

**Ocena możliwości zastosowania owoców
pigwy pospolitej w produkcji przetworów
o wysokiej zawartości polifenoli
i aktywności przeciwutleniającej**

ANETA WOJDYŁO

*Ocena możliwości zastosowania owoców
pigwy pospolitej w produkcji przetworów
o wysokiej zawartości polifenoli
i aktywności przeciwutleniającej*



WROCLAW 2011

Autor
Aneta Wojdyło

Opiniodawca
prof. dr hab. inż. Ryszard Zadernowski

Redaktor merytoryczny
prof. dr hab. Ewelina Dziuba

Opracowanie redakcyjne
dr Ewa Jaworska

Korekta
mgr Elżbieta Winiarska-Grabosz

Łamanie
Teresa Alicja Chmura

Projekt okładki
Halina Sebzda
autor zdjęcia Michał Janiak

Monografie CXVIII

© Copyright by Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław 2011

ISSN 1898–1151
ISBN 978–83–7717–039–7

WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU PRZYRODNICZEGO WE WROCŁAWIU
Redaktor Naczelny – prof. dr hab. Andrzej Kotecki
ul. Sopocka 23, 50–344 Wrocław, tel. 71 328–12–77
e-mail: wyd@up.wroc.pl

Nakład 100 + 16 egz. Ark. wyd. 11,2. Ark. druk. 10,25
Druk i oprawa: F.P.H. „ELMA”

1. WSTĘP	7
1.1. Znaczenie owoców i warzyw w profilaktyce chorób cywilizacyjnych	7
1.2. Substancje biologicznie aktywne owoców i warzyw	8
1.3. Struktura związków polifenolowych i ich funkcje	12
1.4. Wpływ procesów technologicznych na zawartość związków polifenolowych w żywności ze szczególnym uwzględnieniem produkcji soków i przecierów	15
1.5. Pigwa pospolita (<i>Cydonia oblonga</i> Miller) i jabłka (<i>Malus domestica</i> Borkh.) jako surowiec do przetwórstwa	19
2. CEL BADAŃ	22
3. ORGANIZACJA CZĘŚCI EKSPERYMENTALNEJ PRACY	23
3.1. Materiał badawczy i zakres badań	23
3.2. Etap I. Identyfikacja i badanie biosyntezy związków polifenolowych owoców pigwy pospolitej	24
3.3. Etap II. Ocena przydatności owoców pigwy pospolitej w przetwórstwie	26
3.4. Etap III. Aktywność przeciwnowotworowa preparatów polifenolowych z owoców pigwy pospolitej i jabłek	27
3.5. Metody analiz	33
3.6. Statystyczne opracowanie wyników	35
4. OMÓWIENIE WYNIKÓW	36
4.1. Identyfikacja i analiza biosyntezy związków polifenolowych owoców pigwy pospolitej	36
4.1.1. Identyfikacja związków polifenolowych owoców pigwy pospolitej ze szczególnym uwzględnieniem proantocyjanidyn	36
4.1.2. Porównanie aktywności genów kodujących enzymy szlaku syntezy związków polifenolowych w owocach pigwy pospolitej i jabłkach	42
4.1.3. Zawartość związków polifenolowych w owocach pigwy pospolitej w trakcie wzrostu	43
4.1.4. Skład chemiczny i właściwości przeciwutleniające wybranych odmian owoców pigwy pospolitej	47
4.2. Ocena przydatności owoców pigwy pospolitej do przetwórstwa w porównaniu z jabłkami	51
4.2.1. Dobór inhibitora utleniania enzymatycznego podczas technologicznej obróbki surowca	51
4.2.2. Dobór preparatów enzymatycznych do maceracji miazgi z owoców pigwy pospolitej w produkcji soku	58
4.2.3. Ocena możliwości otrzymania soków mętnych z owoców pigwy pospolitej w porównaniu z jabłkami	64
4.2.4. Porównanie cech fizykochemicznych i organoleptycznych soków i przecierów mieszanych otrzymanych z owoców pigwy pospolitej i jabłek z udziałem innych owoców	71
4.3. Aktywność przeciwnowotworowa owoców pigwy pospolitej i jabłek	113

5. DYSKUSJA NAD WYNIKAMI	115
5.1. Skład chemiczny owoców pigwy pospolitej.....	115
5.2. Wartość technologiczna owoców pigwy pospolitej.....	122
5.3. Właściwości prozdrowotne owoców pigwy ze szczególnym uwzględnieniem właściwości przeciwnowotworowych	137
6. PODSUMOWANIE I WNIOSKI.....	139
7. LITERATURA	142

1. WSTĘP

1.1. Znaczenie owoców i warzyw w profilaktyce chorób cywilizacyjnych

W Polsce występują w stopniu wyższym niż w pozostałych krajach europejskich choroby układu krążenia i nowotworowe, obserwuje się także wzrost zachorowalności na inne schorzenia powstające na tle wadliwego żywienia [Biernat 2001]. W ostatnich latach prawie 80% zgonów w Polsce było wynikiem tzw. chorób cywilizacyjnych, w tym chorób układu krążenia – ok. 48% i nowotworów złośliwych – ok. 24% [Wolski i wsp. 2004]. Szacuje się, że w Polsce w 2025 r. będzie ok. 8 mln mieszkańców w wieku poprodukcyjnym, tj. o 2 mln więcej niż obecnie, co oznacza starzenie się społeczeństwa, a tym samym wzrośnie odsetek osób dotkniętych chorobami cywilizacyjnymi, gdyż ludzie starsi częściej na nie zapadają.

Dlatego też wraz z postępującym rozwojem badań nad fizjologią żywienia i dietetyką oraz dzięki wzrostowi świadomości konsumentów zauważa się powszechne zainteresowanie żywnością o cechach prozdrowotnych. Dodatkowo, świadomi konsumenci poszukują racjonalnych metod zwiększenia odporności organizmu w połączeniu z regulacją ważnych procesów fizjologicznych, których głównym celem jest osiągnięcie dobrostanu fizycznego i psychicznego oraz spowolnienie procesów starzenia się organizmu [Grajek 2004].

Badania epidemiologiczne wskazują na szczególnie duży i korzystny wpływ spożywania owoców, warzyw i ich przetworów. Stanowią one bogate źródło substancji pozytywnie oddziałujących na zdrowie człowieka. Należy podkreślić, że nie można ich udziału w diecie zastąpić nutraceutykami, tj. substancjami oczyszczonymi i spożywanymi w postaci tabletek i kapsulek, gdyż w takiej postaci często są mniej skuteczne z powodu braku zbilansowania i synergizmu występującego w owocach i warzywach.

Do substancji korzystnie oddziałujących na zdrowie człowieka zaliczamy między innymi błonnik pokarmowy, oligosacharydy, aminokwasy, peptydy, białka, witaminy, składniki mineralne, wielonienasycone kwasy tłuszczowe oraz substancje fitochemiczne, w tym polifenole. Bogatym źródłem większości z tych substancji są owoce i warzywa, których spożycie w ostatnich latach rośnie [Borowska 2003 a,b, Troszyńska i wsp. 2002, Rynek owoców i warzyw 2010]. Będąc zatem stałym składnikiem diety człowieka, owoce i warzywa mogą bezpośrednio lub pośrednio wpływać na utrzymanie homeostazy organizmu. Ich szczególne znaczenie w przeciwdziałaniu i zwalczaniu schorzeń dieto-

pochodnych wynika głównie z faktu, iż są one bogatym źródłem antyoksydantów żywnościowych, do których zalicza się prowitaminę A, witaminę C, witaminę E oraz związki polifenolowe. Liczne badania naukowe ostatnich lat wskazują na znaczącą rolę owoców i warzyw w profilaktyce oraz leczeniu chorób o charakterze degeneracyjnym, m.in. miażdżycy naczyń tętniczych, nadciśnienia, udaru mózgu, cukrzycy, otyłości, przewlekłych schorzeń neurologicznych (w tym choroby Alzheimera), artretyzmu, zaćmy oraz przewlekłej choroby płuc [Ness i Powles 1996, Joshipura i wsp. 2001, Hung i wsp. 2004, Bazzano i wsp. 2002, Moshfgh 1998, Visioli i wsp. 2000]. Obserwacje epidemiologiczne oraz eksperymentalne dostarczają dowodów na istotną korelację między dietą zawierającą duże ilości związków o właściwościach przeciwutleniających zawartych w owocach i warzywach a zachorowalnością na nowotwory następujących narządów: jamy ustnej, gardła, krtani, przełyku, żołądka, jelita grubego, trzustki, jajników i gruczołu piersiowego [Vrieling i wsp. 2009, Gonzalez 2006]. Za uniwersalny mechanizm powstawania tych schorzeń uznane zostały procesy wolnorodnikowe, w wyniku których następują w tkankach organizmu człowieka zmiany niedokrwienne, martwicze i zwyrodnieniowe. Wolne rodniki tlenowe (ROS) reagują w niespecyficzny sposób ze składnikami komórek, modyfikując je i uszkadzając.

Warzywa i owoce zaliczane są do żywności niskokalorycznej, gdyż zawierają znaczne ilości wody oraz niewielkie ilości składników energetycznych. Znajdujące się w nich węglowodany to przede wszystkim błonnik i łatwo przyswajalne cukry. Dla organizmu ludzkiego warzywa i owoce są źródłem witamin, polifenoli oraz składników mineralnych. Składniki mineralne warzyw i owoców służą nie tylko do budowy tkanek i komórek, lecz są również nieodzowne w procesie należytego funkcjonowania ustroju, wpływając na utrzymanie równowagi kwasowo-zasadowej.

Według opublikowanego w 2003 r. raportu WHO niedostateczne spożycie urozmaiconego asortymentu warzyw i owoców jest przyczyną ok. 31% zachorowań na chorobę wieńcową oraz 11% przypadków udarów mózgu w skali świata. Szacuje się, że zwiększone spożycie tych produktów przyczyniłoby się do redukcji globalnego ryzyka rozwoju nowotworów układu pokarmowego o ok. 20–30% [WHO 2003].

1.2. Substancje biologicznie aktywne owoców i warzyw

Wśród substancji biologicznie aktywnych owoców i warzyw dużą rolę przypisuje się związkom polifenolowym. Jednym z pierwszych interesujących przykładów kompleksowego kardioprotekcyjnego działania związków polifenolowych jest zjawisko noszące nazwę francuskiego paradoksu, polegające na tym, że w rejonie Morza Śródziemnego, nawet przy dużym spożyciu lipidów, śmiertelność ludzi z powodu np. choroby niedokrwiennej serca jest dużo niższa niż w innych krajach, np. Stanach Zjednoczonych [Theobald i wsp. 2000]. Udowodniono, że efekt „francuskiego paradoksu” wynika ze spożycia dużej ilości czerwonego wina, które jest bogatym źródłem związków polifenolowych: antocyjanów, katechin i proantocyjanidyn, flawonoli i stilbenów (resweratrol),

wykazujących właściwości przeciwutleniające i działających kardioprotekcyjnie [Rasmussen i wsp. 2005].

Biologiczna aktywność flawonoidów polega na hamowaniu utleniania frakcji LDL, zwiększaniu zawartości „dobrego” cholesterolu HDL, zmniejszaniu ogólnej zawartości cholesterolu w surowicy i hamowaniu tworzenia się blaszek miażdżycowych. Skutkiem tego jest znaczne ograniczenie zmian miażdżycowych. Zmniejszenie uszkodzeń miażdżycowych przez te związki nie zawsze było kojarzone z ich bezpośrednią aktywnością przeciwutleniającą i ich wpływem na gospodarkę lipidową. Również i inne mechanizmy, tj. zdolność hamowania procesów zapalnych, adhezji i agregacji krwinek płytkowych oraz proliferacji mięśni gładkich naczyń, przyczyniają się do działania przeciw-miażdżycowego.

Współcześnie, obok chorób układu krążenia, do najgroźniejszych, powodujących największą liczbę zgonów zalicza się choroby nowotworowe. Badania epidemiologiczne dowodzą, że występowanie wielu nowotworów, w tym nowotworów piersi [Peeters i wsp. 2003], okrężnicy [Messina i Bennink 1998], żołądka [Nagata i wsp. 2002], gruczołu krokowego [Lee i wsp. 2003c], tarczycy [Horn-Ross i wsp. 2003] oraz nowotworów głowy i szyi [Alhasan i wsp. 2001], podlega zróżnicowaniu geograficznemu. W znaczącej mierze związane jest to ze sposobem odżywiania – zwłaszcza ze spożyciem owoców i warzyw.

Proces nowotworowy jest zjawiskiem długotrwałym i wielostopniowym. Jedną z głównych przyczyn inicjacji kancerogenezy są uszkodzenia DNA spowodowane przez czynniki mutagenne (genotoksyczne), np. wolne rodniki [Ferguson 2001]. Jako przykład można podać atak rodników hydroksylowych na zasady azotowe w nukleotydach, powodujący wysycenie podwójnego wiązania w pierścieniu pirymidynowym między C5 i C6. Kluczową rolę w transformacji nowotworowej komórek odgrywają mutacje w genach, tj. proonkogenach, genach supresorowych i genach kodujących białka, naprawiające błędy w uszkodzonym DNA. Mutacje w obrębie tych genów, wywołane m.in. przez wolne rodniki, mogą być przyczyną inicjacji, promocji i progresji raka.

Na podstawie badań epidemiologicznych wykazano, że przyjmowanie dużych ilości witaminy E w połączeniu z innymi witaminami antyoksydacyjnymi, jak C i A, znacznie ogranicza ryzyko chorób nowotworowych. Do czynników hamujących promocję i progresję nowotworów zalicza się β -karoten, kurkuminę, gingerol, galusan (-)-epigallokatechiny i resweratrol [Shur 1999]. Także badania *in vivo* i *in vitro* wykazały, iż zarówno owoce jagodowe, jak i ziarnkowe (jabłka, truskawki, czarna porzeczka, malina) wykazują właściwości przeciwnowotworowe [Meyers i wsp. 2003, Wolfe i wsp. 2003, Seeram i wsp. 2006]. Stwierdzono m.in., iż pod wpływem inkubacji komórek z ww. ekstraktami owocowymi dochodzi do hamowania proliferacji komórek nowotworowych, ich apoptozy. Ponadto flawonole działają przeciwmutagenie i zmniejszają ryzyko powstawania i rozwoju guzów nowotworowych, poprzez aktywność detoksykacyjną w stosunku do kancerogenów [Wang i wsp. 2000]. Zaobserwowano także, że pod wpływem przeciwutleniaczy izolowanych z roślin na różne elementy szlaków sygnałowych w komórce następuje zwiększenie ekspresji inhibitora kinaz cyklinozależnych – białka związanego m.in. z hamowaniem proliferacji komórek [Wu i wsp. 2007].

Przeciwutleniacze odgrywają także istotną rolę w hamowaniu rozwoju istniejących zmian nowotworowych. Aktualnie postuluje się trzy zasadnicze mechanizmy hamowania i niszczenia guzów nowotworowych. Pierwszy z nich polega na podniesieniu aktywności immunologicznej organizmu (produkcja cytokin), co prowadzi do lepszej lokalizacji komórek nowotworowych i niszczenia proliferującej formy komórek. Drugi mechanizm niszczenia guzów ma charakter genetyczny, jednakże uczestniczą w tym także przeciwutleniacze, pełniąc rolę supresji onkogenów. Trzecim ważnym mechanizmem w hamowaniu rozwoju guzów jest inhibicja procesu angiogenezy, tj. tworzenia systemu ukrwienia guza. Również w tym procesie uczestniczą przeciwutleniacze [Wang i wsp. 2000].

Należy podkreślić, że działanie przeciwutleniaczy zależy od przyjmowanej dawki. Przy zbyt wysokich dawkach zmienia się ich rola i z substancji ochronnych same stają się prooksydantami, prowadząc do powstania groźnych objawów chorobowych [Bast i Haenen 2002].

Dzienne spożycie pochodnych flawonoidowych, głównie pod postacią owoców, warzyw i ich produktów określa się na poziomie 1–2 g [Havsteen 2002]. Z punktu widzenia aktywności biologicznej polifenoli bardzo ważna jest ich biodostępność, definiowana jako część dawki substancji, która może przenikać do krążenia ogólnego i uczestniczyć w procesach fizjologicznych organizmu, i/lub może być w nim zakumulowana. Efekt terapeutyczny polifenoli zależy od ich wystarczającej absorpcji na poziomie komórkowym, jak i układu pokarmowego. Liczne doniesienia o biologicznych właściwościach polifenoli przyczyniły się do rozwoju badań nad absorpcją, metabolizmem i wydalaniem związków polifenolowych, prowadzonych w warunkach *in vitro* i *in vivo*. Wykazują one, że związki te różnią się stabilnością w układzie trawiennym, stopniem wchłaniania i czasem eliminowania z organizmu, a zależne jest to od sposobu ich podania oraz struktury chemicznej tych związków [Olson i wsp. 2004].

Flawonoidy mogą być dostarczone do organizmu na zasadzie podawania do-otrzewnowego, podskórnego, śródskórnego, a także dojelitowo, donaczyniowo i dostnie. Pośrednim dowodem absorpcji drogą jelitową polifenoli z żywności jest wzrost pojemności przeciwutleniającej plazmy krwi po spożyciu odpowiedniego produktu (herbaty, czerwonego wina, soku porzeczkowego i jabłkowego). Jednakże szybkość i zakres absorpcji jelitowej zdeterminowane są strukturą chemiczną polifenoli [Murota i Terao 2005], co w konsekwencji wpływa na ich ilość w osoczu. Przyjmuje się, że deglikozylacja jest pierwszym etapem metabolizmu flawonoidów, po którym następują procesy glukuronowania, metylowania, sulfonowania i hydroksylowania. Związki te w postaci koniugatów są obecne w układzie krwionośnym, skąd są transportowane po całym organizmie [Murota i Terao 2005].

