmieszczenia kwasu elagowego i elagotanin, występujących w owocach truskawek, pomiędzy najważniejsze strumienie masowe procesu przetwarzania owoców na soki z wykorzystaniem preparatów enzymatycznych. Doświadczenia wykonano w skali laboratoryjnej z użyciem owoców truskawek odmiany Honeoye, która w warunkach polskich zaliczana jest do najlepszych odmian towarowych w uprawie ekologicznej i integrowanej.

Material i metody badań

Materiał do badań stanowiły owoce truskawek odmiany Honeoye zebrane w sezonie 2010, pochodzące z produkcji integrowanej, nadzorowanej przez Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa (obecnie Instytut Ogrodnictwa) w Skierniewicach. Owoce zebrano w fazie dojrzałości zbiorczej. Po myciu i szypułkowaniu owoce zamrażano i przechowywano w temp. $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, a w dalszej kolejności poddawano przerobowi na sok. Uzyskane w tym procesie: sok truskawkowy i wytloki truskawkowe, rozdzielone na frakcję o średnicy cząstek powyżej $0,8\text{ mm}$ (nasiona) oraz frakcję o średnicy cząstek poniżej $0,8\text{ mm}$ (miąższ) posłużyły jako materiał do dalszych badań. Materiałem do badań był również klarowny, zagęszczony sok truskawkowy, pochodzący z linii produkcyjnej zakładów przetwórstwa truskawek, z kampanii 2010 (składowany w warunkach chłodniczych). Sok ten zastosowano w celu weryfikacji stopnia odwzorowania rozmieszczenia kwasu elagowego i elagotanin w produktach przetwarzania truskawek uzyskanych w skali laboratoryjnej i przemysłowej.

Otrzymywanie soku z owoców truskawek

Truskawki w ilości 1000 g rozmrażano w ciągu 15 min w kuchence mikrofalowej (Daewoo KOG-6C37) wyposażonej w program „Rozmrażanie”, a następnie rozdrabniano w uniwersalnej maszynce do mielenia (Diana, Zelmer), używając sitka o średnicy oczek 5 mm . Rozdrobnioną miazgę truskawkową ogrzewano do temp. $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, dodawano preparat enzymatyczny Rohapect 10L (AB Enzymes, Poland) w dawce $0,3\text{ ml/kg}$ owoców i utrzymywano w tej temp. przez 45 min . Następnie miazgę dodatkowo rozdrabniano blenderem (Braun MR400) I bieg, przez 1 min . Miazgę przecierano przez sito o oczkach kwadratowych, o boku $0,8\text{ mm}$. W wyniku przecierania na sicie oddzielano mętny sok od nasion. Nasiona przemywano 50 ml wody destylowanej, ważono i suszono w suszarce konwekcyjnej w temp. $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez 2 h , uzyskując frakcję nasion. Sok mętny filtrowano pod zmniejszonym ciśnieniem przez przegrodę celulozową N40 (Hobart), uzyskując sok klarowny i miąższ. Miąższ przemywano 50 ml wody destylowanej, ważono i suszono w suszarce konwekcyjnej w temp. $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez 6 h , otrzymując frakcję miąższu. Sok ważono i refraktometrycznie oznaczano w nim zawartość pozornej suchej substancji. Podobne postępowanie jest polecane przez AOAC do oznaczania nasion w owocach jagodowych [10]. Zastosowanie wyżej opisanego postępowania pozwoliło wyodrębnić najważniejsze strumienie masowe w procesie przetwarzania truskawek na soki, tj. sok klarowny oraz frakcję nasion o średnicy cząstek powyżej $0,8\text{ mm}$ (nasiona) i frakcję miąższu o średnicy cząstek poniżej $0,8\text{ mm}$ (miąższ). Proces otrzymywania soku z owoców truskawek wykonywano w trzech powtórzeniach.

Chromatograficzna metoda oznaczania elagotanin w owocach, miąższu i nasionach

Badany materiał w postaci stałej, tj. mrożone owoce truskawek odmiany Honeoye oraz miąższ i nasiona, rozdrabniano w ciekłym azocie, w młynku laboratoryjnym (IKA A11B). Ekstrakcję elagotanin prowadzono sześciostopniowo z użyciem 70 % roztworu acetonu. Uzyskane ekstrakty glicerolowe przeznaczano do hydrolizy kwasowej elagotanin w sposób i w warunkach opisanych we wcześniejszej publikacji [11], tj. w 70 % wodnym roztworze glicerolu zawierającym kwas trójfluorooctowy (Fluka) w stężeniu 2 mol/l, w temp. 95 ± 1 °C, w ciągu 6 h. Roztwory po hydrolizie rozcieńczano metanolem i prowadzono analizę chromatograficzną.