Drugim czynnikiem determinującym ich biodostępność dla organizmu jest ich struktura chemiczna. Z badań wynika, że flawonole, a zwłaszcza kwercetyna i jej glikozydy, odznaczają się najwyższą wchłanianiałością spośród badanych związków polifenolowych. Hollman i wsp. [1997a] wykazali, że absorpcja kwercetyny izolowanej z cebuli wynosiła $52 \pm 5\%$ dla glukozydów, natomiast aglikon i 3-O-rutynozyd kwercetyny wchłaniały się odpowiednio w ilości $24 \pm 9\%$ i $17 \pm 15\%$. Maksymalne stężenia kwercetyny, jakie oznaczono w osoczu wahały się od 0,3 do 7 μM i występowały w szerokim przedziale

czasowym (0,5–7 godzin). Natomiast flawanole ze względu na zróżnicowaną strukturę [(+)-katechina, (-)-epikatechina i ich polimery oraz (+)-gallokatechina, (-)-epigallokatechina oraz ich gallusany] są w różnym stopniu biodostępne [Hollman i wsp. 1997a]. Jak wynika z badań Hollmana i wsp. [1997c], spożywanie zielonej lub czarnej herbaty powoduje wzrost stężenia katechin we krwi, z towarzyszącym temu procesowi wzrostem aktywności antyoksydacyjnej, mierzonej zdolnością aktywności osocza do redukcji jonów żelaza (FRAP).

Według Spencera i wsp. [2000] oligomery procyanidyn (od trimerów do dekamerów) izolowane z kakao (*Theobroma cacao*) są niestabilne w kontakcie z sokiem żołądkowym *ex vivo* i tworzą monomery, dimery (-)-epikatechiny oraz inne jednostki oligomeryczne. Trzydzieści minut po podaniu wyciągu z nasion kakaowca oznaczono we krwi u ludzi dimer procyanidynowy B2, (-)-epikatechinę i (+)-katechinę [Holt i wsp. 2002]. Natomiast Ross i Kasum [2002] podają, że tylko oligomery procyanidynowe o dużej masie cząsteczkowej odznaczają się wysokim powinowactwem do struktur białkowych ściany jelita, co wykazano w badaniach na liniach komórkowych.

Owoce jagodowe (czarna porzeczka, aronia, truskawka i in.) są cennym źródłem antocyjanów. Badania nad wchłanianiem i metabolizmem antocyjanów zawartych w wyciągach z owoców borówki czernicy (*Vaccinium myrtillus*) i bzu czarnego (*Sambucus nigra*) prowadzone przez Wu i wsp. [2002] wykazały ich słabą absorpcję w porównaniu z innymi flawonoidami. Przez długi czas uważano, że antocyjany, obecne w roślinach jako połączenia glikozydowe, wchłaniane są dopiero po hydrolizie prowadzonej przez bakterie jelitowe. Niektórzy autorzy sugerują, że antocyjany, analogicznie do glikozydów kwercetyny, mogą być wchłaniane przez ścianę jelita za pomocą przenośników, np. glukozy [Ader i wsp. 2000].

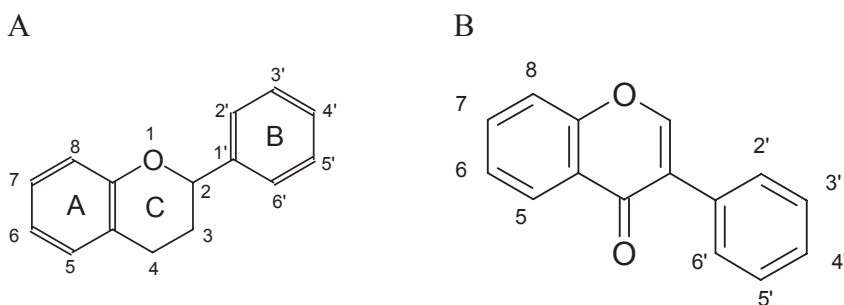
Przytoczone powyżej, jak i pozostałe dane literaturowe związane z poznaniem procesu biodostępności flawonoidów dla organizmu człowieka sugerują, że to cechy matrycy pokarmowej mogą decydować o różnicy w aktywności, biodostępności i przyswajalności polifenoli zawartych w żywności. Owoce to cenny składnik dziennej racji pokarmowej nie tylko ze względu na wysoką wartość odżywczą, ale dlatego, że dostarczają przede wszystkim składników istotnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka. Wiele spośród tych substancji bierze udział w procesach zapobiegających lub ograniczających procesy utleniania składników komórek, chroniąc organizm przed chorobami degeneracyjnymi [Bazzano i wsp. 2002]. Z uwagi na istniejący związek pomiędzy spożyciem owoców i warzyw a stanem zdrowia i ryzykiem wystąpienia wielu chorób zaleca się wysokie ich spożycie, sięgające 400–500 g w ciągu dnia [Lock i wsp. 2005]. Jednakże w wielu krajach, w tym w Polsce, spożycie to wciąż jest niedostateczne, stąd też potrzeba propagowania idei „jedz 5 x dziennie owoce i warzywa”. W związku z tym wydaje się konieczne umożliwienie konsumpcji nowych owoców i warzyw, które są znane poza granicami Polski, a których uprawa w naszych warunkach klimatycznych jest możliwa. Celowe wydaje się także, wprowadzenie do przetwórstwa nowych owoców i poszerzenie asortymentu sektora żywnościowego o nowe produkty, które w dobie procesów migracyjnych społeczności także będą poszukiwane na naszym rynku.

1.3. Struktura związków polifenolowych i ich funkcje

Spośród biologicznie aktywnych substancji zawartych w owocach i warzywach wiodącą rolę odgrywiają związki polifenolowe. Są to wtórne metabolity roślinne o zróżnicowanej strukturze, masie cząsteczkowej i właściwościach fizycznych, biologicznych oraz chemicznych. Występują we wszystkich częściach roślin: kwiatach, owocach, nasionach, liściach, korzeniach, korze i częściach zdrewniałych roślin [Aherne i O'Brien 2002, King i Young 1999], niejednokrotnie nadając żółtą, czerwoną lub fioletową barwę owocom i kwiatom. Związki te decydują o wzroście i reprodukcji rośliny, ale także aktywnie uczestniczą w kształtowaniu cech sensorycznych żywności. Nadają specyficzny cierpki i gorzki smak, są odpowiedzialne za włóknistość, powodują zmętnienia i osady w żywności przetworzonej (sokach, winach i napojach) [Alasalvar i wsp. 2001].

Związki polifenolowe odgrywiają znaczącą rolę w fizjologii roślin, wykazując działanie hormonów roślinnych i regulatorów wzrostu (tzw. wtórne metabolity roślin), przenośników energii w systemach fotosyntezy, inhibitorów i prekursorów enzymatycznych. Ponadto działają jako protektanty, ponieważ chronią komórki roślinne przed szkodliwym działaniem słońca, grzybów i owadów, oraz jako atraktanty, gdyż wabią niektóre owady. Biorą one udział także w morfogenezie, determinacji płci, oddychaniu, regulacji ekspresji genów, regulacji syntezy hormonów wzrostu [Łukaszewicz 2004].

Związki polifenolowe syntetyzowane są na drodze dwóch podstawowych szlaków metabolicznych. Na drodze szlaku kwasu szikimowego powstają związki takie jak kwas hydroksycynamonowy i kumaryny. Proste fenole i chinony powstają w wyniku przemian kwasu octowego. Do roślinnych związków polifenolowych należą fenolokwasy i flawonoidy. Bardziej złożone strukturalnie flawonoidy powstają w wyniku połączenia tych dwóch szlaków. Podstawową strukturę cząsteczki flawonoidów stanowią dwa pierścienie benzenowe (A i B), pomiędzy którymi znajduje się heterocykliczny pierścień piranu lub pironu (C) (rys. 1).



Rys. 1. Struktura flawonoidów: A – forma flawonoidowa; B – forma izoflawonoidowa

Fig. 1. Structure of flavonoids: A – form of flavonoids; B – form of isoflavonoids

W zależności od obecności lub nieobecności grupy karbonylowej w pozycji 4 pierścienia C, obecności lub nieobecności wiązania podwójnego pomiędzy atomami węgla w pozycji 2 i 3 pierścienia C oraz liczby grup hydroksylowych – wśród flawonoidów można wyróżnić flawony, flawanony, flawan-3-ole (pochodne katechiny), flawonole, antocyjany oraz chalkony [King i Young 1999, Rice-Evans 2004, Czczot 2000].

Dotychczas opisano budowę ponad 8 000 związków należących do tej grupy, występujących jako aglikony, glikozydy i estry. Ogromna różnorodność flawonoidów wynika z faktu, że atomy węgla pierścieni A, B i C mogą ulegać hydroksylacji, metoksyacji oraz glikozydacji za pomocą mono- lub oligosacharydów, a także acylacji w różnych pozycjach [Rice-Evans i wsp. 1996]. Stwierdzono, że kwercetyna (3,5,7,3',4'-pentahydroksyflawon) występuje w materiale roślinnym w postaci ponad 140 różnych strukturalnie pochodnych [Manach i wsp. 1996]. W cząsteczkach większości naturalnych flawonoidów pierścień A zawiera dwie grupy hydroksylowe w pozycji 5 i 7, a pierścień B grupę hydroksylową w pozycji 3 (zwaną grupą katecholową). Flawonoidy mogą występować w dwóch postaciach izomerycznych – flawonoidowej i izoflawonoidowej (rys. 1). W cząsteczce flawonoidów przy atomie węgla w pozycji 2 pierścienia heterocyklicznego znajduje się zwykle grupa hydroksylowa lub podstawnik fenylowy, w izoflawonoidach są one usytuowane przy atomie węgla w pozycji 3.

Polifenole działają na żywność wielokierunkowo – z jednej strony kształtują smak, barwę i aromat, a z drugiej wykazują aktywność przeciwutleniającą, stabilizując tłuszcze oraz inne labilne składniki żywności, a dostarczane z pokarmem stanowią źródło tych związków dla organizmu ludzkiego.

Dobrym przykładem, gdzie związki te wpływają na smak i aromat, są taniny nadające goryczkę i cierpkość owocom. Tworzą one kompleksy głównie z polisacharydami i białkami, w wyniku czego kształtują cechy sensoryczne owoców, warzyw oraz żywności przetworzonej (herbaty, wina, piwa, kakao i czekolady). Na smak czerwonego młodego wina wpływają katechiny oraz polimery proantocyjanidyn. Za cierpki, gorzki smak kawy odpowiadają kwas chlorogenowy, chinowy, kawowy oraz katechiny [Cassidy i wsp. 2000, Mitek i Gasik 2009, Rosicka-Kaczmarek 2004]. Za smak i barwę naparów z czarnej herbaty są odpowiedzialne głównie oligomeryczne tearubiginy o barwie brązo-czerwonej, które tworzą się w wyniku kondensacji utlenionych katechin, gallotanin, ellagotanin i polimeryzacji z flawonolami (głównie 3-O-di- i 3-O-triglikozydy kwercetyny i kempferolu, a także C-glikozydowe pochodne apigeniny) i kwasami fenolowymi [Gramza i Korczak 2005, Hsu 2005, Janeczko 2004].

Katechiny są również odpowiedzialne za gorzki i ściągający smak owoców aronii, piwa, zielonej herbaty i jabłek, a flawanony (głównie hesperydyna) – za gorzki smak cytrusów i ich produktów, z kolei flawony są odpowiedzialne za tworzenie związków zapachowo-smakowych pietruszki, a katechiny, proantocyjanidyny i antocyjany tworzą je w kakao [Mitek i Gasik 2009, Yao i wsp. 2004]. Im ziarno kakaowe jest dłużej prażone, tym gorzki smak jest mniej wyczuwalny z powodu termicznego rozpadu tych związków [Cassidy i wsp. 2000, Rosicka-Kaczmarek 2004]. Z kolei kwas syrynginowy, ferulowy i wanilinowy nadają niepożądany smak (gorzko-fasolowy) izolatom białkowym z roślin oleistych [Schindler i wsp. 2005].

Barwa wielu produktów żywnościowych, która zależy od związków polifenolowych, związana jest z ich obecnością i stężeniem. Atrakcyjna, pomarańczowo-czerwona aż po fioletowo-niebieską barwa owoców, związana z obecnością antocyjanów, zależna jest od pH środowiska. Natomiast procesy kopigmentacji antocyjanów i tworzenie kompleksów z metalami wpływają na odcień i stabilność barwy owoców oraz wytrącanie się osadów. Antocyjany, pomimo ich niestabilności, są wykorzystywane także jako naturalne barwniki spożywcze, np. przy produkcji napojów, deserów, wyrobów cukierniczych. Flawanony, flawony, flawonole i proantocyjanidyny charakteryzują się różnymi odcieniami barwy żółtej, teaflawiny są pomarańczowe, natomiast hesperydyna, katechiny i izoflawony – bezbarwne [Mitek i Gasik 2009, Yao i wsp. 2004]. Polimery proantocyjanidyn są odpowiedzialne za barwę i tworzenie się osadów w sokach i napojach. Kwasy chlorogenowy i kawowy biorą udział w procesach enzymatycznego brunatnienia, co zwykle wpływa niekorzystnie na jakość żywności. Wyjątkiem są produkty suszone takie jak rodzynki, śliwki i daktyle, gdzie ciemna barwa jest pożądana [Mitek i Gasik 2009].

Większość związków polifenolowych, ze względu na specyfikę swojej budowy i obecność grup hydroksylowych w warunkach *in vitro*, wykazuje duże właściwości przeciwutleniające i przeciwwolnorodnikowe. Polifenole zawarte w owocach, warzywach i ziołach cechują się 2-, 3-krotnie wyższą aktywnością niż witaminy C i E. Dowiedziono, iż procyjanidyny odznaczają się większą zdolnością do neutralizacji wolnych rodników niż pochodne kwercetyny czy witaminy C i E [Miller i Rice-Evans 1997]. Wśród procyjanidyn stwierdzono największą aktywność przeciwrodnikową dla trimeru, natomiast niższy i wyższy stopień polimeryzacji powodował jej obniżenie.

Ważną funkcją, jaką pełnią polifenole, jest stabilizacja tłuszczów, w tym opóźnienie procesów jęłczenia oksydacyjnego oraz eliminacja aktywnych formy tlenu i azotu [Pieta 2000, Terao 1999]. Przykładem wykorzystania polifenoli jako naturalnych przeciwutleniaczy są dodatki ekstraktu z rozmarynu, herbaty, tarczycy bajkalskiej do olejów, masła czy produktów mięsnych [Żegarska i wsp. 1996, Jarosławska i wsp. 2003, Wojdyło i Oszmiański 2007a, Wojdyło i wsp. 2007b].

Podobnie jak witamina C polifenole roślinne mogą redukować metale przejściowe, stymulować procesy o charakterze oksydacyjnym [Sugihara i wsp. 1999] oraz wykazywać zdolność inhibicji wielu enzymów [Robak i Gryglewski 1996]. Poza tym niektóre flawonoidy w obecności tlenu azotu (NO) wykazują aktywność prooksydacyjną [Ohshima i wsp. 1998].

Naturalne substancje przeciwutleniające są bardziej akceptowane przez konsumentów niż syntetyczne [Jędrusek-Golińska i Hęś 2000]. Dodatkowo restrykcje prawne ograniczające stosowanie syntetycznych antyoksydantów sprawiły, iż od wielu lat prowadzone są intensywne badania nad poszukiwaniem skutecznych naturalnych związków o właściwościach przeciwutleniających. Mechanizm działania przeciwutleniaczy wiąże się ze zmiataniem wolnych rodników i wygaszaniem tlenu singletowego, przerywaniem reakcji wolnorodnikowej (terminacji), wiązaniem jonów metali katalizujących utlenianie oraz inhibicją enzymów z grupy oksydaz [Rice-Evans i wsp. 1996, 1997].

1.4. Wpływ procesów technologicznych na zawartość związków polifenolowych w żywności ze szczególnym uwzględnieniem produkcji soków i przecierów

Owoce i warzywa, spożywane zarówno na surowo, jak i w formie przetworzonej, to cenne źródło substancji odżywczych, w tym witamin i związków polifenolowych. Zawartość tych składników w owocach i warzywach zależy od wielu czynników agrotechnicznych (m.in. uprawy, nawożenia), pogodowych (nawodnienia, nasłonecznienia, które stymuluje wzrost zawartości antocyjanów i glikozydów kwercetyny w zewnętrznej części owoców), odmianowych (rodzaju i odmiany) czy stopnia dojrzałości [Lata 2007, 2005]. Zachowanie wysokiej zawartości związków polifenolowych owoców jest dodatnio skorelowane z podwyższoną aktywnością przeciwutleniającą tych związków. Dla przetwórców przy doborze surowca do produkcji najistotniejsze jak dotąd pozostają upodobania konsumentów.

Związki polifenolowe są zasadniczo stabilne podczas przechowywania surowców, jednakże proces przetwórczy powoduje już znaczące zmiany w zawartości polifenoli, które są kontynuowane podczas przechowywania gotowych produktów. Duża część aktywnych biologicznie związków jest niszczone podczas obróbki technologicznej i długotrwałego przechowywania produktów w niewłaściwych warunkach, co wynika z nieznamioności właściwości tych związków. Do najdestrukcyjniejszych czynników należą procesy termiczne i hydrotermiczne, jak pasteryzacja, sterylizacja, blanszowanie, zagęszczanie przez odparowanie, suszenie, ekstruzja i ogrzewanie mikrofalowe, a także obróbka kulinarna, jak gotowanie, pieczenie, duszenie i smażenie. Do mniej degradujących należy zaliczyć nowe metody obróbki, jak paskalizacja i oddziaływanie polem elektromagnetycznym. Bez ujemnego wpływu nie pozostaje także sposób pakowania żywności i warunki jej przechowywania.

Jednak wszystkie te operacje technologiczne oraz obróbka wstępna odpowiednio przeprowadzona w zależności od typu surowca mogą także wpłynąć korzystnie i mieć pozytywny skutek objawiający się zwiększeniem aktywności przeciwutleniającej poprzez zachowanie bądź wydobycie z części niejadalnych związków polifenolowych. Do zmian korzystnych należy zaliczyć transformację cząstek antyoksydantów w formę o większej aktywności. Dotyczy to przejścia formy glikozydowej w formę aglikonową, co zostało potwierdzone licznymi badaniami naukowymi [Kim i wsp. 2004, Rice-Evans 2004, Robak i Gryglewski 1996]. Ponadto na końcową zasobność w związki polifenolowe w produktach wpływa postępowanie z surowcem przy obróbce wstępnej.