W celu oznaczenia elagotanin w sokach do analizy używano po 5 ml klarownego soku o zawartości suchej substancji około 8 °Bx, który przenoszono do kolby destylacyjnej wyparki próżniowej i zatężano do sucha, po czym suchą pozostałość w kolbie rozpuszczano w 2 ml 70 % glicerolu. Uzyskane w ten sposób ekstrakty glicerolowe przeznaczano do hydrolizy kwasowej elagotanin [11], tj. w 70 % wodnym roztworze glicerolu zawierającym kwas trójfluorooctowy (Fluka) w stężeniu 2 mol/l, w temp. 95 ± 1 °C, w ciągu 6 h. Roztwory po hydrolizie rozcieńczano metanolem i prowadzono analizę chromatograficzną.

Zawartość wolnego kwasu elagowego i sanguiny H-6 oznaczano w roztworach glicerolowych przed wykonaniem hydrolizy. Po 0,5 ml powyższego roztworu umieszczano w kolbie o pojemności 5 ml, uzupełniano metanolem do kreski i poddawano analizie w układzie HPLC. Zawartość całkowitego kwasu elagowego oznaczano w roztworach po hydrolizie kwasowej. Ilość uwolnionego kwasu elagowego, w mg/100 g materiału, wyliczano z różnicy oznaczonych zawartości całkowitego i wolnego kwasu elagowego.

Powyższe postępowanie analityczne wykonywano w dwóch powtórzeniach z każdej badanej próbki materiału.

Do analizy chromatograficznej zastosowano chromatograf firmy Dionex z detektorem diodowym UV-DAD 340U. Rozdział prowadzono w kolumnie Phenomenex Gemini 5u C18 110A (250×4,60 mm; 5 µm). Kolumnę termostatowano w temp. 25 °C. Faza A – 0,05 % kwas fosforowy w wodzie, faza B – 0,05 % kwas fosforowy w acetonitrylu. Przepływ fazy ruchomej: 1,25 ml/min. Rozdział w układzie gradientowym: 0 - 5 min 4 % fazy B; 5 - 12,5 min 4 - 15 % fazy B; 12,5 - 42,5 min 15 - 40 % fazy B; 42,5 - 51,8 min 40 - 50 % fazy B; 51,8 - 53,4 min 50 - 55 % fazy B; 53,4 - 55 min 4 % fazy B. Objętość dozowanej próbki wynosiła 20 µl. Warunki detekcji: 280 nm (sanguina H-6) i 360 nm (kwas elagowy). Dane rejestrowane były za pomocą programu do rejestracji i obróbki danych chromatograficznych Chromeleon.

Substancje wzorcowe: kwas elagowy (Extrasynthese, Genay, Francja), sanguina H-6 o czystości 90 % (wyznaczona na podstawie analizy HPLC), wyekstrahowana

z owoców truskawek i wyodrębniona metodą chromatografii preparatywnej według poniższego postępowania.

Warunki preparatywnego wyodrębniania sanguiny H-6

Chromatografię preparatywną sanguiny H-6 prowadzono za pomocą chromatografu firmy Knauer złożonego z dwóch pomp (Knauer K-501) działających w systemie gradientowym, detektora UV-VIS (Knauer, Berlin, Niemcy), kolumny Phenomenex Luna 10u C18 100A (250×21,20 mm; 10 µm), kolektora frakcji FoxyR1 Teledyne ISCO (Lincoln, USA) oraz programu do wspomagania i rejestracji danych chromatograficznych Eurochrom. Faza A – 0,1 % kwas mrówkowy w wodzie, faza B – 80 % metanol. Przepływ fazy ruchomej: 15 ml/min. Rozdział w układzie gradientowym: 0 - 3 min 20 % fazy B; 3 - 20 min 20 - 35 % fazy B; 20 - 45 min 35 - 70 % fazy B; 45 - 50 min 70 % fazy B; 50 - 55 min 70 - 20 % fazy B; 55-60 min 20 % fazy B. Objętość dozowanej próbki wynosiła 500 µl. Warunki detekcji: 280 nm. Frakcje zawierające sanguinę H-6, zebrane z kilku rozdziałów, połączono, oddestylowano metanol i poddawano suszeniu sublimacyjnemu.

Wyniki badań poddano analizie statystycznej, stosując jednoczynnikową analizę wariancji oraz testy post-hoc Duncana na poziomie istotności $\alpha \leq 0,05$. Obliczenia wykonano w programie Statistica 9.

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono bilans materiałowy produkcji soku truskawkowego z rozdzieleniem nasion od miąższu.

Z 1 kg owoców, w skali laboratoryjnej, uzyskano średnio 850 ml klarownego soku truskawkowego o zawartości około 8,5 °Bx, ok. 8 g suchych nasion i prawie 12 g wysuszonego miąższu (tab. 1). Uwzględniając dane przedstawione w tab. 1. oraz zawartość ekstraktu w soku i suchej substancji w miąższu i nasionach można obliczyć, że sucha masa owoców, w opisanym doświadczeniu, rozkładała się pomiędzy główne strumienie masowe następująco: 79 % w soku, 13 % w miąższu i 8 % w nasionach. Blisko 21 % suchej masy owoców, pozostającej w miąższu i nasionach, nie jest obecnie wykorzystane, a w sprzyjających warunkach może być źródłem polifenoli, błonnika pokarmowego i oleju. W praktyce przemysłowej może to oznaczać wyprodukowanie z 1 tony owoców truskawek około 45 kg dobrze wyciśniętych świeżych wytlóków, które mogą być źródłem 5 kg nasion, z których w warunkach ekstrakcji nadkrytycznej można uzyskać 1 l wartościowego oleju [22].

Tabela 1

Bilans materiałowy w procesie otrzymywania soku truskawkowego.
Material balance of strawberry juice-making process.

Materiał Material	Materiał wilgotny Wet material [g ś.m. / f.w.]	Materiał suchy Dry material [g s.m. / d.m.]
Owoce truskawek Strawberry fruits	1016,0 ± 12,0	106,0 ± 1,3
Sok Juice	850,1 ± 20,2	73,0 ± 2,1
Miąższ Flesh	42,5 ± 6,1	11,6 ± 1,0
Nasiona Achenes	27,2 ± 4,2	7,6 ± 1,0
Suma (sok + miąższ + nasiona) Total (juice + flesh + achenes)	918,9 ± 15,0	92,2 ± 2,5

Wartość średnia ± odchylenie standardowe / Mean value ± standard deviation; n = 3

W owocach truskawek odmiany Honeoye, pochodzących z uprawy integrowanej, zawartość wolnego kwasu elagowego wynosiła 25,6 mg/100 g s.m. (tab. 2). Olsson i wsp. uzyskali duże zróżnicowanie zawartości wolnego kwasu elagowego w truskawkach odmiany Honeoye pochodzących z sezonu 1999 i 2000, odpowiednio 83 i 45 mg/100 g s.m. [18]. W badanych owocach zawartość, charakterystycznej dla truskawek, sanguiny H-6 wynosiła 200 mg/100 g s.m. W dostępnej literaturze dotychczas brak jest danych o zawartości tej elagotaniny w owocach truskawek. Zwykle w literaturze zawartość elagotanin wyraża się poprzez określenie ilości kwasu elagowego uwolnionego, często określanego również mianem związanego [1, 3, 7, 18, 26]. Ilość kwasu elagowego uwolnionego z cząsteczek elagotanin, metodą hydrolizy kwasowej, wynosiła 351 mg/100 g s.m., tj. 36,9 mg/100 g ś.m. owoców. Hakkinen i wsp. [8] uzyskali podobną zawartość kwasu elagowego oznaczonego po hydrolizie kwasowej (od 39,6 do 58,6 mg/100 g ś.m.) w sześciu odmianach truskawek. W truskawkach odmiany Honeoye, pochodzących z uprawy konwencjonalnej i ekologicznej, zawartość całkowitego kwasu elagowego, oznaczonego przez autorów, wynosiła odpowiednio 46,7 i 48,3 mg/100 g ś.m. [8]. Silva Pinto [26] podkreśla duże zróżnicowanie zawartości wolnego kwasu elagowego (0,6 - 2,6 mg/100 g ś.m.) i kwasu elagowego uwolnionego z wiązań estrowych cząsteczek elagotanin (17 - 47 mg/100 g ś.m.) w zależności od odmiany owoców truskawek. Do czynników determinujących zasobność truskawek w kwas elagowy i jego pochodne zaliczyć należy nie tylko odmianę, ale także warunki