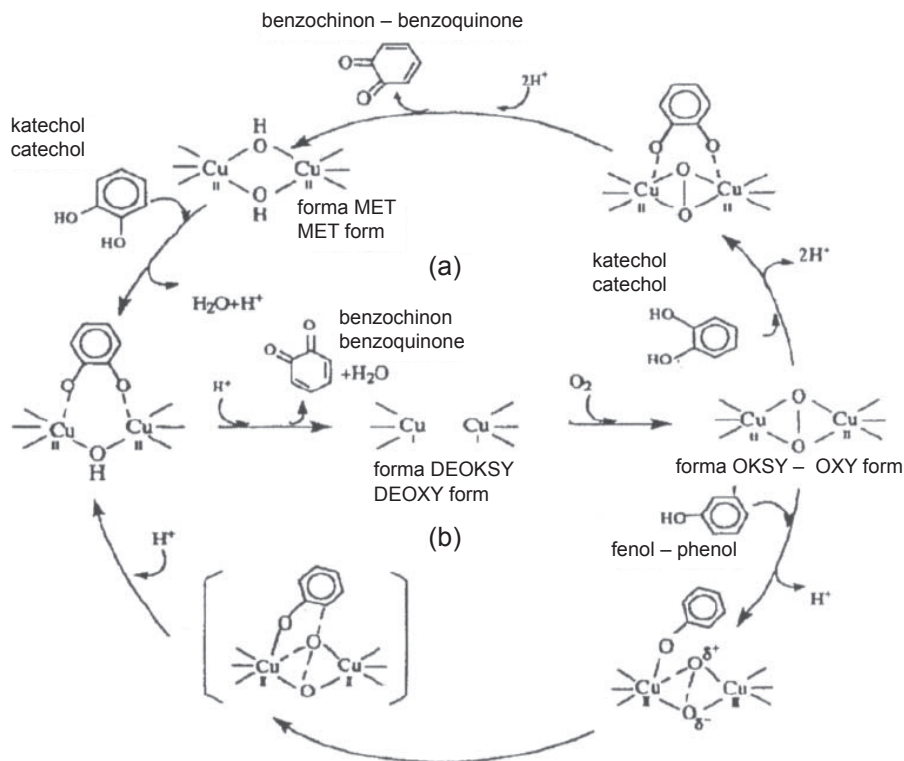
Obecnie jedną z najbardziej rozwiniętych gałęzi przemysłu owocowo-warzywnego jest produkcja soków. Otrzymywanie soków owocowych to złożony proces technologiczny, w którym jest stosowanych szereg różnorodnych operacji mechanicznych. Odzysk składników przeciwutleniających na każdym z etapów procesów zależy od stosowanych urządzeń, parametrów operacji oraz właściwości fizykochemicznych antyoksydantów zawartych w surowcu.

Proces technologicznej obróbki owoców, miazgi i soku niekorzystnie wpływa na zawartość związków polifenolowych i ich aktywność przeciwutleniającą, w szczególności

przy produkcji soków klarownych. W przypadku jabłek w stosunku do surowca zawartość związków polifenolowych ulega obniżeniu 2–30-krotnie, gdzie: 2-krotnie mniej jest kwasu chlorogenowego, 5-krotnie antocyjanów, 10-krotnie pochodnych kwercetyny, 20-krotnie florydżyny i 30-krotnie katechin [Van der Sluis i wsp. 2001]. Dwie główne przyczyny tego zjawiska związane są z utlenianiem enzymatycznym polifenoli w rozdrobnionej tkance owocowej oraz pozostaniem ich w wytlókach.

Czynnikiem sprzyjającym nasileniu niekorzystnych przemian biochemicznych podczas produkcji soków jest już obróbka wstępna – rozdrabnianie. Operacja ta powoduje zniszczenie naturalnej bariery, jaką jest skórka, przez co zostaje ułatwiony kontakt uwolnionych enzymów z substratami. Czas otrzymania soku od momentu rozdrobnienia surowca, poprzez macerację enzymatyczną czy tłoczenie, niejednokrotnie działa na niekorzyść, powodując enzymatyczne utlenienie związków biologicznie aktywnych. Zmiany powstające w wyniku uszkodzenia struktur komórkowych są następstwem złożonych reakcji (utleniania, hydrolizy), zachodzących w wyniku kontaktu z powietrzem i uwolnienia enzymów obecnych w tkankach. Są one specyficzne zarówno dla surowca, jak i stosowanego sposobu rozdrabniania. W większości przypadków za brązowienie enzymatyczne odpowiedzialny jest enzym polifenolooksydaza (PPO, EC 1.14.18.1) lub inne enzymy charakteryzujące się obecnością kationu miedzi w swoim łańcuchu [Ding i wsp. 2002]. Enzymy te posiadają zdolność przekształcania *o*-dihydroksyfenoli w *o*-benzochinony, czego następstwem jest brązowienie, które wpływa zarówno na barwę, jak i smakowitość oraz teksturę produktów [Martinez i Whitaker 1995]. Mechanizm reakcji ciemnienia enzymatycznego przedstawiono na rysunku 2. Aby reakcja brązowienia enzymatycznego mogła przebiegać, niezbędne jest działanie przynajmniej trzech czynników: substratów, czyli dostępnych dla reakcji związków polifenolowych, w tym katechin oraz kwasu chlorogenowego; enzymu katalizującego tę reakcję oraz tlenu. Brak jednego z tych czynników uniemożliwia przebieg reakcji brązowienia enzymatycznego, a zmniejszenie dostępności lub aktywności jednego z czynników w znaczącym stopniu ogranicza intensywność tego zjawiska [Lee i wsp. 2003a,b].

Cechą charakterystyczną enzymów odpowiedzialnych za ciemnienie jest to, że najlepiej działają w temperaturze 40°C, przy pH zbliżonym do obojętnego. Obniżenie odczynu pH lub dodanie np. kwasu askorbinowego utrudnia przebieg reakcji brązowienia. Efektywnymi inhibitorami są także kwas cytrynowy, ditlenek siarki oraz związki posiadające grupę tiolową, np.: białka, peptydy i aminokwasy (L-cysteina, glutation). Czynniki wspomagającymi działanie tych inhibitorów może być temperatura, pH (poniżej 3) oraz ograniczenie dostępności tlenu, przy których oksydaza *o*-difenolu praktycznie nie wykazuje działania [Lee i wsp. 2003c]. W ostatnich latach był również badany pod tym względem kwas szczawiowy [Son i wsp. 2000a,b]. Związki inhibujące dodawane do żywności powinny charakteryzować się nietoksycznością, wysoką aktywnością w niewielkich stężeniach, nie mogą mieć ujemnego wpływu na smak i zapach utrwalanych artykułów, natomiast winny być odporne na temperaturę i inne procesy stosowane podczas obróbki technologicznej.



Rys. 2. Mechanizm działania oksydazy polifenolowej wg Whitaker [1995]
 a – utlenianie *o*-dihydroksyfenoli, np. katecholu, do *o*-benzochinonów, b – hydroksylacja monofenoli, np. fenolu do *o*-benzochinonów
 Fig. 2. Kinetic mechanism for polyphenol oxidase Whitaker [1995]
 a – oxidation of *o*-dihydroxyphenols, for example catechol, to *o*-benzoquinones, b – hydroxyllation of monophenols, for example phenol, to *o*-benzoquinones

Drugą przyczyną strat związków polifenolowych jest ich pozostawienie w wytlókach. Wynika to z nieumiejętnie przeprowadzonego procesu technologicznego, gdyż związki te nie są równomiernie rozmieszczone w całych owocach. Związki polifenolowe owoców zawarte są głównie w skórce i tuż pod nią, przez co w trakcie rozdrabniania nie zawsze następuje całkowite ich uwolnienie do fazy płynnej; dodatkowo w niskiej temperaturze są słabo rozpuszczalne, dlatego pozostają w nieuszkodzonych komórkach otoczonych półprzepuszczalną błoną białkowo-lipidową, stanowiąc integralną część odpadową, jaką są wytloki. Ponadto związki polifenolowe z grupy procyjanidyn są silnie związane z polisacharydami ścian komórkowych, co również prowadzi do obniżenia ich zawartości w soku [Guyot i wsp. 2003]. Dlatego też proces pozyskiwania soków jest wciąż poddawany modyfikacjom i usprawnieniom. W ostatnich latach zaproponowano ogrzewanie miazgi za pomocą mikrofal czy pozyskiwanie soku metodą dyfuzji,

co wpływa nie tylko na ekstrakcję związków przeciwutleniających, ale powoduje także inaktywację enzymów utleniających i wzrost wydajności procesu [Spanos i wsp. 1990a]. Van der Sluis i wsp. [2004] proponują zwiększenie zawartości związków polifenolowych w sokach poprzez ekstrakcję etanolem miazgi owocowej lub wyłoków, podając, że po odparowaniu alkoholu zawartość kwasu chlorogenowego i pochodnych kwercetyny, a tym samym aktywność przeciwutleniająca wzrastają odpowiednio 1,4–9-krotnie. Dodatkowym sposobem zagospodarowania wyłoków staje się ich upłynnianie preparatami enzymatycznymi nowej generacji i powtórny dodatek do soków lub innych przetworów [Will i wsp. 2000].

Alternatywą soków klarownych w ostatnich latach stała się produkcja soków naturalnie mętnych. W technologii tej przez eliminację operacji enzymatycznej obróbki miazgi, klarowania i filtracji następuje wyższe zachowanie związków polifenolowych. Jednakże, ze względu na brak tych procesów nie można dopuścić do utlenienia związków polifenolowych, gdyż wszelkie zmiany barwy są widoczne w postaci nieatrakcyjnego brunatnego koloru soku. Stąd też istotne jest stosowanie inhibitorów przemian utleniających. Ponadto etap klarowania z wykorzystaniem tradycyjnych środków takich jak żelatyna czy bentonit pozbawia produkt finalny nawet do 50% zawartości polifenoli. Natomiast w sokach mętnych zawartość związków polifenolowych wynosi 1–4 gL⁻¹, z czego ok. 70% stanowią najaktywniejsze biologicznie procyanidyny, związane z polisacharydami tworzącymi trwale zmętnienia produktu [Guyot i wsp. 2003]. Zainteresowanie tą technologią w ostatnim czasie wzrasta. W USA i Japonii soki naturalnie mętne stanowią ponad 80% tej grupy asortymentu na rynku [Oszmiański 2009d].

Inną możliwością przetwarzania owoców jest produkcja przecierów. Produkty te są popularne w wielu krajach zachodnioeuropejskich oraz w Stanach Zjednoczonych. W technologii przecierów w fazie wstępnej następuje usunięcie skórek i gniazd nasienych, co w znaczącym stopniu przyczynia się do strat związków polifenolowych, gdyż w tych częściach owoców (np. ziarnkowych) znajdują się one w najwyższym stężeniu. Jednak przy tradycyjnym sposobie produkcji przecierów skórki stanowiące odpad po wysuszeniu (liofilizacja) mogą być potencjalnym źródłem dodatku używanym w produkcji żywności funkcjonalnej i nutraceutyków. Z drugiej strony, rozparzanie owoców w całości z późniejszym etapem przecierania przez sito pozwalają na wydobycie związków polifenolowych zlokalizowanych przede wszystkim w skórce tj. pochodnych kwercetyny odznaczających się wysoką aktywnością biologiczną *in vitro* i *in vivo* [Manach i wsp. 1999]. W przeciwieństwie do soków obecność części stałych w przecierach sprzyja uzyskaniu większej zawartości procyanidyn, które związane ze ścianą komórkową stanowią integralną część tego produktu.

1.5. Pigwa pospolita (*Cydonia oblonga* Miller) i jabłka (*Malus domestica* Borkh.) jako surowiec do przetwórstwa

Owoce pigwy mogą uatrakcyjnić paletę owoców i produktów naszej strefy klimatycznej. Owoce pigwy pospolitej należą do tej samej rodziny różowatych (Rosaceae) co jabłka. Pomimo tego wciąż są mało znane wśród przetwórców i konsumentów. Dość duże białe lub różowe kwiaty pigwy osadzone na krzewie bądź niedużym drzewie pojawiają się później niż u większości drzew owocowych, tj. w połowie maja [Rejman 1994]. Owoce, podobnie jak u jabłoni i gruszy, są rzekome, typu jabłkowatego, kształtem zbliżone do jabłka lub gruszki. Cechą charakterystyczną jest pokrycie owoców pigwy kutnerem, który w trakcie dojrzewania ulega starciu. Owoce dojrzewają w naszych warunkach dość późno, na przełomie września i października, mają barwę cytrynowożółtą i zwykle ważą ok. 100–200 g, chociaż zdarzają się i ponad półkilogramowe olbrzymy [Rejman 1994, Sękowski 1993]. Pigwę uprawiano i w dalszym ciągu uprawia się w basenie Morza Śródziemnego i Czarnego: w Turcji, Gruzji, na Bałkanach, Węgrzech oraz Półwyspie Iberyjskim, skąd jej uprawa rozpowszechniła się w Anglii, Australii, Nowej Zelandii i Ameryce Łacińskiej. W Polsce hodowla pigwy nigdy nie miała większego znaczenia, gdyż wykorzystywana jest głównie jako podkładka skarłająca pod inne drzewa owocowe (głównie z rodziny różowatych) bądź uprawiana amatorsko ze względu na piękne kwiaty i aromatyczne owoce. Przyczyną tego wydaje się być opinia, że pigwa jest wrażliwa na mróz, przez co jej uprawa w kraju skazana jest na niepowodzenie. W ostatnich latach warunki klimatyczne w naszym kraju uległy zmianie i uprawa pigwy może być bardziej rozpowszechniona [Lewko i Wojdyło 2009].

Współczesne badania dowodzą, że zawartość związków biologicznie czynnych w owocach i warzywach odgrywa istotną rolę w leczeniu i prewencji wielu schorzeń XXI wieku. Dlatego też ważne jest poznanie i scharakteryzowanie tych owoców jako potencjalnego źródła substancji biologicznie czynnych. Miąższ pigwy w 100 g zawiera powyżej 80 g wody oraz około 0,4 g białka i 0,1% tłuszczu. Dzięki dużej zawartości pektyn (0,4%) spożywanie owoców pigwy zmniejsza dolegliwości układu pokarmowego oraz korzystnie wpływa na suchą i spękaną skórę. Pozostałe składniki to kwasy organiczne (2%, głównie kwas jabłkowy, cytrynowy i winowy), cukry (8,75–12%, w tym 5,97–9,28% fruktozy, 2,77–3,31% glukozy, 1,16–2,58% sacharozy). Ekstrakt ogólny dojrzałych owoców pigwy w zależności od odmiany wynosi od 8 do 13% przy kwasowości powyżej 1%. Owoce pigwy pospolitej są bogatym źródłem makroelementów (17 związków). Największe ich ilości związane są z obecnością żelaza (30 mgkg⁻¹), potasu (17–20 mgkg⁻¹), miedzi (1,4 mgkg⁻¹), w owocach obecny jest również bor, nikiel, tytan, glin i mangan. Niestety, owoce te są ubogim źródłem witamin, w tym karotenoidów (β -karoten 0,21–0,32 mg100g⁻¹, B1 do 0,24 mg100g⁻¹, B2 do 0,074 mg100g⁻¹) czy witaminy C (~25 mg100g⁻¹) [Rejman, 1994]. Silva i wsp. [2004] podają, że owoce pigwy zawierają niemal wszystkie aminokwasy, przy czym w znacznej ilości występuje kwas asparaginowy, asparagina, treonina, cysteina, alanina i glicyna. Owoce pigwy będące w pełnej dojrzałości są niezwykle aromatyczne, mają coś z pomarańczy i ananasa. Na specyficzny aromat

owoców pigwy składają się 82 różne związki, wśród których zidentyfikowano estry, alkohole, aldehydy, ketony i terpeny [Umano i wsp. 1986].

Pigwa pospolita jest owocem o bogatym składzie chemicznym oraz wysokiej zawartości polifenoli. Podobnie jak owoce jabłoni charakteryzuje się szerokim spektrum zawartości związków flawonoidowych. Zawartość tych związków w miąższu wynosi od 11,7 do 518,6 mgk⁻¹ g świeżej masy (śm), w skórce od 278,8 do 1962,4 mgk⁻¹ śm, a w nasionach od 107,4 do 116,4 mgk⁻¹ śm [Silva i wsp. 2005]. Głównymi poznanymi związkami polifenolowymi tych owoców są związki z grupy kwasów fenolowych oraz flawonole [Silva i wsp., 2004, 2005]. Dla porównania, jabłka zawierają oprócz wymienionych grup flawonoidów dodatkowo dihydrochalkony, a owoce niektórych odmian jabłek bogate są w antocyjany [Tsao i wsp. 2003]. Z ogólnej zawartości polifenoli w owocach pigwy kwas chlorogenowy stanowi 51% związków polifenolowych występujących w miąższu oraz 21% związków polifenolowych nasion, podczas gdy w skórce dominującymi związkami są pochodne kwercetyny i kemferolu, w szczególności kwercetyno-3-O-rutynozyd (38%) [Olivera i wsp. 2007]. Do tej pory mało poznana w tych owocach, aczkolwiek istotną grupą, są proantocyjanidyny.

Dojrzałe owoce pigwy, ze względu na twardy i cierpki posmak miąższu oraz dużą ilość komórek kamiennych, nie nadają się do bezpośredniego spożycia na surowo. Dlatego zwiększenie spożycia owoców pigwy może nastąpić poprzez jej przetwórstwo. Źródła kulinarne podają niezliczone przepisy na przetwory wykonywane w warunkach domowych, ponieważ pigwa jest ceniona przez konsumentów ze względu na swój niezwykle smak i aromat. Istnieje wiele przepisów na przetwory, takie jak nalewki, dżemy oraz galaretki. Olejek lotny, który zawierają skórka i miąższ pigwy pospolitej, nadaje przetworom i potrawom delikatny aromat i kwaskowaty smak. Duża zawartość pektyn sprawia, że owoce te doskonale nadają się do żelowania przetworów z owoców o niskiej zawartości pektyn [Gumowska 1986] bądź do produkcji dżemów i galaretek. Toteż w krajach Europy Południowej (Portugalia, Hiszpania) owoce te są wykorzystywane do sporządzania dżemów i galaretek na skalę przemysłową [Silva i wsp. 2002, 2005]. Obecnie nie produkuje się z tych owoców soków ani przecierów. W polskim przetwórstwie owoce pigwy są niedocenianym surowcem, co wiąże się z brakiem regularnych nasadzeń wielkotowarowych. Dodatkowym czynnikiem wpływającym na małe wykorzystanie tych owoców na skalę przemysłową jest wysoka aktywność systemu enzymatycznego tych owoców. Duża zawartość kwasu chlorogenowego i jego pochodnych oraz wysoka aktywność polifenolooksydazy [Lańska 1992] sprawiają, że miąższ pigwy bardzo szybko ciemnieje po rozdrobnieniu. Niepożądana ciemna barwa uzyskanych produktów często dyskwalifikuje te owoce w ocenie i możliwości wykorzystania przemysłowego ze względu na trudności z zachowaniem atrakcyjnej jasnej barwy przetworów, stąd też potrzeba doboru inhibitora przemian utleniających.