klimatyczne (temperaturę, nasłonecznienie, opady) i glebowe (żyźność, nawożenie) [2, 20]. Wielu autorów [12, 21, 25, 27] podkreśla znaczący wpływ stopnia dojrzałości owoców na zawartość kwasu elagowego. Zielone owoce truskawek są szczególnie bogatym źródłem pochodnych kwasu elagowego, a jego ilość, oznaczona przez Willienera [28] i Kosara [12] jest od dwóch do sześciu razy większa niż w owocach o dojrzałości konsumpcyjnej.

Tabela 2

Zawartość wolnego i uwolnionego kwasu elagowego oraz sanguiny H-6 w owocach, soku, miąższu i nasionach truskawek.

Content of free and released ellagic acid and sanguin H-6 in strawberry fruits, juice, flesh, and achenes.

Materiał Material	Kwas elagowy wolny Free ellagic acid	Sanguina H-6 Sanguin H-6	Kwas elagowy uwolniony Released ellagic acid
	[mg/100 g sm. / d.m.]		
Owoce truskawek Strawberry fruits	26,5 ± 1,6 b (2,8 ± 0,2)	198,0 ± 5,9 b (20,8 ± 0,6)	351,2 ± 11,4 b (36,9 ± 1,2)
Sok* Juice*	9,3 ± 0,3 a (0,8 ± 0,05)	59,4 ± 1,0 a (5,1 ± 0,3)	186,3 ± 7,2 a (16,0 ± 0,6)
Miąższ Flesh	73,0 ± 5,3 d	855,1 ± 36,9 d	1030,2 ± 43,8 d
Nasiona Achenes	59,3 ± 2,8 c	446,0 ± 28,2 c	710,3 ± 20,1 c

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartość średnia ± odchylenie standardowe / Mean value ± standard deviation; n = 2

*Wartości umieszczone w nawiasach podano w mg/100 g ś.m. owoców lub mg/100 ml soku. / *Value in brackets are expressed as mg/100 g FW for fruits or as mg/100 ml of juice.

a, b, c – wartości w kolumnie oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie $\alpha \leq 0,05$ / values in the same column denoted by the same letter do not differ statistically significantly at $\alpha \leq 0.05$.

Zawartość wolnego i uwolnionego kwasu elagowego oraz sanguiny H-6 była istotnie różna w soku, miąższu i nasionach otrzymanych w procesie laboratoryjnego przetwarzania owoców na sok. W sokach klarownych, uzyskanych w skali laboratoryjnej, zawartość wolnego kwasu elagowego wynosiła średnio 0,8 mg/100 ml soku, a sanguina H-6 występowała w ilości 5,1 mg/100 ml soku. Ilość kwasu elagowego uwolnionego w wyniku hydrolizy wiązań estrowych w cząsteczkach elgotanin, w porównaniu z jego ilością przed hydrolizą, wzrosła dwudziestokrotnie i wynosiła

16,0 mg/100 ml soku. W soku zawartość wolnego kwasu elagowego i sanguiny H-6 była trzykrotnie, a kwasu elagowego uwolnionego jedynie dwukrotnie mniejsza niż w owocach. Wskazuje to, że do soku, oprócz wolnego kwasu elagowego i sanguiny H-6, przechodzą rozpuszczalne glikozydy i estry kwasu elagowego. Oszmiański [19] uzyskał znaczące różnice zawartości wolnego kwasu elagowego w klarownych i mętnych sokach truskawkowych oraz sokach zawierających cząstki owoców. W świeżych, klarownych sokach truskawkowych odmiany Senga Sengana, Elkat i Kent ilość kwasu elagowego wynosiła średnio 5,4 mg/l soku, w sokach mętnych 2,7 mg/l soku, a w sokach z cząstkami owoców 15,5 mg/l soku. W sokach z cząstkami owoców, po sześciomiesięcznym okresie przechowywania w temp. 4 °C, autor stwierdził dwukrotny wzrost zawartości kwasu elagowego w postaci aglikonu, w porównaniu z jego ilością w świeżym soku. Podobnej zależności nie obserwowano podczas przechowywania soków mętnych i klarownych. Wzrost zawartości kwasu elagowego w czasie przechowywania soków z cząstkami owoców autor tłumaczy stopniową hydrolizą elagotanin obecnych w nasionach i miąższu [19].

W warunkach procesu produkcji soku truskawkowego, w skali laboratoryjnej, z zastosowaniem preparatów enzymatycznych, znaczna część kwasu elagowego, sanguiny H-6 oraz innych form kwasu elagowego związanego pozostaje w miąższu i nasionach (tab. 2). W wysuszonym miąższu zawartość wolnego kwasu elagowego wynosiła 73,0 mg/100 g s.m. i była ośmiokrotnie większa niż w suchej masie soku. Kwas elagowy uwolniony stanowił nieznacznie ponad 1 % suchej masy miąższu. Miąższ jest bogatym źródłem, charakterystycznej dla owoców truskawek elagotaniny, sanguiny H-6. Jej zawartość w materiale wynosiła 855 mg/100 g s.m. Wysuszone nasiona są uboższe w pochodne kwasu elagowego niż miąższ. Zawartość wolnego kwasu elagowego w nasionach wynosiła 59,3 mg/100 g suchego materiału, a ilość sanguiny H-6 i kwasu elagowego uwolnionego była niemal dwukrotnie mniejsza niż w miąższu. Dane o zawartości kwasu elagowego wolnego i związanego w miąższu i nasionach, przedstawione w niniejszej pracy, są zgodne z wcześniejszymi wynikami autorów, odnoszącymi się do ich zawartości w wyciekach przemysłowych i odtłuszczonych nasionach [11]. Aaby i wsp. [1] wykazali znacznie większą zawartość kwasu elagowego i elagotanin, wyrażonych równoważnikiem kwasu galusowego, w wilgotnych nasionach wyodrębnionych ręcznie niż w mieszaninie miąższu i soku (puree). W nasionach wysuszonych sublimacyjnie autorzy wykazali, że zawartość elagotanin wynosiła 440 - 833 mg równoważnika kwasu galusowego/100 g, co jest wielkością zbliżoną do wyników uzyskanych w niniejszej pracy. Cheel i wsp. [4] scharakteryzowali owoce truskawek, ich miąższ i nasiona, pod względem zawartości sumy polifenoli, flawonoli i antocyjanów. Autorzy wskazali nasiona jako szczególnie bogate źródło związków polifenolowych oznaczonych metodą Folina-Ciocalteu'a. W nasionach truskawek suma polifenoli oznaczonych tą metodą wynosiła średnio 3,6 g/100 g s.m., w przeliczeniu na kwas

galusowy. Powszechnie wiadomo, że wyniki uzyskane metodą Folina-Ciocalteu'a są zawyżone w porównaniu z wielkościami uzyskanymi metodą HPLC i przez to nie są miarodajne.

W tab. 3. przedstawiono bilans wolnego kwasu elagowego, sanguiny H-6 i kwasu elagowego uwolnionego w procesie laboratoryjnego otrzymywania soku, uwzględniając ilość bioaktywnych substancji wprowadzoną do procesu z owocami truskawek, i ich ilość uzyskaną w objętości soku oraz masie miąższu i nasion (tab. 1 i 2.).

Tabela 3

Bilans pochodnych kwasu elagowego w soku, miąższu i nasionach otrzymanych z 1 kg owoców truskawek.

Balance of ellagic acid derivatives in juice, flesh, and achenes produced from 1 kg of strawberries.