Owoce jabłoni domowej (*Malus domestica* Borkh.) są obecnie najpopularniejszymi owocami na świecie. Zawartość polifenoli w tych owocach w zależności od odmiany kształtuje się na poziomie od 0,1 do 5,0 g w kilogramie surowca [Oszmiański 2007], co sprawia, że jabłka są najważniejszym źródłem związków polifenolowych w diecie Europejczyków i Amerykanów [Vinson i wsp. 2001]. Ponadto, ze względu na duże spożycie tego surowca stanowią one doskonałe źródło błonnika, pektyn, kwasów

organicznych, węglowodanów i składników mineralnych [Guyot i wsp. 1998, Van der Sluis i wsp. 2001].

Jabłoń jest dominującym gatunkiem w uprawach sadowniczych, a 60% zbioru tych owoców trafia do przetwórstwa. Sektor owocowo-warzywny wykorzystuje te owoce do produkcji soków (klarowanych i mętnych), nektarów i napojów, przecierów, suszy oraz koncentratów. Dodatkowo owoce te są przeznaczone do wytwarzania produktów mieszanych, np. soków jabłkowo-wiśniowych, jabłkowo-aroniowych. Druga część produkcji sadowniczej skierowana jest do konsumpcji. W 2007 r. przeciętny konsument spożył około 18 kg świeżych jabłek i 30 kg jabłek przetworzonych, w sumie 48 kg jabłek [Rynek owoców i warzyw 2010]. Dodatkowo, zainteresowanie tymi owocami, jak i ich przetworami związane jest z korzystnymi wynikami badań naukowych, które potwierdzają ich rolę w niwelowaniu wielu chorób cywilizacyjnych, w tym astmy, chorób serca, nowotworów czy schorzeń związanych z demencją starczą (np. chorobą Alzheimera) [Boyer i Liu 2004].

Odżywianie i styl życia mają istotny wpływ na stan zdrowia. Obserwuje się zwiększenie popytu na żywność o pożądanym wpływie na organizm, określaną jako żywność funkcjonalną (functional food). Z trendem produkcji i spożycia żywności funkcjonalnej wiąże się intensywny rozwój rynku, przez co coraz częściej w przetwórstwie światowym poszukuje się nowych surowców o właściwościach przyczyniających się do zachowania zdrowia, zwiększenia wydolności organizmu czy zaspokojenia jego szczególnych potrzeb w różnych stanach fizjologicznych oraz patologicznych. Alternatywnym surowcem w stosunku do jabłek a spełniającym warunki, jakie stawia żywność funkcjonalna, mogą być owoce pigwy pospolitej. Wykorzystanie ich do produkcji żywności funkcjonalnej, w szczególności przez rodzimy przemysł owocowo-warzywny, m.in. przez małe zakłady przetwórcze, stanowi dobrą alternatywę do wprowadzenia nowych produktów do obrotu handlowego żywności zasobnej w związku biologicznie czynne o właściwościach prozdrowotnych.

2. CEL BADAŃ

Polifenole ze względu na wysoką aktywność biologiczną oraz duże rozpowszechnienie w świecie roślinnym stanowią cenny i dostępny składnik diety. Świadomi tego konsumenci oczekują więc żywności o specyficznych cechach prozdrowotnych – żywności funkcjonalnej i nutraceutyków. Rosnące zainteresowanie lekarzy i producentów żywności bogatej w aktywne biologicznie związki jest odzwierciedleniem wyników badań epidemiologicznych z ostatnich lat, wskazujących na ścisły związek pomiędzy spożywaniem żywności bogatej w polifenole i inne składniki witaminowe a przeciwdziałaniem chorobom cywilizacyjnym, w tym o podłożu nowotworowym. W efekcie rynek produktów o cechach prozdrowotnych jest jednym z najprężniej działających i rozwijających się sektorów gospodarki żywnościowej, jednocześnie intensywnie poszukującym nowych odpowiednich surowców.

Celem niniejszej pracy była ocena przydatności owoców pigwy pospolitej (*Cydonia oblonga* Miller) do produkcji przetworów owocowych, charakteryzujących się bogatym składem substancji biologicznie aktywnych. Aktywność biologiczną owoców pigwy i otrzymanych z nich przetworów określono, badając związki polifenolowe i witaminę C. Wartość przetwórczą i odżywczą owoców pigwy oceniano poprzez porównanie z produktami otrzymanymi, w tych samych warunkach z jabłek.

Cel pracy starano się osiągnąć, realizując zadania badawcze:

1. Identyfikacja i określenie zawartości związków polifenolowych w badanym surowcu ze szczególnym uwzględnieniem zawartości proantocyjanidyn.
2. Wyznaczenie aktywności genów kodujących enzymy szlaku syntezy związków polifenolowych w badanych owocach.
3. Charakterystyka wybranych odmian owoców pigwy pod względem zawartości związków polifenolowych, aktywności przeciwutleniającej i aktywności enzymów utleniających (PPO).
4. Określenie przydatności technologicznej owoców pigwy pospolitej w porównaniu z jabłkami do przetwórstwa poprzez analizę zawartości cech fizykochemicznych otrzymanych produktów.
5. Wyznaczenie zmiany zawartości związków polifenolowych i aktywności przeciwutleniającej otrzymanych produktów w zależności od czasu przechowywania (6 miesięcy) i temperatury (4 i 30°C).
6. Ocena organoleptyczna otrzymanych produktów mieszanych z pigwy, jabłek z dodatkiem innych gatunków owoców.
7. Wyznaczenie aktywności przeciwnowotworowej wyciągu otrzymanego z owoców pigwy i jabłek w stosunku do linii ludzkiego nowotworu pęcherza moczowego (HCV29T) oraz linii ludzkiego nowotworu gruczołu piersiowego (MCF-7).

3. ORGANIZACJA CZĘŚCI EKSPERYMENTALNEJ PRACY

3.1. Materiał badawczy i zakres badań

Przedmiotem pracy były owoce pigwy pospolitej, których badanie przeprowadzono w trzech etapach: w pierwszym zidentyfikowano i analizowano biosyntezę związków polifenolowych, w drugim oceniano przydatność owoców do produkcji wybranych przetworów, w trzecim wyznaczono ich aktywność przeciwnowotworową.

Metodykę badań realizowaną w ramach każdego z etapów opisano w osobnych rozdziałach.

Podstawowym materiałem badawczym były owoce pigwy pospolitej (*Cydonia oblonga* Miller) pochodzące z Ogrodu Roślin Leczniczych Akademii Medycznej we Wrocławiu oraz owoce wybranych odmian pigwy uprawianych w Katedrze Sadownictwa Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Owoce pozyskano w latach 2008–2009.

W pierwszym etapie badań dodatkowym surowcem porównawczym były owoce jabłoni (*Malus domestica* Brokh.) odmiana ‘Szara Reneta’ pozyskane ze Stacji Doświadczalnej Odmian w Zybiszowie k. Wrocławia.

W drugim etapie, oprócz pigwy i jabłek, wykorzystano owoce: rokitnika pospolitego (*Hippophaë rhamnoides*), pigwowca japońskiego (*Chaenomeles japonica*), truskawki (*Fragaria x annanasa* Duch), maliny (*Rubus ideaus*), czarnej porzeczki (*Ribes nigrum* L.), aronii (*Aronia melanocarpa* Elliot), jarzębiny pospolitej (*Sorbus aucuparia*) i głogu dwuszyjkowego (*Crataegus oxyacantha*) oraz rabarbar (*Rheum rhaponticum* L.).

Truskawki, maliny, owoce czarnej porzeczki, aronii oraz rabarbar zakupiono w handlu detalicznym. Natomiast owoce głogu dwuszyjkowego pozyskano z drzew rosnących we Wrocławskim Ogrodzie Botanicznym. Z kolei owoce jarzębiny pospolitej, rokitnika, pigwowca pochodziły z Ogrodu Roślin Leczniczych Akademii Medycznej we Wrocławiu.

Materiałem do badań właściwości przeciwnowotworowych były: linia komórkowa MCF-7 pochodząca z kolekcji ATCC (American Type Culture Collection; Rockville, Maryland, USA) oraz linia HCV29T z Instytutu Fibiger (Kopenhaga, Dania).

Organizacja części doświadczalnej pracy

Badania wykonano w Zakładzie Technologii Owoców i Warzyw Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu w ramach projektu badawczego nr N N312 199935 pt: Wykorzystanie owoców pigwy (*Cydonia oblonga* Miller) do otrzymania produktów o wysokiej wartości prozdrowotnej z uwzględnieniem właściwości przeciwnowotworowych.

Ponadto, część eksperymentalną prowadzono w innych ośrodkach naukowych. Identyfikację związków polifenolowych przeprowadzono z użyciem aparatu typu HPLC-ESI/MS w Zakładzie Biochemii Instytutu Upraw i Nawożenia Glebowego w Puławach.

Zadanie związane z analizą genów kodujących enzymy szlaku syntezy związków polifenolowych zrealizowano w ramach projektu własnego POL-POSTDOC II nr PBZ/MEiN/01/2006/05 pt.: Próba otrzymania produktów wzbogaconych w substancje prozdrowotne z owoców rokitnika pospolitego, pigwowca japońskiego, głogu dwuszyjkowego oraz jarzębiny pospolitej na Uniwersytecie Wrocławskim w Zakładzie Biochemii Genetycznej pod kierunkiem prof. dr. hab. Jana Szopy.

Analizę związaną z określeniem właściwości przeciwnowotworowych wykonano w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu, pod kierunkiem dr hab. Joanny Wietrzyk.

3.2. Etap I. Identyfikacja i badanie biosyntezy związków polifenolowych owoców pigwy pospolitej

Pierwszy etap pracy wykonano, realizując 4 zadania, w ramach których:

- zidentyfikowano związki polifenolowe wyodrębnione z owoców pigwy pospolitej (I);
- przeprowadzono analizę genów kodujących enzymy szlaku syntezy najważniejszych grup związków polifenolowych (II);
- określono zmiany zawartości związków polifenolowych w trakcie wzrostu owoców pigwy (III);
- oznaczono i porównano skład chemiczny owoców różnych odmian pigwy z uwzględnieniem aktywności przeciwutleniającej (IV).

Sposób otrzymywania frakcji fenolowej owoców pigwy pospolitej

Związki polifenolowe wyodrębniono z niedojrzałych owoców pigwy pospolitej, stosując metodę opisaną przez Oszmiańskiego i Bourzeix (1995a). Owoce niedojrzałe są bogatszym źródłem związków polifenolowych aniżeli owoce dojrzałe, w związku z tym uzyskanie odpowiednich ilości tych związków było łatwiejsze i wydajniejsze. Otrzymany wyciąg poddawano procesowi frakcjonowania w celu oczyszczenia i wyodrębnienia frakcji proantocyjanidyn. Rozdział wykonano na kolumnie chromatograficznej wypełnionej żelalem HW-40S (TOYOPEARL, Japonia). Zliofilizowany wyciąg rozpuszczano w metanolu i наносzono na kolumnę. Związki polifenolowe eluowano metanolem

o stężeniu 100%. Poszczególne frakcje eluatu zbierano przy długości fali $\lambda=280$ nm. Otrzymane frakcje zgęszczano na wyparce rotacyjnej, odparowując metanol pod próżnią w temperaturze 40–45°C, a następnie liofilizowano. Uzyskano około 5–40 mg poszczególnych frakcji o barwie białokremowej. Tak otrzymane frakcje poddano analizie jakościowej, stosując technikę chromatografii cieczowej (HPLC) oraz chromatografii cieczowej sprzężonej z detektorem MS (HPLC-ESI/MS).

Analiza genów szlaku syntezy związków polifenolowych

Analiza genów kodujących enzymy szlaku syntezy związków polifenolowych została wykonana we wczesnym stadium wzrostu owoców pigwy. Dodatkowo analizę przeprowadzono, wykorzystując owoce jabłoni. Pełny opis metody podano w punkcie 3.5.4.

Analiza składu chemicznego owoców w różnym stadium dojrzałości

Zbioru owoców związanej z wyznaczeniem zmian zawartości związków polifenolowych w trakcie wzrostu i dojrzewania owoców dokonywano w odstępach co 3 tygodnie, począwszy od momentu kwitnienia, aż do osiągnięcia dojrzałości przez owoce, tj. w okresie od połowy maja do października 2009. Zebrane owoce były mrożone w ciekłym azocie i liofilizowane. W celu ilościowego oznaczenia związków polifenolowych otrzymany liofilizat był poddany 24-godzinnej ekstrakcji metanolem, przy czym w zależności od przeznaczenia jako rozpuszczalnika użyto 30% MeOH z 1% dodatkiem przeciwutleniacza (kwasu askorbinowego) do analizy związków polifenolowych metodą chromatograficzną bądź 80% MeOH z 1% dodatkiem HCL do analizy aktywności przeciwutleniającej (metody ABTS, FRAP, DPPH). Z kolei, w zebranych surowcu oznaczono podstawowy skład chemiczny (suchą masę, kwasowość ogólną, ekstrakt, zawartość kwasu askorbinowego). Owoce przeznaczone do wyznaczenia aktywności polifenoloksydazy po uprzednim zamrożeniu w ciekłym azocie przechowywano w temperaturze -80°C, a analizę przeprowadzono po ostatnim zbiorze owoców z tego cyklu doświadczenia.

Analiza składu chemicznego owoców różnych odmian pigwy pospolitej

Przedmiotem badań były owoce pigwy odmianowej: ‘Bereczki’, ‘Cydora Robusta’, ‘Danurok Onuk’, ‘Lescovać’, ‘Studentka’, ‘Uranja’, ‘Uspiech’ zebrane w latach 2008–2009.

W świeżym surowcu zostały oznaczone podstawowe składniki chemiczne, tj. sucha masa, kwasowość ogólna, zawartość kwasu askorbinowego i pektyn. Do określenia zawartości związków polifenolowych metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) oraz aktywności przeciwutleniającej (ABTS, FRAP, DPPH) materiał badawczy zabezpieczono poprzez zamrożenie, a następnie liofilizację.

3.3. Etap II. Ocena przydatności owoców pigwy pospolitej w przetwórstwie

W drugim etapie pracy starano się określić, jaka jest przydatność przetwórcza owoców pigwy pospolitej do produkcji przecierów oraz soków jednorodnych, a jaka w przypadku dodatku innych owoców. Otrzymane przetwory z pigwy porównano do przetworów sporządzonych z jabłek. Przydatność przetwórczą określono na podstawie:

- przemian barwy miąższu, spowodowanej utlenieniem związków polifenolowych,
- oceny przydatności enzymów macerujących do obróbki miazgi w produkcji soków,
- możliwości produkcji soków mętnych,
- możliwości wykorzystania owoców pigwy do produkcji soków i przecierów mieszanych z dodatkiem owoców innego gatunku.

Dobór inhibitora utleniania enzymatycznego

Celem niniejszego doświadczenia był dobór efektywnego inhibitora enzymatycznych przemian utleniających, rozdrobnionych owoców pigwy oraz jabłek. Porównano efektywność inhibicji dodatku 0,5 i 1,0 gkg⁻¹ kwasu askorbinowego i soku z rabarbaru w dawce 2,5 i 5% w stosunku do masy badanej próbki. W tym celu podczas rozdrabniania owoców, w czasie 40 sekund w urządzeniu Thermomix (Wuppertal, Vorwerk, Niemcy), dodawano odpowiednią ilość inhibitora. Rozdrobnioną miazgę rozparzano (10 min, 90°C), a następnie schłodzoną do temperatury 40–45°C poddano obróbce enzymatycznej z użyciem enzymu Panzym Yield Mash (0,5 mlkg⁻¹ owoców) przez 60 min. Z miazgi otrzymano przecier poprzez przetrarcie przez sito (2 mm). Tak otrzymany przecier podgrzano do 95°C celem pasteryzacji, po czym rozlano do słoiczków (130 g). W tak przygotowanych przecierach wykonano analizy, a pozostałe próbki przechowywano w 4 i 30°C przez 6 miesięcy. Schemat doświadczenia przedstawiono na rysunku 3.

Dobór preparatów enzymatycznych do produkcji soku pigwowego

Celem niniejszego doświadczenia było określenie wpływu różnych handlowych preparatów enzymatycznych na wydajność soku, zawartość w nich związków polifenolowych i aktywność przeciwutleniającą.

Do miazgi z owoców pigwy dodano preparaty enzymatyczne w ilości zalecanej przez producenta (0,5 mlkg⁻¹ miazgi). Proces tłoczenia soku wykonano po godzinnej maceracji miazgi w temperaturze 20°C, z wykorzystaniem prasy laboratoryjnej (Zodiak, Polska) przy nacisku 3 MPa w czasie 5 min. Otrzymany sok podgrzano do 95°C i po rozlaniu do słoiczków (130 g) poddano pasteryzacji (10 min). W tak przygotowanych sokach wykonano analizy. Pozostałe próbki przechowywano w 4°C przez 6 miesięcy. Schemat doświadczenia przedstawiono na rysunku 4.

Przygotowanie soków naturalnie mętnych

W zadaniu tym oceniano możliwość produkcji soków naturalnie mętnych z owoców pigwy w porównaniu z sokami jabłkowymi. Soki mętne sporządzono w dwóch wariantach: z dodatkiem inhibitora (2,5% dodatek inhibitora w postaci soku z rabarbaru) oraz bez dodatku inhibitora. Rozdrobnione w urządzeniu Thermomix (Wuppertal, Vorwerk, Niemcy) owoce poddano tłoczeniu w prasie laboratoryjnej przy nacisku 1, 3, 5 MPa odpowiednio w czasie 1, 3 i 5 min. Otrzymane próbki poddano pasteryzacji (10 min). Tak przygotowane soki naturalnie mętne badano przed i po 6 miesiącach przechowywania w 4 i 30°C. Schemat doświadczenia przedstawiono na rysunku 5.