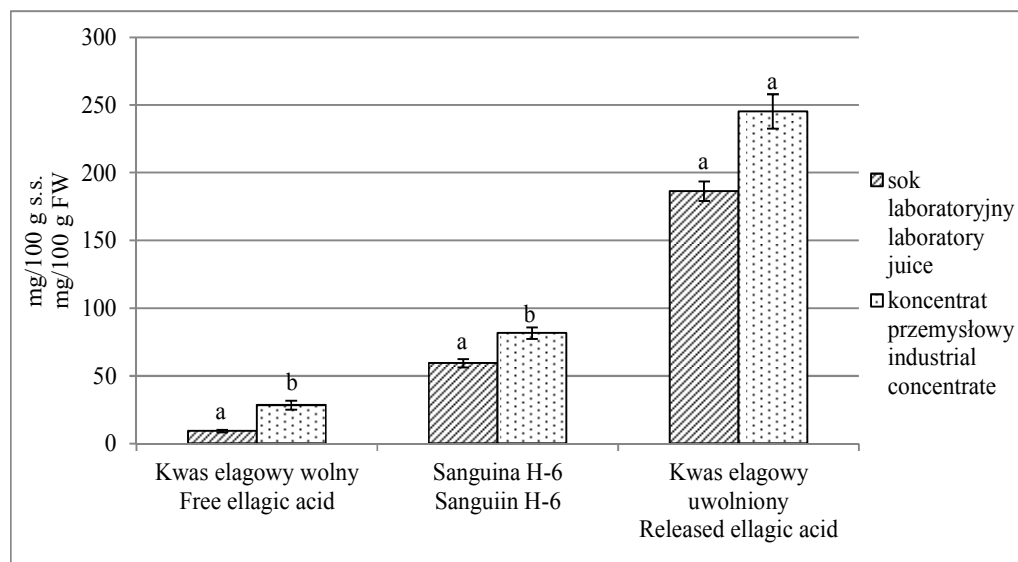
Materiał Material	Kwas elagowy wolny Free ellagic acid	Sanguina H-6 Sanguinin H-6	Kwas elagowy uwolniony Released ellagic acid	Udział w soku, miąższu i nasionach: Share in juice, flesh and achenes:		
				kwasu elagowego wolnego free ellagic acid	sanguiny H-6 sanguinin H-6	kwasu elagowego uwolnionego released ellagic acid
[mg]				[%]		
Owoce truskawek Strawberry fruits	28,3 ± 0,3 d	211,2 ± 2,5 d	374,7 ± 4,5 d	-	-	-
Sok Juice	6,8 ± 0,2 b	43,4 ± 1,0 b	136,0 ± 3,2 c	34	24	44
Miąższ Flesh	8,5 ± 0,7 c	99,2 ± 8,6 c	119,5 ± 8,3 b	43	56	38
Nasiona Achenes	4,5 ± 0,6 a	33,9 ± 4,5 a	54,0 ± 7,1 a	23	20	18
Suma (sok+miąższ+nasiona) Total (juice+flesh+achenes)	19,8 ± 1,2	176,5 ± 8,3	309,5 ± 12,3	100	100	100

Objaśnienia, jak pod tab. 2 / Explanatory notes as in Tab. 2.

Wykazano statystycznie istotne różnice w rozmieszczeniu pochodnych kwasu elagowego, wprowadzonych z surowcem, w laboratoryjnym procesie otrzymywania soku, pomiędzy sok, miąższ i nasiona truskawek. Analiza danych (tab. 3.) wskazuje, że w soku znajdowała się średnio 1/3 wolnego kwasu elagowego i prawie połowa kwasu

elagowego uwolnionego z cząsteczek elagotanin i glikozydów. Pozostała ilość kwasu elagowego wolnego i uwolnionego znajdowała się w miąższu i nasionach w proporcji 2 : 1. Miąższ zawierał ponad połowę wprowadzonej z surowcem ilości sanguiny H-6, a pozostała jej część znajdowała się w nasionach i soku, w ilości po około 40 mg z 1 kg przerobionych owoców.

W celu weryfikacji stopnia odwzorowania przemieszczania się kwasu elagowego i elagotanin w procesach prowadzonych w skali laboratoryjnej i przemysłowej, porównano zawartość pochodnych kwasu elagowego w próbkach uzyskanych soków oraz zagęszczonym soku, pochodzącym z linii produkcyjnej zakładów przetwórstwa truskawek. Dane przedstawione na rys. 1. wskazują na brak istotnych różnic pod względem zawartości kwasu elagowego uwolnionego w obu badanych sokach. Wykazano natomiast statystycznie istotne różnice zawartości wolnego kwasu elagowego i elagotanin w badanych sokach.



a, b, c – kolumny oznaczone tymi samymi literami dla poszczególnych związków nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie $\alpha \leq 0,05$ / columns denoted by the same letters as regards individual compounds do not differ statistically significantly at $\alpha \leq 0.05$

Rys. 1. Porównanie zawartości pochodnych kwasu elagowego w soku przemysłowym i uzyskanym w skali laboratoryjnej.

Fig. 1. Comparing content of ellagic acid derivatives in industrial juice and in juice produced in laboratory.

Wysuszone nasiona truskawek, powstające podczas produkcji soku, w ilości około 1 % w przeliczeniu na masę owoców, mogą być wykorzystane jako cenny surowiec

do otrzymywania oleju truskawkowego bogatego w kwas α -linolenowy. Mięsz z kolei może być rozpatrywany jako potencjalne, dobre źródło elagotanin do otrzymywania koncentratów, które mogą stać się składnikami suplementów diety.

Wnioski

1. W procesie produkcji soku truskawkowego z truskawek odmiany Honeoye można uzyskać około 1 % suchych nasion i 1,5 % wysuszonego miąższu, które charakteryzują się odmiennym udziałem wolnego i związanego kwasu elagowego oraz sanguiny H-6.
2. Podczas przetwarzania truskawek na sok, elagotaniny występujące w owocach w połowie przechodzą do soku, natomiast w miąższu pozostaje około 35 %, a w nasionach około 15 % tych substancji wprowadzonych do procesu z surowcem.
3. Zagospodarowanie miąższu i nasion zwiększy niemal o 50 % potencjał prozdrowotny owoców truskawek i pozwoli lepiej wykorzystać bioaktywne składniki, które mogą być przeznaczone do produkcji żywności funkcjonalnej lub suplementów diety.

Literatura

- [1] Aaby K., Skrede G., Wrolstad R. E.: Phenolic composition and antioxidant activities of flesh and achenes of strawberries (*Fragaria ananassa*). J. Agric. Food Chem., 2005, **53**, 4032-4040.
- [2] Cardenunsi B.R., Nascimento J.B.O., Genovese M.I., Lajolo F.M.: Influence of cultivar on quality parameters and chemical composition of strawberry fruits grown in Brazil. J. Agric. Food Chem., 2002, **50**, 2581-2586.
- [3] Cerda B., Thomas-Barberan F. A., Espin J. C.: Metabolism of antioxidant and chemopreventive ellagitannins from strawberries, raspberries, walnuts and oak-aged wine in humans: identification of biomarkers and individual variability. J. Agric. Food Chem., 2005, **53**, 227-235.
- [4] Cheel J., Theoduloz C., Rodriguez J.A., Caligari P.D.S., Schmeda-Hirschmann G.: Free radical scavenging activity and phenolic content in achenes and thalamus from *Fragaria chiloensis* ssp. *Chiloensis*, *F. vesca* and *F. x ananassa* cv. Chandler. Food Chem., 2007, **102**, 36-44.
- [5] Fronc A., Nawirska A.: Możliwości wykorzystania odpadów z przetwórstwa owoców. Ochrona Środowiska, 1994, **2 (53)**, 31-32.
- [6] Gonzalez-Barrio R., Truchado P., Ito H., Espin J.C., Tomas-Barberan F.A.: UV and MS identification of urolithins and nasutins, the bioavailable metabolites of ellagitannins and ellagic acid in different mammals. J. Agric. Food Chem., 2011, **59 (4)**, 1152-1162.
- [7] Hakkinen S.H., Karenlampi S.O., Mykkanen H.M., Heinonen I.M., Torronen A.R.: Ellagic acid content in berries: influence of domestic processing and storage. Eur. Food Res. Technol., 2000, **212**, 75-80.
- [8] Hakkinen S.H., Törrönen A.R.: Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and Vaccinium species: influence of cultivar, cultivation site and technique. Food Res. Int. 2000, **33**, 517-524.