Przygotowanie soków i przecierów mieszanych

W doświadczeniu tym wykorzystano owoce pigwy i jabłek, które mieszano z owocami innych gatunków do przygotowania produktów mieszanych. Tworząc produkty mieszane, zastosowano 20% dodatek następujących owoców: pigwowca, rokitnika, maliny, truskawki, czarnej porzeczki, aronii, jarzębiny i głogu. Zarówno podczas produkcji soków, jak i przecierów przygotowywano mieszaninę owoców w proporcji 80:20 (80% pigwy lub jabłek do 20% innych owoców), którą następnie poddano rozdrabnianiu. Dodatkowo produkty te sporządzono w dwóch wariantach: z dodatkiem inhibitora (2,5% soku z rabarbaru) i bez dodatku inhibitora. Otrzymaną miazgę poddano rozparzeniu (10 min, 90°C), po czym po schłodzeniu do 40–45°C poddano ją obróbce enzymatycznej (60 min, 45°C). Do próbek z jasnych owoców zastosowano enzym Panzym Yield Mash 0,5 gkg⁻¹ owoców), a do próbek mieszanych z owocami zawierającymi antocyjany dodatkowo wprowadzono preparat enzymatyczny Pectinex BE Color [0,3 (Panzym Yield Mash) + 0,2 gkg⁻¹]. Następnie miazgę tłoczono z wykorzystaniem prasy laboratoryjnej (3 MPa, 5 min), a przeciery otrzymano po przetarciu miazgi przez sito. Otrzymane produkty poddano pasteryzacji i rozlano do opakowań szklanych (130 g). Tak przygotowane produkty analizowano bezpośrednio po otrzymaniu oraz po przechowywaniu w temperaturze 4 i 30°C przez 6 miesięcy. Schemat doświadczenia przedstawiono na rysunku 6.

3.4. Etap III. Aktywność przeciwnowotworowa preparatów polifenolowych z owoców pigwy pospolitej i jabłek

Realizacja III części doświadczeń dotyczyła wyznaczenia aktywności przeciwnowotworowej preparatu polifenolowego z owoców pigwy w stosunku do linii ludzkiego nowotworu pęcherza moczowego (HCV29T) oraz linii ludzkiego nowotworu gruczołu piersiowego (MCF-7). W celu porównania przygotowano analogiczny preparat z jabłek.

Przygotowanie preparatów polifenolowych z owoców

Rozdrobnione owoce z dodatkiem przeciwutleniacza (NaHSO₃, 200 mgkg⁻¹) poddano tłoczeniu na prasie laboratoryjnej, po czym uzyskany sok przepuszczano przez

żywicę w celu adsorpcji związków polifenolowych. Po naniesieniu na kolumnę ze złożem Amberlit® XAD 16 (Rohm & Haas) soku – kwasy organiczne i cukry wymywano wodą redestylowaną, a związki polifenolowe 96% alkoholem etylowym. Alkohol etylowy usunięto poprzez odparowanie na wyparce rotacyjnej próżniowej w temperaturze 40°C, a pozostałość poddano 24-godzinnej liofilizacji. Tak otrzymany preparat związków polifenolowych służył do dalszych badań.

Przygotowanie preparatów do testów na liniach komórkowych

Testom poddano dwa preparaty polifenolowe z owoców pigwy i jabłek. Związki polifenolowe były rozpuszczane w 70% etanolu, dlatego zastosowano etanol jako próbę kontrolną. Roztwory do badań przygotowywano, rozpuszczając 10 lub 80 mg preparatu w 100 µl 70% etanolu + 900 µl pożywki hodowlanej. Rozpuszczalnikiem dalszych rozcieńczeń była pożywka hodowlana.

Pożywka użyta do rozpuszczenia związków polifenolowych, jak i namnażania komórek nowotworowych składała się z OPTI – MEM (zmodyfikowanego medium Eagle + RPMI- Roswell Park Memorial Institute), 5% FBS Clone, 2 mMole glutaminy z dodatkiem mieszaniny antybiotyków penicyliny i streptomycyny w stężeniach odpowiednio 100 jml⁻¹ i 10-4 jml⁻¹.

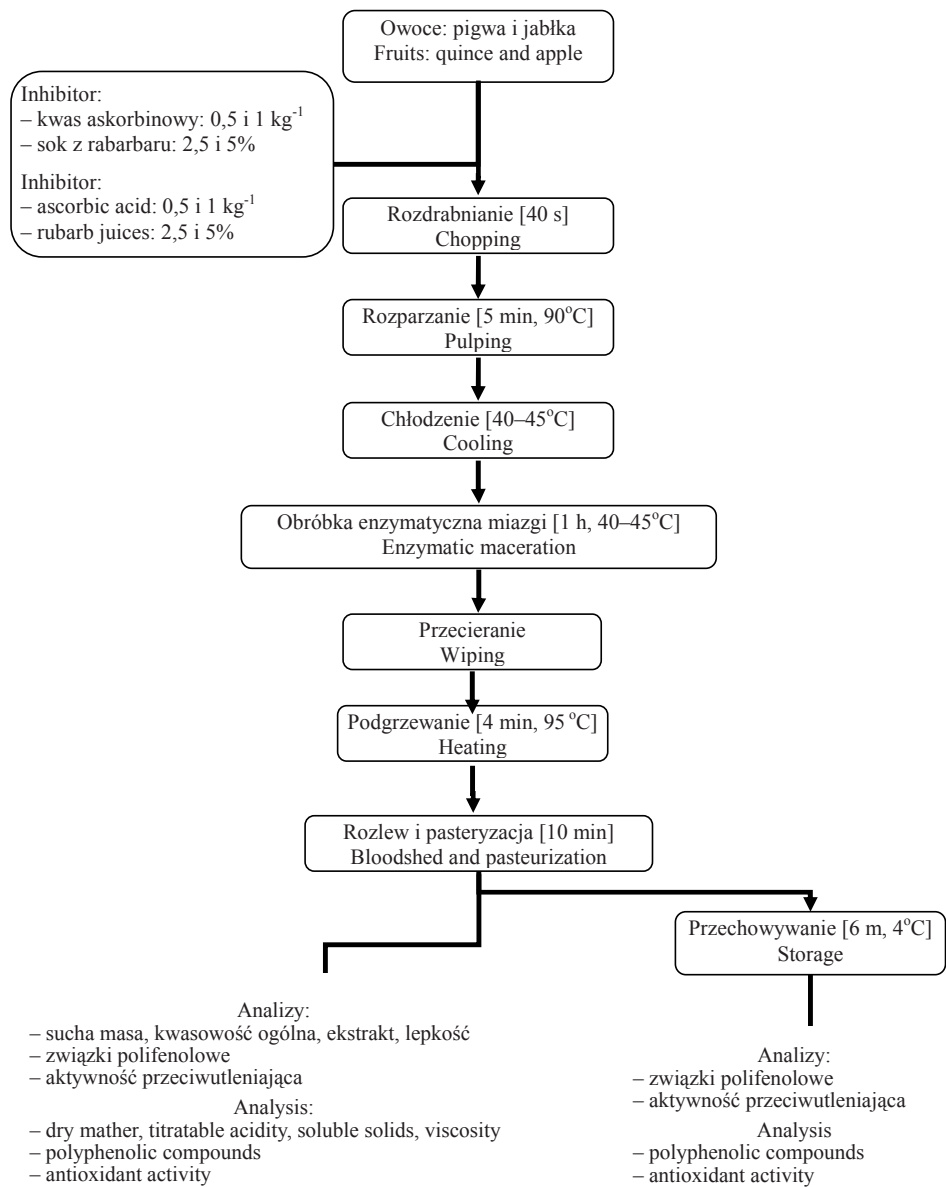
Preparaty polifenolowe testowano w przedziale stężeń od 10; 5; 2,5; 1,0 mgml⁻¹. Do badań użyto komórek następujących linii nowotworowych:

- ludzki nowotwór gruczołu piersiowego MCF-7,
- ludzki nowotwór pęcherza moczowego HCV29T.

Komórki hodowano na odpowiednim podłożu w temperaturze 37°C, w wilgotnym powietrzu nasyconym 5% CO₂.

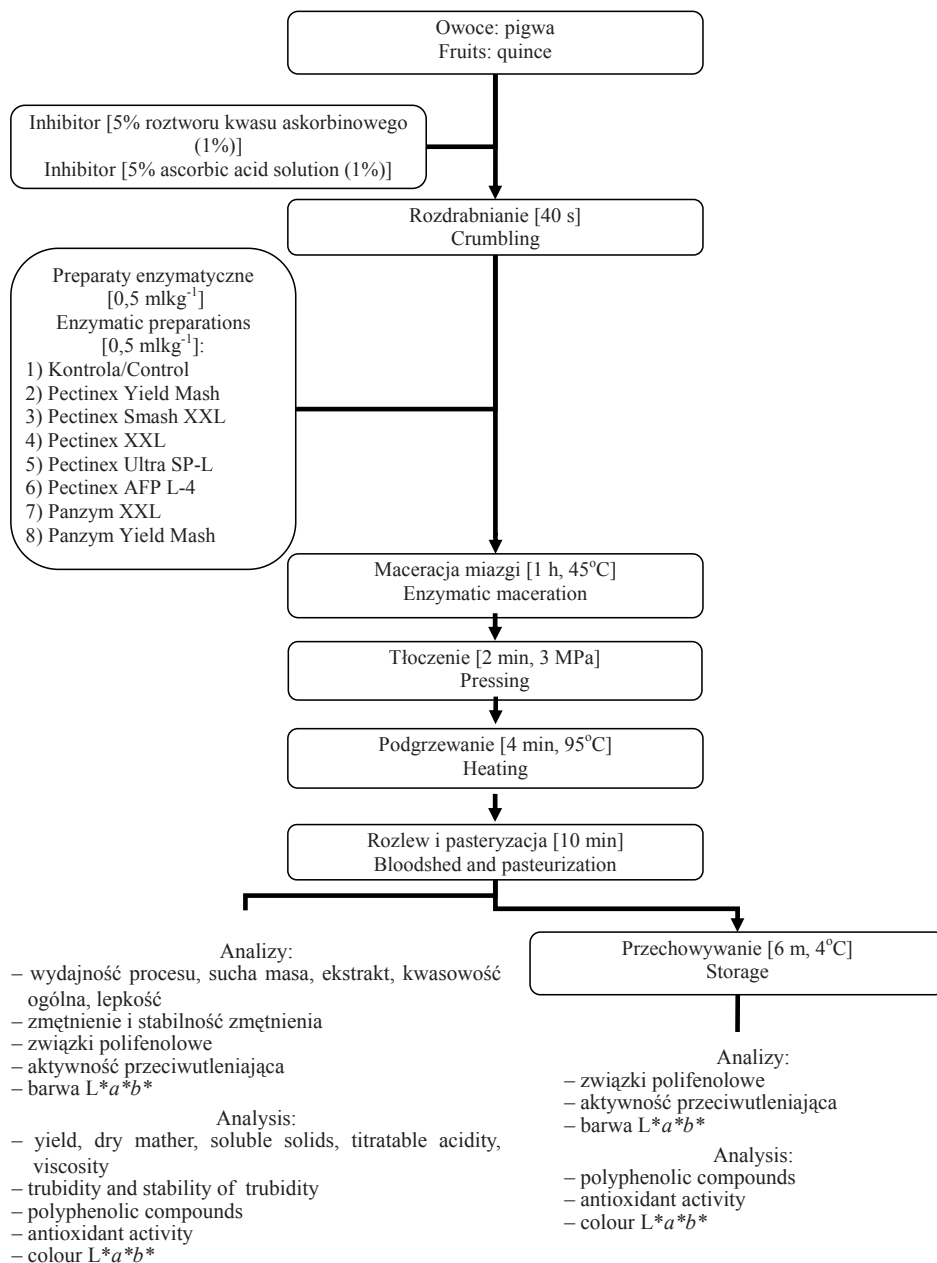
Test cytotoksyczny (SRB)

Aktywność cytotoksyczną testowanych związków wobec komórek linii MCF-7, HCV29T oceniono przy użyciu testu SRB mierzącego zahamowanie proliferacji komórek docelowych w 96-godzinnej hodowli *in vitro* [Skehan i wsp. 1990]. W każdym doświadczeniu próbki zawierające określone stężenia preparatu nanoszono w trzech powtórzeniach. Doświadczenia powtarzano co najmniej trzy razy.



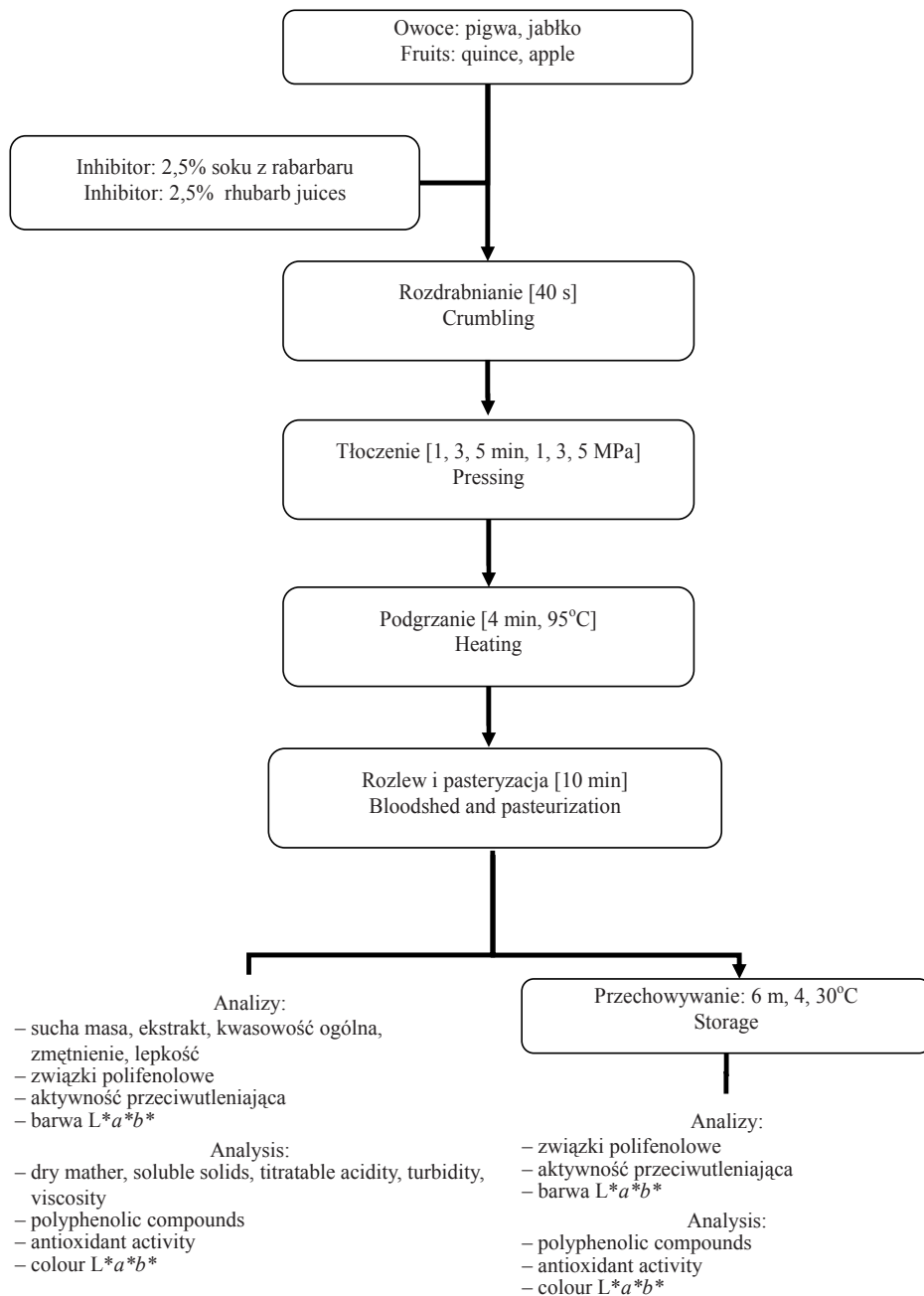
Rys. 3. Schemat procesu technologicznego produkcji przecierów z owoców pigwy i jabłek (dobór inhibitora utleniania enzymatycznego)

Fig. 3. Diagram showing the technological process of quince and apple fruit mash production (selection of enzymatic oxidation inhibitor)

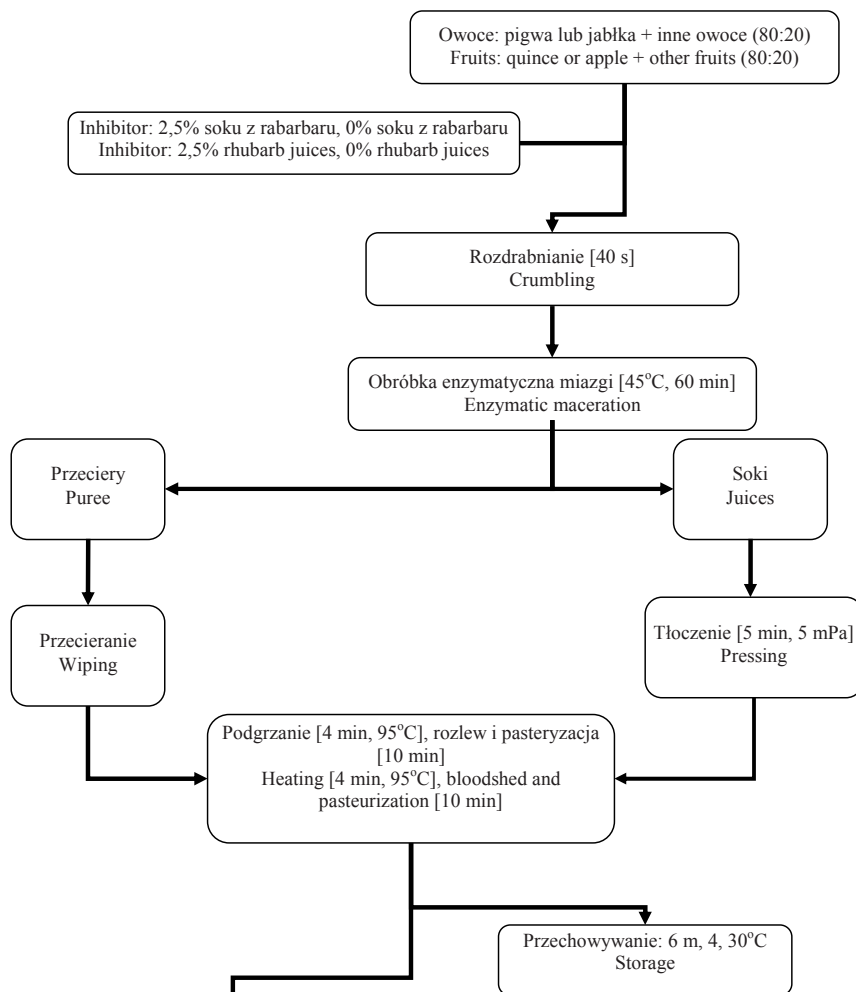


Rys. 4. Schemat procesu technologicznego produkcji soków z owoców pigwy (dobór preparatów enzymatycznych)