- [9] Heber D.: Multitargeted therapy of cancer by ellagitannins. *Cancer Letters*, 2008, **269**, 262-268.
- [10] Horwitz W., Latimer G.W.: *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 18th Edition, 2007, 37.1.14.
- [11] Klimczak E., Król B.: Oznaczanie zawartości różnych form kwasu elagowego w ubocznych produktach przerobu truskawek. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **4 (71)**, 81-94.
- [12] Kosar M., Kafkas F., Paydas S., Baser K.H.C.: Phenolic composition of strawberries genotypes at different maturation stages. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 1586-1589.
- [13] Larrosa M., Garcia-Conesa M.T., Espin J.C., Tomas-Barberan F.A.: Ellagitannins, ellagic acid and vascular health. *Molecular Aspect of Meidcine*, 2010, **31**, 513-539.
- [14] Nawirska A., Kwaśniewska M.: Dietary fibre fractions from fruit and vegetable processing waste. *Food Chem.*, 2005, **91**, 221-225.
- [15] Nawirska A., Kwaśniewska M.: Frakcje błonnika w wyłokach z owoców. *Acta Scientiarum Polonorum*, 2004, **3 (1)**, 13-20.
- [16] Nawirska A., Sokół-Lętowska A., Kucharska A.Z.: Właściwości przeciwutleniające wyłoków z wybranych owoców kolorowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **4 (53)** 120-125.
- [17] Nawirska A.: Zagospodarowanie odpadów z przemysłu owocowo-warzywnego. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2007, **10**, 44-46.
- [18] Olsson M.E., Ekvall J., Gustavsson K.E., Nilsson J., Pillai D., Sjöholm I., Svensson U., Akesson B., Nyman M.G.L.: Antioxidants, low molecular weight carbohydrates, and total antioxidant capacity in strawberries (*Fragaria x ananasa*):effect of cultivar, ripening, and storage. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 2490-2498.
- [19] Oszmiański J., Wojdyło A.: Comparative study of phenolic content and antioxidant activity of strawberry puree, clear and cloudy juices. *Eur. Food Res. Technol.*, 2009, **228**, 623-631.
- [20] Oszmiański J.: Soki owocowe o wysokiej aktywności biologicznej. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2007, **4**, 12-16.
- [21] Pineli L., Moretti C.L., Santos M.S., Campos A.B., Brasileiro A.V., Cardova A.C., Chiarello M.D.: Antioxidants and other chemical and physical characteristics of two strawberry cultivars at different ripeness stages. *J. Food Compos. Anal.*, 2011, **24**, 11-16.
- [22] Rój E., Dobrzyńska-Inger A., Kostrzewa D., Kołodziejczyk K., Sójka M., Król B., Miszczak A., Markowski J.: Otrzymywanie ekstraktów olejowych z nasion owoców jagodowych z wykorzystaniem CO₂ w warunkach nadkrytycznych. *Przem. Chem.*, 2009, **88/12**, 1325-1330.
- [23] Seeram N.P., Lee R., Heber D.: Bioavailability of ellagic acid in human palsam after consumption of ellagitannins from pomegranate (*Punica granatum L.*). *Clinica Chimica Acta*, 2004, **348**, 63-68.
- [24] Seeram N.P., Lee R., Scheller S., Heber D.: Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy. *Food Chem.*, 2006, **97**, 1-11.
- [25] Shin Y., Ryu J., Liu R.H., Nock J.F., Watkins C.B.: Harvest maturity, storage temperature and relative humidity affect fruit quality, antioxidant contents and activity, and inhibition of cell proliferation of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 2008, **49**, 201-209.
- [26] Silva Pinto M., Lajolo F.M., Genovese M.I.: Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananasa* Duch). *Food Chem.*, 2008, **107**, 1629-1635.
- [27] Ustawa z dnia 27 kwietnia 2001 r. o odpadach. *Dz. U.* 2001. Nr 62, poz. 628.
- [28] Williner M.R., Pirovani M.E., Guemes D.R.: Ellagic acid content in strawberries of different cultivars and ripening stages. *J. Sci. Food Agric.*, 2003, **83**, 842-845.

DISTRIBUTION OF ELLAGITANNINS IN JUICE, FLESH, AND ACHENES AS ADDITIONAL CRITERION FOR OPTIMAL UTILIZATION OF STRAWBERRIES**S u m m a r y**

The objective of the research experiment was to determine the distribution of ellagic acid and ellagitannins in the main material streams during the strawberry fruit juice-making process, with the application of a pectinolytic preparation. The laboratory-scale experiments were performed using fruits of a “Honeoye” strawberry cultivar counted among the best commercial strawberry cultivars from the point of view of the integrated and organic cultivation. The ellagic acid and sanguiin H-6 were determined using an HPLC method. It was proved that during the laboratory-scale process of strawberry juice-making, about 1/3 of the free ellagic acid and almost one half of the ellagic acid released from ellagitannin particles were transferred into the juice. The remaining content of the free and released ellagic acid was contained in the flesh and achenes in a 2 : 1 ratio. The dried flesh produced, its amount being 1.2 % of the raw material weight, contained 73 mg of free ellagic acid, 855 mg of sanguiin H-6, and 1030 mg of the released ellagic acid in 100 g of d.m. It was shown that the dried achenes, constituting 1 % of the raw material weight, contained a similar quantity of free ellagic acid and a significantly lower amount of the released ellagic acid (710 mg/100 g d.m.). The content of sanguiin H-6 in the achenes was ca. 450 mg/100 g d.m. and was almost two times lower than in the flesh.

Key words: strawberries, strawberry juice, flesh, strawberry achenes, ellagitannins, ellagic acid ☒