Fig. 4. Diagram of technological process of quince fruit juice production (selection of enzymatic preparations)



Rys. 5. Schemat procesu technologicznego produkcji soku mętnego z owoców pigwy i jabłek
 Fig. 5. Diagram of the technological process of cloudy juice production from quince and apple fruits



- Analizy:
- sucha masa, ekstrakt, kwasowość ogólna, zmętnienie, lepkość
 - związki fenolowe
 - aktywność przeciwutleniająca
 - barwa $L^*a^*b^*$

- Analysis:
- dry matter, soluble solids, titratable acidity, turbidity, viscosity
 - polyphenolic compounds
 - antioxidant activity
 - colour $L^*a^*b^*$

- Analizy:
- związki polifenolowe
 - aktywność przeciwutleniająca
 - barwa $L^*a^*b^*$

- Analysis:
- polyphenolic compounds
 - antioxidant activity
 - colour $L^*a^*b^*$

Rys. 6. Schemat technologii produkcji soków i przecierów oraz produktów mieszanych z owoców pigwy i jabłek

Fig. 6. Technology of single and multicomponent juice and puree production from quince and apple fruits

3.5. Metody analiz

Właściwości chemiczne

W zależności od badanego surowca (owoców) bądź produktów (soki i przeciery) oznaczono:

- suchą masę – metodą wagową (Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. PN-90/A-75101/03);
- kwasowość ogólną – metodą miareczkową (Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. PN-90/A-75101/04); wyniki podano w $\text{mg}100\text{g}^{-1}$ w przeliczeniu na kwas jabłkowy;
- ekstrakt refraktometryczny (Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. PN-90/A-75101/02) z wykorzystaniem refraktometru Pocket PAL-1 (Pocket Refraktometr, Polska);
- zawartość pektyn (Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. PN-90/A-75101/07);
- zawartość witaminy C według Oszmiańskiego i wsp. [2009a];
- aktywność polifenolooksyadzy według Gonzaleza i wsp. [1999];
- zawartość związków polifenolowych metodą HPLC według Oszmiańskiego i wsp. [2009c];
- zawartość polimerów proantocyjanidyn oznaczono metodą floroglucinolizy według Kennedy'ego i Jonesa [2001];
- przygotowanie wytrąconego osadu polisacharydów do badań zawartości polimerów proantocyjanidyn według Mehrländera i wsp. [2002];
- identyfikację związków polifenolowych przeprowadzono z użyciem aparatu typu HPLC-ESI/MS według Jandy i wsp. [2009].

Pomiar cech fizycznych otrzymanych przetworów

Wykonano pomiary:

- barwy w systemie CIE Lab przy użyciu aparatu Color Quest XE firmy HunterLab. Próbkę umieszczono w kuwetach ze szkła kwarcowego o grubości 1 cm, wykorzystując skalę CIE $L^*a^*b^*$. Następnie dokonano pomiaru w świetle odbitym lub przechodzącym, dla obserwatora typ 10° z iluminatem D_{65} .

Oznaczenie parametrów:

L^* – jasność w skali od 0 (ciało idealnie czarne) do 100 (ciało idealnie białe)

a^* – barwa od zielonej ($-a^*$) do czerwonej (a^*)

b^* – barwa od niebieskiej ($-b^*$) do żółtej (b^*).

- zmętnienia wraz z wyznaczeniem stopnia trwałości zmętnienia zgodnie z metodą podaną przez Mihaleva i wsp. [2004];
- lepkości – lepkościomierzem Brookfield Dv-II-Pro (szpindel o symbolu s00 dla soków i s64 dla przecierów).

Aktywność przeciwutleniająca

Pomiar aktywności przeciwutleniającej badanych owoców oraz soków i przecierów dokonano wykorzystując metody:

- z syntetycznie generowanym rodnikiem DPPH według metody podanej przez Yen i wsp. [1997];
- z anionorodnikiem ABTS według metody podanej przez Re i wsp. [1999];
- z redukcją żelaza wyznaczoną metodą FRAP według metody podanej przez Benzie i Strain [1996];

Analizy te wykonano przy użyciu spektrofotometru UV 2401 PC (Shimadzu, Japonia). Otrzymane wyniki podano jako $\mu\text{Mole Trolox } 100\text{g}^{-1}$ lub 100ml^{-1} .

Ocena organoleptyczna

Ocenę cech organoleptycznych badanych produktów przeprowadzono według skali 5-punktowej. Oceny dokonywał zespół pięciu, odpowiednio przeszkolonych ekspertów, spełniających wymagania w zakresie wrażliwości sensorycznej (PN-A88034; PN-A88036; PN-A74780). Posługiwano się wzorcowymi kartami oceny opracowanymi przez autora pracy. Oceniano barwę, zapach, smak i – w zależności od typu produktu (sok, przecier) – konsystencję i wygląd. Za ocenę ogólną przyjęto wartość uzyskaną ze zsumowania iloczynów poszczególnych ocen i mnożników ważkości, a następnie podzielenia tej sumy przez sumę mnożników ważkości.

Analiza genów kodujących enzymy szlaku syntezy związków polifenolowych

Analizę genów kodujących enzymy szlaku syntezy związków polifenolowych wykonano na podstawie:

- izolacji RNA przeprowadzonej zgodnie z metodą podaną przez Azevedo i wsp. [2003];
- rozdziału elektroforetycznego RNA w warunkach denaturujących przeprowadzonego zgodnie z metodą podaną przez Logemann i wsp. [1987];
- transferu RNA na membranę nylonową wykonanego według metody podanej przez Maniatis i wsp. [1989].

Hybrydyzacja RNA-DNA (Northern blot)

Związany z nylonowym filtrem RNA hybrydyzowano przez noc z radioaktywną sondą cDNA w 42°C w buforze PEG o składzie: 250 mM bufor fosforanowy pH 7.2, 7% (w/v) SDS, 1% (w/v) BSA i 1 mM EDTA. Filtry odmywano dwukrotnie w roztworze 2 x SSPE zawierającym 0,1% SDS w temperaturze 42°C przez 10 min, następnie w roztworze 1 x SSPE zawierającym 0,1% SDS w temperaturze 42°C przez 15 min i dwukrotnie w 0,1 x SSPE zawierającym 0,1% SDS w temperaturze 42°C przez 10 min, a następnie eksponowano na film w -70°C .

Znakowanie radioaktywnej sondy

Sondy DNA znakowano radioaktywnie ^{32}P przy użyciu zestawu Multi Prime (Boehringer, Mannheim) w reakcji, w której jako primerów używano heksanukleotydów będących mieszaniną wszystkich możliwych wariantów sekwencyjnych. Sondy oczyszczano następnie na kolumnie wypełnionej Sefadexsem G50. Za dobrą uznawano sondę, której swoista radioaktywność wynosiła powyżej 100 mln cpm.

3.6. Statystyczne opracowanie wyników

Otrzymane wyniki badań poddano analizie wariancji, stosując pakiet STATISTICA 8 firmy StatSoft (Inc. 2009, USA). Obliczenia wykonano na poziomie istotności $\alpha=0,05$. Grupy jednorodne wyznaczono za pomocą testu porównań wielokrotnych Duncana z zastosowaniem oznaczenia literowego a, b, c – przy czym wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie statystycznie. Istotność różnic pomiędzy średnimi obliczono na podstawie kryterium najmniejszej istotnej różnicy (NIR). Wyniki badań z części biochemicznej i technologicznej przedstawiono jako wartości średnie z trzech powtórzeń ($n=3$) oraz w odniesieniu do analiz chromatograficznych z dwóch powtórzeń ($n=2$) analitycznych. Wyniki badań z części biologicznej przedstawiono jako wartości średnie z pięciu powtórzeń analitycznych.

4. OMÓWIENIE WYNIKÓW

4.1. Identyfikacja i analiza biosyntezy związków polifenolowych owoców pigwy pospolitej

4.1.1. Identyfikacja związków polifenolowych owoców pigwy pospolitej ze szczególnym uwzględnieniem proantocyjanidyn

W tabeli 1 przedstawiono wyniki identyfikacji związków polifenolowych owoców pigwy wykonaną metodą chromatografii cieczowej z detektorem masowym.

W owocach pigwy zidentyfikowano związki polifenolowe należące do kwasów fenolowych (hydroksycynamonowe), flawonoli i flawanoli. Z grupy kwasów fenolowych stwierdzono obecność kwasu chlorogenowego i jego pochodnych (kwasu 3-*O*-kawoilochinowego, 4-*O*-kawoilochinowy 3,5-di kawoilochinowy) oraz *p*-kumarowo-chinowego. W jabłkach zidentyfikowano kwas chlorogenowy i *p*-kumarowo-chinowy oraz kwas kryptochlorogenowy. Owoce pigwy oprócz pochodnych kwercetyny (galaktozydu, rutynozydu, glukozydu) zawierały pochodne kemferolu (rutynozydu i glukozydu), podczas gdy w jabłkach były to tylko pochodne kwercetyny (rutynozydu, galaktozydu, glukozydu, arabinozydu, ksylozydu i ramnozydu).

Zarówno w owocach pigwy, jak i jabłkach przeprowadzone analizy związane z identyfikacją związków z grupy flawanoli wskazały na obecność monomerów (+)-katechiny i (-)-epikatechiny, dimerów i polimerów procyanidyn. Na obecność tych związków wskazywała dodatkowo analiza ich zawartości wykonana metodą floroglucynolizy.

Tabela 1

Table 1

Wyniki identyfikacji związków polifenolowych pigwy pospolitej i jabłek metodą HPLC-ESI/MS
HPLC-ESI/MS analysis of phenolic compounds in quince and apple fruits

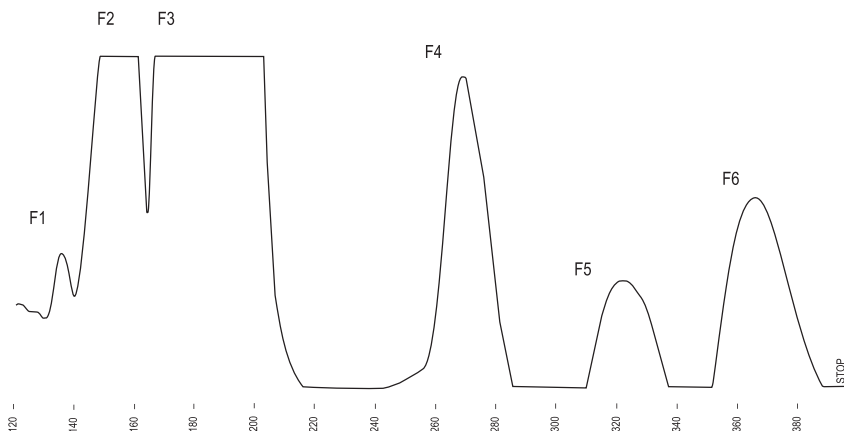
Rt [min]	λ max [nm]	[M+H] ⁺ m/z	Związek – Compounds	Surowiec Raw material
5,71	325	355	kwas neochlorogenowy (3-O-kawoilochinowy) neochlorogenic acid (3-O-caffeoylquinic acid)	P/ Q
6,76	279	291	(+)-katechina – (+)-catechin	P-J/ Q-A
7,01	278	579	procyjanidyna B1 – procyanidin B1	P-J/ Q-A
8,90	326	355	kwas chlorogenowy (5-O-kawoilochinowy) chlorogenic acid (5-O-caffeoylquinic acid)	P-J/ Q-A
9,35	324	355	kwas krypto-chlorogenowy (4-O-kawoilochinowy) cryptochlorogenic acid (4-O-caffeoylquinic acid)	P-J/ Q-A
9,87	279	291	(-)-epikatechina – (-)-epicatechin	P-J/ Q-A
10,70	305	337	kwas <i>p</i> -kumarowo-chinowy – <i>p</i> -cumaric quinic acid	J/ A
14,05	280	577	procyjanidyna B2 – procyanidin B2	P-J/ Q-A
14,67	324	355	kwas 3,5-O-di kawoilochinowy 3,5-O-dicaffeoylquinic acid	P/Q
14,95	279	867	procyjanidyna C1 – procyanidin C1	P-J/ Q-A
18,34	280	1156	procyjanidyna tetramer – procyanidins tetramer	P/ Q
18,74	356	611	kwercetyno 3-O-rutynozyd – quercetin 3-O-rutinoside	P-J/ Q-A
21,73	280	1442	procyjanidyna pentamer – procyanidins pentamer	P/ Q
23,92	355	465	kwercetyno 3-O-galaktozyd – quercetin 3-O-galaktozyd	P-J/ Q-A
26,55	275	595	kemferol 3-O-rutynozyd – keampferol 3-O-rutinoside	P/ Q
28,30	354	465	kwercetyno 3-O-glukozyd – quercetin 3-O-glucoside	P-J/ Q-A
29,14	278	449	kemferol 3-O-glukozyd – keampferol 3-O-glucoside	P-/ Q
31,90	355	433	kwercetyno 3-O-arabinozyd – quercetin 3-O-arabinoside	J/ A
33,79	350	433	kwercetyno 3-O-ksylozyd – quercetin 3-O-xyloside	J/ A
34,04	345	447	kwercetyno 3-O-ramnozyd – quercetin 3-O-rhamnoside	J/ A
34,02	285	567	floretyno-2'-ksylo-glukozyd – phloretin-2'-xylo-glucoside	J/ A
36,80	285	568	florydzyina – phloridzin	J/ A

Rt – czas retencji – retention time

P/Q – pigwa – quince

J/A – jabłko – apple

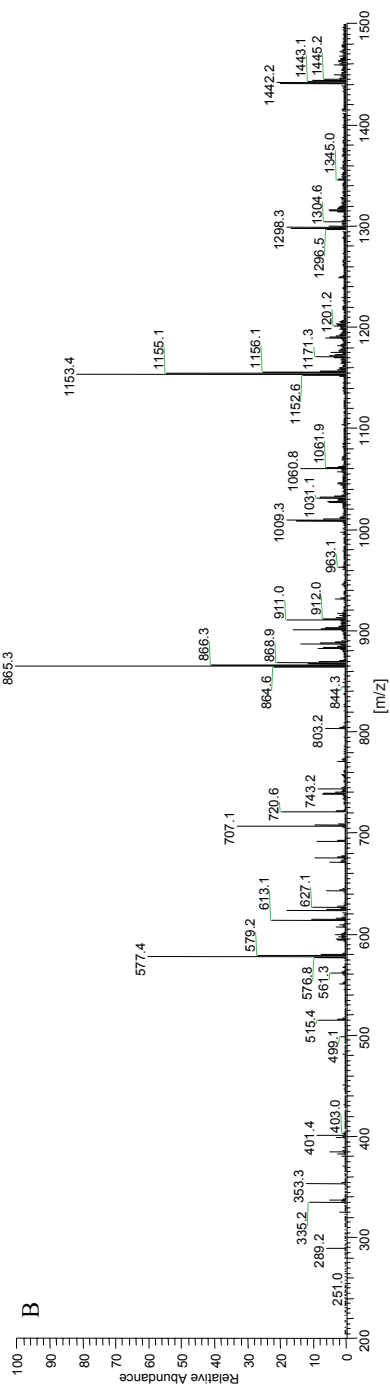
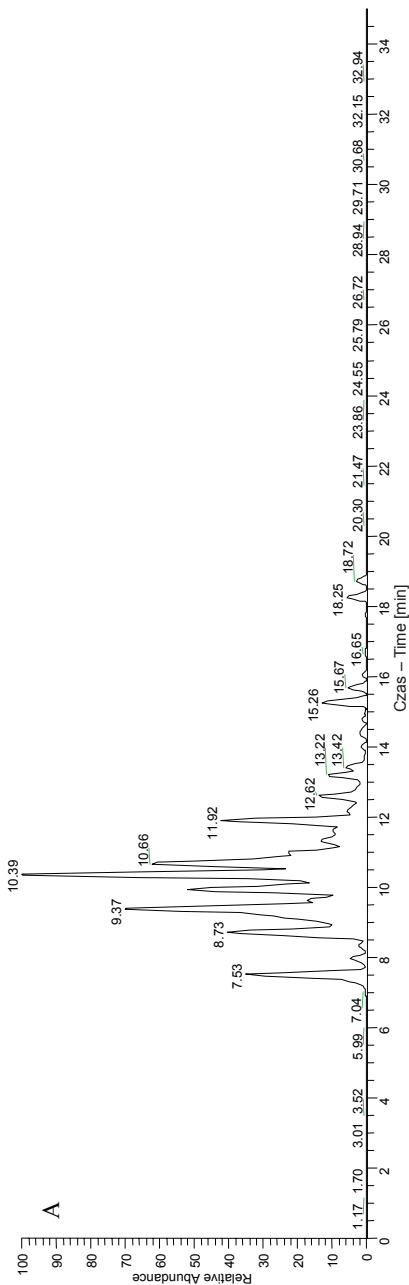
Na rysunku 7 przedstawiono chromatogram związków polifenolowych ($\lambda=280$ nm) uzyskany z rozdziału na kolumnie preparatu polifenolowego z owoców pigwy. W preparacie otrzymanym z niedojrzałych owoców pigwy uzyskano 6 frakcji. Poszczególne frakcje poddano szczegółowej identyfikacji, stosując technikę chromatograficzną HPLC-ESI/MS.



Rys. 7. Chromatogram frakcji preparatu proantocyjanidynowego z owoców pigwy po rozdziale na chromatografii kolumnowej na wypełnieniu Toypearl HW-40F

Fig. 7. Chromatogram of proanthocyanidin preparation fraction from quince fruit after the separation by column chromatography with Toypearl HW-40F

Identyfikacja związków polifenolowych metodą HPLC-ESI/MS polegała na porównaniu czasu retencji ze standardami, spektrum masowego i widma w zakresie UV-VIS. Przykładowy chromatogram (280 nm) i widmo HPLC-ESI/MS, uzyskany z preparatu procyanidyn z owoców pigwy pospolitej, przedstawiono na rysunku 8. Frakcje 1 i 2 charakteryzowały się odpowiednio obecnością związków polifenolowych z grupy kwasów fenolowych oraz flawonoli. Dopiero we frakcjach 3–6 stwierdzono obecność flawan-3-oli. Analizując wyniki uzyskane z użyciem detektorów DAD i ESI/MS, wykryto, że we frakcji 3 (F3) były to związki o masie cząsteczkowej m/z 289, z widmem przy maksimum 279 nm o czasach retencji odpowiadającym standardom (+)-katechiny i (-)-epikatechiny.



Rys. 8. Chromatogram (280 nm) [A] i widmo HPLC-ESI/MS [B] dla preparatu procyanidyn z owoców pigwy pospolitej
 Fig. 8. Chromatogram recorded at UV 280 nm [A] and HPLC-ESI/MS [B] spectrum of quince fruits procyanidin fractions

Ze spektrum masowego frakcji 4 i 5 (F4 i F5) uzyskano intensywny sygnał o wartości $[M-H]^-$ z m/z 577, przy 7,01 i 14,05 min, co wskazuje na obecność dimerów procyanidyny. Czas retencji tych związków (7,01 i 14,05 min) w odniesieniu do standardów odpowiadał czasowi retencji dla procyanidyny B1 i procyanidyny B2. Związki frakcji 6 (F6) charakteryzowały się wysoką masą cząsteczkową $[M-H]^-$ z m/z 867 oraz m/z 1156 i 1442, co odpowiadało trzem i więcej jednostkom podstawowym monomerów (+)-katechiny lub (-)-epikatechiny. Fragmentacja trimeru (m/z 867) była analogiczna do fragmentacji dimeru, gdyż po rozerwaniu wiązań wewnątrzcząsteczkowych nastąpiło odłączenie $-[M-H]^-$ z m/z 577 i 289. Natomiast w przypadku jonów m/z 1156 i 1442 ich duże masy cząsteczkowe wskazywały na obecność tetrameru i pentameru.

W tabeli 2 przedstawiono porównanie zawartości zidentyfikowanych związków polifenolowych w owocach pigwy oraz jabłek oznaczonych metodą HPLC.

Niezależnie od gatunku badanych owoców stwierdzono wyższą zawartość związków polifenolowych w skórce niż w miąższu. Zawartość polifenoli w analizowanych częściach anatomicznych miąższu i skórce owoców pigwy była kilkakrotnie wyższa w porównaniu z jabłkami. Dominującymi związkami chemicznymi występującymi w owocach zarówno pigwy, jak i jabłek były flawanole, w tym polimery procyanidyn. W przypadku jabłek zawartość polimerów procyanidyn wynosiła 308,71 i 197,23 $\text{mg}100\text{g}^{-1}$ w skórce i miąższu. Owoce pigwy były ~ 3 razy zasobniejsze w polimery procyanidyn niż jabłka, niezależnie czy analizowano skórkę, czy miąższ. Natomiast zawartość pozostałych związków z grupy flawanoli, tj. monomerów i dimerów, była wyższa w badanych jabłkach niż w owocach pigwy. W przypadku pigwy zawartość procyanidyny B1 i B2 była wyższa niż (+)-katechiny i (-)-epikatechiny wśród flawanoli oznaczonych metodą chromatografii cieczowej. Natomiast w jabłkach nie tylko procyanidyny B1, B2 i C1, ale także monomery występowały w skórce w znacznej ilości. Z porównania zawartości flawanoli w różnych częściach owocu wynikało, że związki te zlokalizowane były w większej mierze w miąższu owoców niż w skórce, odwrotnie niż flawanole.

Owoce pigwy charakteryzowały się wyższą i bardziej zróżnicowaną zawartością kwasów fenolowych w porównaniu z jabłkami. W owocach tych zmierzono nie tylko wyższą zawartość kwasu chlorogenowego (5-*O*-kawoilochinowy), ale również obecny był kwas neochlorogenowy (3-*O*-kawoilochinowy) oraz 3,5-di kawoilochinowy. W porównaniu z jabłkami w miąższu owoców pigwy zawartość pochodnych kwasu chlorogenowego wynosiła 470,39 $\text{mg}100\text{g}^{-1}$ i była ~ 4 razy wyższa.

Obecność dihydrochalkonów stwierdzono tylko w jabłkach. Ich zawartość może być wykorzystana jako wskaźnik do rozpoznawania zafałszowań produktów pigwy jabłkami.

W ramach prowadzonych badań ustalono istotne różnice jakościowe i ilościowe w zawartości związków z grupy flawanoli pomiędzy owocami pigwy i jabłek. Zawartość pochodnych kwercetyny w skórce pigwy była wyższa niż w skórce jabłek, średnio o 30%. Zarówno w jabłkach, jak i owocach pigwy dominującym związkiem był kwercetyno 3-*O*-galaktozyd. Mimo tego w skórce pigwy zawartość tego związku wynosiła 197,23 $\text{mg}100\text{g}^{-1}$, co stanowiło o 16% więcej niż w skórce jabłek.

Tabela 2

Table 2

Zawartość związków polifenolowych w miąższu i skórce owoców pigwy oraz jabłek [mg100g⁻¹]
The content of phenolic compounds in fruits and peels of quince and apple

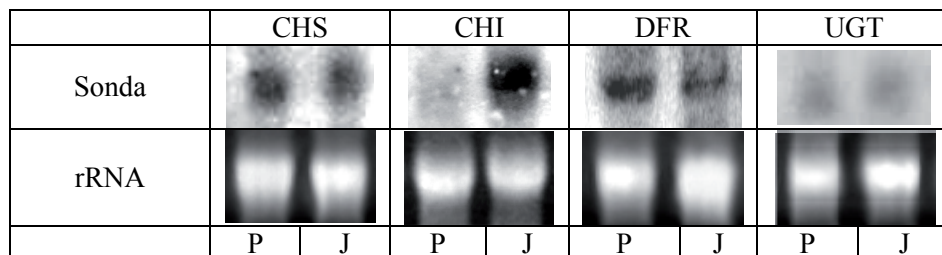
Związek Compounds	Zawartość związków polifenolowych w miąższu Content of phenolic compounds in fruits		Zawartość związków polifenolowych w skórce Content of phenolic compounds in peel	
	pigwa quince	jabłko apple	pigwa quince	jabłko apple
(+)-katechina – (+)-catechin	1,09	11,03	37,85	163,91
procyjanidyna B1 – procyanidins B1	46,87	25,36	8,09	0,00
procyjanidyna B2 – procyanidins B2	42,48	128,46	91,75	118,46
(-)-epikatechina – (-)-epicatechin	3,75	70,39	54,65	8,05
procyjanidyna C1 – procyanidins C1	3,16	60,73	0,00	0,00
polimery procyjanidyn – polymeric procyanidins	638,97	197,23	862,40	308,70
kwas neochlorogenowy – neochlorogenic acid	252,77	0,00	321,50	0,00
kwas <i>p</i> -kumarylo chinowy – <i>p</i> -cumarylquinic acid	3,31	4,78	6,11	5,78
kwas chlorogenowy – chlorogenic acid	183,79	100,38	314,46	159,51
kwas krypto-chlorogenowy – cryptochlorogenic acid	33,83	5,48	29,66	2,57
3,5-di kawoilochinowy – 3,5-di caffeoylquinic acid	10,36	0,00	16,86	0,00
floretyno-2'-ksylo glukozyd phloretin-2'xyloglucoside	0,00	94,13	0,00	12,84
Florydzyzna – phloridzin	0,00	133,18	0,00	6,44
kwercecytno 3-O-rutynozyd quercetin 3-O-rutinoside	5,10	0,36	20,28	1,60
kwercecytno 3-O-galaktozyd quercetin 3-O-galactoside	21,94	2,63	197,23	31,04
kwercecytno 3-O-glukozyd quercetin 3-O-glucoside	4,41	0,38	30,89	6,46
kamferol 3-O-glikozyd keampereol 3-O-glicoside	5,86	0,00	48,95	0,00
kamferol 3-O-glukozyd keamperol 3-O-glucoside	1,24	0,00	3,73	0,00
kwercecytno 3-O- arabinozyd quercetin 3-O-arabinoside	0,00	2,15	0,00	14,66
kwercecytno 3-O-ksylozyd quercetin 3-O-xyloside	0,00	2,30	0,00	20,72
kwercecytno 3-O- ramnozyd quercetin 3-O-rhamnoside	0,00	1,71	0,00	15,66
Suma – Total	700,97	240,77	980,60	386,76

W celu przejrzystego przedstawienia wyników zawartości związków polifenolowych w dalszej części pracy zostały one podane jako suma z poszczególnych klas, tj. kwasy fenolowe, flawanole (jako suma monomerów i dimerów procyanidyn oraz osobno polimery procyanidyn występujące w danych surowcach), flawonole, a w przypadku jabłek – także dihydrochalkony.

4.1.2. Porównanie aktywności genów kodujących enzymy szlaku syntezy związków polifenolowych w owocach pigwy pospolitej i jabłkach

Poprzez analizę aktywności enzymów na drodze biosyntezy związków polifenolowych szlaku fenylopropanoidowego, stwierdzając obecność genów kodujących poszczególne ich grupy, można potwierdzić i wykazać ich obecność.

W badanych owocach został sprawdzony poziom ekspresji rRNA dla izomeryzy chalkonu (CHI), syntazy chalkonu (CHS), reduktazy dihydroflawonolu (DFR) oraz glukotransferazy (UGT). W tym celu z owoców będących w trakcie wzrostu (50 dni po zakończeniu kwitnienia) wyizolowano całkowite RNA. Po rozdziale elektroforetycznym i transferze na błonę nitrocelulozową przeprowadzono analizę Northern blot z radioaktywną sondą, którą było cDNA dla CHI, CHS, DFR i UGT. Poziom transkrypty badanych enzymów przedstawiono na rysunku 9.



Rys. 9. Poziom ekspresji cDNA kodującego główne enzymy szlaku syntezy związków polifenolowych owoców pigwy [P] i jabłoni [J]

CHI – izomeraza chalkonu
 CHS – syntaza chalkonu
 DFR – reduktaza dihydroflawonolu
 UGT – glukozylotransferaza

Fig. 9. The expression level of cDNA coding the main enzymes of quince [P] and apple [J] polyphenolic compounds synthesis trail

CHI – chalcone isomerase
 CHS – chalcone synthase
 DFR – dihydroflavonol reductase
 UGT – glucosyltransferase

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że geny kodujące enzymy bezpośrednio zaangażowane w biosyntezę poszczególnych grup flawonoidów charakteryzowały się zróżnicowaną aktywnością. Badania nie wykazały obecności izomeryzy

chalkonu (CHI) oraz glukozylotransferazy (UGT) w owocach pigwy. Dodatkowo, nie uzyskano aktywności enzymu UGT w jabłkach. Występowanie izomerazy chalkonu w owocach jabłoni związane jest z powstawaniem i obecnością dihydrochalkonów w procesie biosyntezy flawonoidów. Silny sygnał dla owoców pigwy otrzymano w przypadku reduktazy dihydroflawonu (DFR) kodującego geny odpowiedzialne za tworzenie się leucoantocyjanidyny, prekursorów (+)-katechiny i (-)-epikatechiny oraz proantocyjanidyn. Natomiast w przypadku syntazy chalkonu (CHS) w pigwie i jabłkach otrzymany sygnał był o podobnej intensywności.

4.1.3. Zawartość związków polifenolowych w owocach pigwy pospolitej w trakcie wzrostu

W badaniach związanych z wyznaczeniem zmian w zawartości związków polifenolowych w owocach pigwy będących w różnym stadium dojrzałości materiał do analiz pobierano cyklicznie co 3 tygodnie począwszy od 22 maja, 10 dni po kwitnięciu, aż do 23 października 2009 r. (8 zbiorów). Wyniki oznaczeń wybranych składników chemicznych w trakcie tego okresu przedstawiono w tabeli 3. W czasie wzrostu i dojrzewania owoców obserwowano zmiany suchej masy owoców, kwasowości ogólnej, pH, zawartości kwasu askorbinowego i ekstraktu. Zmiany te były wynikiem namnażania i wzrostu komórek roślinnych, ale także warunków klimatycznych panujących w tym okresie, takich jak intensywność opadów.

Masa poszczególnych owoców pigwy przy pierwszym zbiorze wynosiła 3–6 g, natomiast owoce dojrzałe przeciętnie ważyły 320–440 g [Wojdyło 2009, dane niepublikowane].

Zawartość suchej masy ulegała zmianom w trakcie wzrostu owoców pigwy pospolitej. W początkowej fazie wzrostu była ona na podobnym poziomie, tj. 24,57–24,36%, po 71 dniach od kwitnienia podniosła się do 33,44% (P4). Natomiast w dojrzałych owocach zawartość suchej masy wynosiła 17,72% (P8). Odmienne w stosunku do zawartości suchej masy kształtowała się zawartość ekstraktu badanych owoców, jak i kwasowość ogólna. Zawartość ekstraktu przez cały okres zbioru niemal sukcesywnie zwiększała się od 8,5 do 12,4%. Podobnie wzrastała kwasowość ogólna badanych owoców, co w ostatniej fazie dojrzewania owoców uległo zahamowaniu (1,48–1,36 g kwasu jabłkowego 100g⁻¹). Niedojrzałe owoce charakteryzowały się niską kwasowością ogólną, ale wysokim odczynem pH. Obniżenie odczynu pH było związane bezpośrednio z gromadzeniem się cukrów w owocach.

Owoce pigwy charakteryzowały się niską zawartością kwasu askorbinowego. Dodatkowo, zawartość tego składnika podlegała znaczącym zmianom. W początkowym okresie wzrostu badanych owoców zawartość kwasu askorbinowego była nieznaczna. W ostatnim stadium dojrzewania owoców zawartość tego składnika była najwyższa i wynosiła 10,12 mg100g⁻¹.

W trakcie wzrostu owoców pigwy zawartość związków polifenolowych podlegała zmianom ilościowym i jakościowym (rys. 10). Analizując całkowitą zawartość związków polifenolowych w początkowym okresie dojrzewania owoców pigwy, łącznie do 73 dni po kwitnieniu, obserwowano ich przyrost, po czym nastąpiło ich obniżenie.

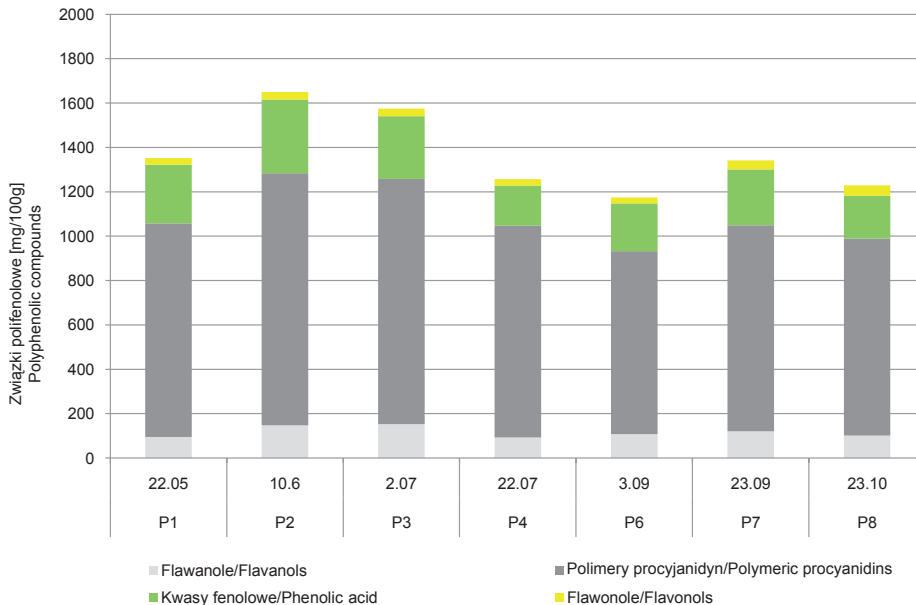
Tabela 3

Table 3

Zmiana wybranych właściwości chemicznych owoców pigwy pospolitej w trakcie wzrostu i dojrzewania owoców

Change of some chemical properties of the quince fruits during growth and maturation of quince fruit

Data zbioru Time of collection	Liczba dni po kwitnieniu Days after blooming	Kod zbioru Code of collection	Sucha masa Dry matter [%]	Ekstrakt Soluble solids [%]	pH	Kwasowość ogólna [g kwasu jabłkowego 100g ⁻¹] Titratable acidity [g malic acid 100g ⁻¹]	Kwas askorbinowy Ascorbic acid [mg100g ⁻¹]
22.05	10	P1	24,57	8,5	4,92	0,25	3,94
10.06	29	P2	24,36	7,6	4,53	0,26	5,68
2.07	51	P3	29,25	6,9	2,93	0,37	1,86
22.07	71	P4	33,44	8,1	3,94	0,42	1,19
13.08	93	P5	25,62	9,8	3,59	0,58	1,26
3.09	114	P6	20,80	11,9	3,08	1,06	2,92
23.09	134	P7	18,70	12,4	3,12	1,48	9,78
23.10	164	P8	17,72	12,4	3,07	1,36	10,12



Rys. 10. Zawartość związków polifenolowych [mg100g⁻¹] podczas wzrostu i dojrzewania owoców pigwy

Fig. 10. The content of phenolic compounds [mg100g⁻¹] during growth and maturation of quince fruit

Największe wahania zawartości związków polifenolowych zmierzono w odniesieniu do najważniejszej grupy flawonoidów tych owoców, tj. polimerów procyanidyn. Związki te na drodze syntezy flawonoidów powstają na samym końcu szlaku fenylopropanoidowego. Nadają one gorzki i cierpki smak, chroniąc przed spożywaniem niedojrzałych owoców przez zwierzęta i ludzi. Natomiast zawartość pozostałych związków polifenolowych, w tym kwasów fenolowych oraz katechin i dimerów procyanidyn, sukcesywnie ulegała zmniejszeniu już od początku wzrostu owoców. W związkach owoców zawartość kwasów fenolowych wynosiła 264,30 mg100g⁻¹ i sukcesywnie zmniejszyła się do 190 mg100g⁻¹, podobnie zawartość katechin i dimerów procyanidyn uległa obniżeniu z 153,15 mg100g⁻¹ do 101,77 mg100g⁻¹. Natomiast zawartość flawonoli nieznacznie zwiększyła się w czasie wzrostu i dojrzewania owoców pigwy.

Zmieniająca się zawartość związków polifenolowych w trakcie wzrostu i dojrzewania owoców pigwy istotnie wpłynęła na aktywność przeciwutleniającą wyrażoną jako $\mu\text{Mole Trolox'u}$ w 100g⁻¹ surowca (tab. 4).

Tabela 4

Table 4

Zmiana aktywności przeciwutleniającej [$\mu\text{Mol Trolox } 100\text{g}^{-1}$] podczas wzrostu i dojrzewania owoców pigwy

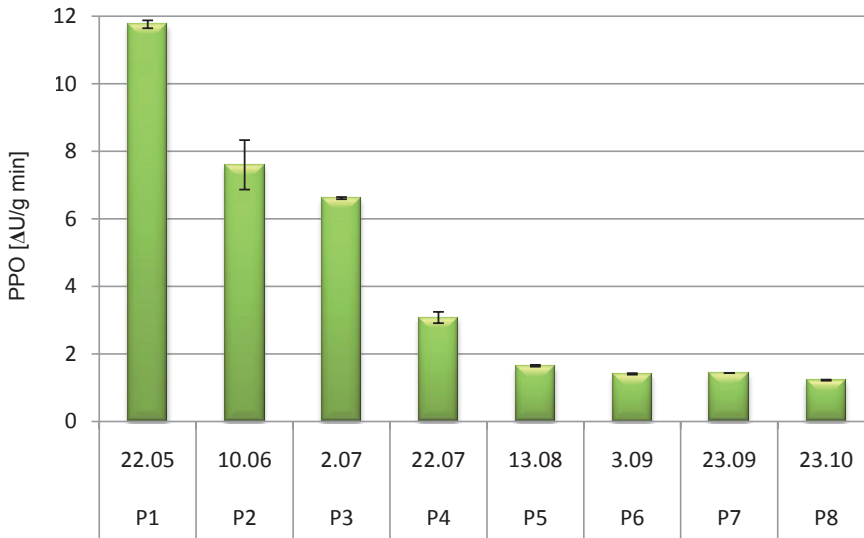
The change of antioxidant activity [$\mu\text{Mol Trolox } 100\text{g}^{-1}$] during quince fruits growth and maturation

Ilość dni po kwitnieniu Days after blooming	Kod zbioru Code of collection	ABTS	DPPH	FRAP
10	P1	373,25	322,11	8,36
29	P2	293,30	522,76	4,65
51	P3	586,94	674,22	4,87
71	P4	559,24	681,90	4,58
93	P5	606,99	612,99	5,89
114	P6	527,10	231,60	3,18
134	P7	333,20	190,90	4,19
164	P8	268,40	186,65	4,79

Przeprowadzone analizy potwierdziły, że najwyższą zdolnością do redukcji wolnych rodników charakteryzowały się owoce dojrzewające ze zbioru pomiędzy 29 a 93 dniem po kwitnieniu, podczas gdy najniższą aktywność przeciwutleniającą wykazywały owoce dojrzałe zebrane po 164 dniach wzrostu. Najwyższa zdolność do redukcji wolnych rodników DPPH i kationorodnika ABTS charakteryzowała owoce pomiędzy 51 a 93 dniem, co odpowiadało najwyższej zawartości związków polifenolowych w badanych

owocach. Dodatkowo stwierdzono, że aktywność ta była istotnie zależna od obecności związków z grupy flawon-3-oli w tym polimerów procyanidyn. Natomiast w przypadku analizy zdolności do redukcji jonów Fe^{+3} do Fe^{+2} przez owoce pigwy w trakcie wzrostu w stosunku do aktywności owoców z pierwszego zbioru po 10 dniach od kwitnięcia obserwowano znaczne jej zmniejszenie w ciągu następujących 19 dni. Aktywność ta pozostawała na podobnym poziomie aż do osiągnięcia pełnej dojrzałości owoców.

W trakcie przygotowywania owoców pigwy do analiz składu chemicznego zaobserwowano, iż podczas rozdrabniania owoce były podatne na reakcje utleniania enzymatycznego. Dlatego oznaczono w nich aktywność polifenolooksydazy w trakcie ich wzrostu i dojrzewania, a uzyskane wartości zaprezentowano na rysunku 11.



Rys. 11. Zmiana aktywności polifenolooksydazy (PPO) podczas wzrostu i dojrzewania owoców pigwy

P1, P2, P3 ...– kody zbioru

Fig. 11. Polyphenol oxidase (PPO) during growth and ripening of quince fruit

P1, P2, P3 ...– code of collection

Badania wskazują, że aktywność polifenolooksydazy sukcesywnie malała w trakcie wzrostu i dojrzewania owoców pigwy. Przy pierwszym zbiorze zawiązków owoców aktywność PPO wynosiła $11,76 \Delta U \text{ gmin}^{-1}$, podczas gdy dla dojrzałych owoców aktywność ta była niemal 10-krotnie niższa. Pomiedzy aktywnością polifenolooksydazy a zawartością związków polifenolowych, w tym poszczególnych klas tych związków, wyznaczono współczynniki korelacji. Otrzymany współczynnik korelacji pomiedzy zawartością związków polifenolowych a PPO wynosił $r^2=0,76$, podczas gdy dla kwasów hydroksycynamonowych i flawanoli wynosił $r^2=0,83$, dla polimerów procyanidyn

wynosił $r^2=0,18$ natomiast dla flawonoli wynosił $r^2=0,07$. Analizując uzyskane wysokie wartości współczynnika korelacji dla flawanoli i kwasów fenolowych, wyznaczono dodatkową zależność pomiędzy zawartością PPO a kwasem chlorogenowym ($r^2=0,86$), kwasem neochlorogenowym ($r^2=0,70$) oraz (-)-epikatechiną ($r^2=0,91$) podczas wzrostu i dojrzewania owoców pigwy. Otrzymane wyniki wskazują, że wśród związków polifenolowych owoców pigwy kwas chlorogenowy i (-)-epikatechina były podstawowym substratem reakcji enzymatycznego brązowienia.

4.1.4. Skład chemiczny i właściwości przeciwutleniające wybranych odmian owoców pigwy pospolitej

Wyniki analiz składu chemicznego 7 odmian owoców pigwy przedstawiono w tabeli 5. Najwyższą zawartością suchej masy i ekstraktu charakteryzowały się owoce odmian 'Cydora Robusta' i 'Studentka' (18,97 i 17,82%; 11,70 i 12,40%) zebrane w 2008 r. oraz odmiany 'Leskovać' (18,05; 14,50%) pochodzącej ze zbiorów w 2009 r. Owoce odmiany 'Leskovać' zebrane w 2009 r. odznaczały się również wyższą kwasowością ogólną i zawartością pektyn niż owoce pozostałych odmian zebrane w latach 2008–2009. Kwasowość ogólna owoców badanych odmian wynosiła od 0,35 g kwasu jabłkowego $100g^{-1}$ ('Uspiech') do 1,12 g kwasu jabłkowego $100g^{-1}$ ('Leskovać'), przy średniej zawartości 0,66 g kwasu jabłkowego $100g^{-1}$. Podobne zróżnicowanie wyników otrzymano w zawartości pektyn, gdzie najniższą ilość pektyn oznaczono dla odmiany 'Vranja', a najwyższą dla odmiany 'Leskovać', niezależnie od roku zbioru. Najniższą zawartość kwasu askorbinowego, niezależnie od roku, oznaczono dla odmian 'Studentka' i 'Uspiech' (9,39 i 9,42 $mg100g^{-1}$; 2009 r.), natomiast najwyższą dla odmian 'Vranja', 'Cydora Robusta' i 'Bereczki' (19,34; 19,28; 18,17 $mg100g^{-1}$; 2008 r.). Rozpatrując najwyższą powtarzającą się zawartość kwasu askorbinowego w latach 2008–2009, najkorzystniej prezentowały się odmiany 'Bereczki' i 'Vranja', podczas gdy znaczące różnice w zawartości kwasu askorbinowego stwierdzono dla odmian 'Cydora Robusta' i 'Studentka'. Różnice w zawartości kwasu askorbinowego wynosiły odpowiednio 70 i 49%.

Przeprowadzona analiza statystyczna pomiędzy latami nie wykazała istotnych różnic ($p>0,05$) w odniesieniu do badanych wyróżników, z wyjątkiem zawartości kwasu askorbinowego w owocach ($p<0,05$). Analiza statystyczna wykazała, że to czynnik odmianowy i rok istotnie determinowały badany składnik. Owoce zbierane w 2008 r. charakteryzowały się istotnie wyższą zawartością kwasu askorbinowego niż owoce z 2009 r. Średnia zawartość kwasu askorbinowego dla owoców z 2008 r. wynosiła 15,74 $mg100g^{-1}$, podczas gdy dla owoców zebranych w 2009 r. – 12,82 $mg100g^{-1}$.

Zawartość związków bioaktywnych w owocach badanych odmian pigwy została zaprezentowana na rysunku 12. Badane odmiany pigwy różniły się zawartością polifenoli ogółem, przy czym istotnie wyższą zawartość tych związków stwierdzono w owocach zebranych w roku 2009 niż w 2008 ($p<0,05$). Najwyższą średnią zawartością związków polifenolowych w dwóch latach badań odznaczały się odmiany 'Studentka' (1546,66 $mg100g^{-1}$) > 'Vranja' > 'Leskovać' > 'Bereczki' > 'Uspiech' > 'Cydora Robusta' > 'Daruon Onuku' (1055,89 $mg100g^{-1}$) (dane dotyczące 2009 r.).

Tabela 5
Table 5

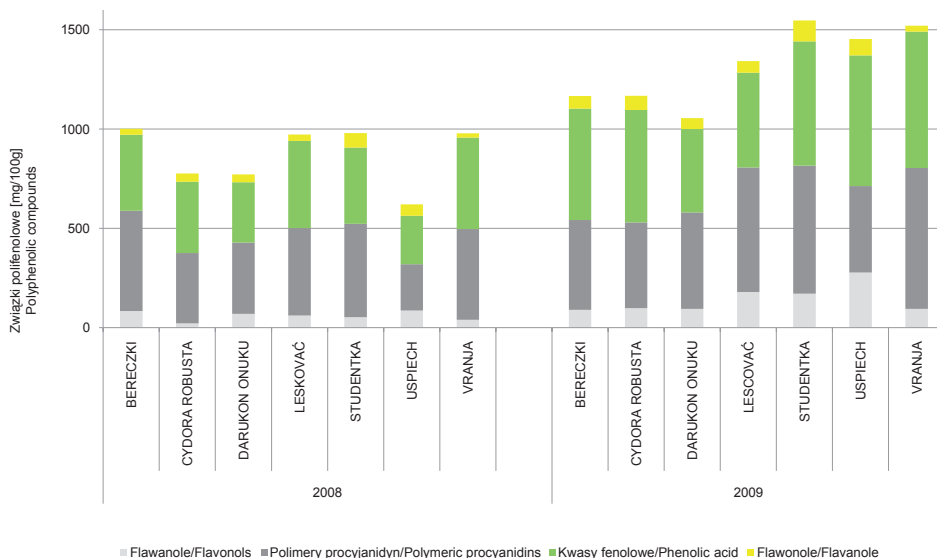
Skład chemiczny owoców pigwy pospolitej w latach 2008–2009
Chemical composition of quince fruit during 2008–2009

Rok Year	Odmiana Variety	Sucha masa [%] Dry matter	Ekstrakt [°Brix] Soluble solids	Kwasowość ogólna [g kwasu jabłkowego 100g ⁻¹] Total acidity [g malic acid 100g ⁻¹]	Pektyny [%] Pectins	Kwas askor- binowy [mg/100g] Ascorbic acid
2008	Bereczki	14,36k	9,50j	0,37k	0,85d	18,17c
	Cydora Robusta	18,97a	11,70c	0,77d	0,72g	19,28a
	Darukon Onuku	17,30e	10,70f	0,88c	0,89c	13,94f
	Leskovać	17,46d	10,70f	0,89c	0,91b	10,26j
	Studentka	17,82c	12,40b	0,92b	0,57j	18,98b
	Uspiech	13,46m	9,50j	0,51h	0,61i	10,21j
	Vranja	14,04l	8,20l	0,40j	0,47l	19,34a
2009	Bereczki	15,24h	10,30g	0,47i	0,78f	15,97e
	Cydora Robusta	14,78i	10,10h	0,56g	0,79f	13,66g
	Darukon Onuku	14,50j	10,00i	0,68e	0,81e	10,66i
	Leskovać	18,50b	14,50a	1,12a	1,00a	13,30h
	Studentka	15,81g	11,65d	0,65f	0,52k	9,39k
	Uspiech	12,82n	8,90k	0,35l	0,68h	9,42k
	Vranja	17,12f	11,10e	0,68e	0,43m	17,34d

a, b, c... – litery w kolumnach oznaczają grupy jednorodne przy poziomie istotności $p < 0,05$
a, b, c... – the same letters in columns mean homogenous groups $p < 0,05$

Analizując zawartość poszczególnych klas związków polifenolowych owoców badanych odmian, dowiedziono, iż dominowały polimery procyanidyn, które łącznie z monomerami i dimerami flawanoli stanowiły 52% z ogólnej ilości związków polifenolowych, następnie kwasy fenolowe (43%) oraz flawonole (5%). Jednakże zawartość polimerów procyanidyn była zróżnicowana wśród badanych odmian, wahała się od 233,45 do 709,03 mg/100g⁻¹ owoców. Najwyższą zawartością polimerów procyanidyn w badanych latach odznaczały się odmiany ‘Vranja’ > ‘Studentka’ > ‘Leskovać’ > ‘Bereczki’ > ‘Darukon Onuku’ > ‘Cydora Robusta’ > ‘Uspiech’. Ustalono, że czynnikiem różnicującym owoce pigwy ze względu na zawartość kwasów fenolowych była cecha odmianowa. Najwyższą zawartością tych związków charakteryzowały się odmiany ‘Vranja’ i ‘Studentka’, a najniższą ‘Darukon Onuku’ i ‘Uspiech’. Dodatkowo stwierdzono duże

zróznicowanie w zawartości fenolokwasów w zależności od roku zbioru. W przypadku odmian ‘Darukon Onuku’, ‘Studentka’ i ‘Uspiech’ różnice te wynosiły nawet do 50%, podczas gdy dla odmiany ‘Leskovać’ tylko 10%. Najniższy procentowy udział w ogólnej ilości polifenoli pigwy stanowiły flawonole. Odmiany ‘Studentka’ i ‘Uspiech’ charakteryzowały się najwyższą zawartością pochodnych kwercetyny i kemferolu. Zawartość flawonoli w roku 2008 wynosiła od 21,33 do 73,23 mg100g⁻¹, natomiast w roku 2009 od 29,07 do 105,37 mg100g⁻¹, przy średniej wartości w badanych latach odpowiednio 42,38 i 66,51 mg100g⁻¹. Natomiast odmiana ‘Vranja’, w której oznaczono najwyższą zawartość pozostałych polifenoli charakteryzowała się, niezależnie od roku badań, najniższą ilością flawonoli.



Rys. 12. Zawartość związków polifenolowych w owocach pigwy różnych odmian w latach 2008–2009

Fig. 12. The content of phenolic compounds of different varieties of quince fruits in years 2008–2009

Wyniki z analizy aktywności przeciwutleniającej przeprowadzonej metodą ABTS, DPPH i FRAP przedstawiono w tabeli 6. Odmiany ‘Studentka’, ‘Vranja’ i ‘Leskovać’ charakteryzowały się najwyższą zdolnością do redukcji wolnych rodników oraz jonów żelaza. Natomiast najniższą aktywnością charakteryzowały się odmiany ‘Uspiech’, ‘Darukon Onuku’ i ‘Cydora Robusta’. Średnia zdolność do redukcji kationorodnika ABTS badanych owoców wynosiła 171,14 μMol Trolox 100g⁻¹, rodnika DPPH 136,06 μMol Trolox 100g⁻¹. Średnia zdolność do redukcji jonów żelaza wynosiła 9,86 μMol Trolox 100g⁻¹. Najniższą aktywnością charakteryzowały się odmiany ‘Uspiech’, ‘Cydora Robusta’ i ‘Darukon Onuku’.

Tabela 6

Table 6

Aktywność przeciwutleniająca [$\mu\text{Mol Trolox } 100\text{g}^{-1}$] owoców różnych odmian pigwy pospolitej w latach 2008–2009

Antioxidant activity [$\mu\text{Mol Trolox } 100\text{g}^{-1}$] of different varieties of quince fruits in years 2008–2009

Rok Year	Odmiana Variety	ABTS	DPPH	FRAP
2008	Bereczki	212,20b	142,50c	10,91b
	Cydora Robusta	125,25e	115,50e	8,65c
	Darukon Onuku	124,75e	116,50e	9,49bc
	Leskovać	176,80c	146,54c	10,95b
	Studentka	207,05b	154,25c	10,91b
	Uspiech	90,60	89,50g	7,06d
	Vranja	146,40d	130,00cd	9,36bc
2009	Bereczki	161,87cd	120,44d	7,10cd
	Cydora Robusta	123,34d	99,20f	8,96b
	Darukon Onuku	146,22d	111,24e	7,43c
	Leskovać	233,67a	177,02b	12,30a
	Studentka	241,87a	185,07a	13,40a
	Uspiech	175,07c	121,88d	6,51d
	Vranja	230,86a	195,16a	12,55a
Średnia Mean		171,14	136,06	9,68

a, b, c... – litery w kolumnach oznaczają grupy jednorodne przy poziomie istotności $p < 0,05$

a, b, c... – the same letters in columns mean homogenous groups $p < 0.05$

W tabeli 7 przedstawiono współczynniki korelacji, jakie uzyskano dla średnich z dwóch lat badań pomiędzy zawartością związków polifenolowych a aktywnością przeciwutleniającą (ABTS, DPPH, FRAP). Niski współczynnik korelacji (r^2) pomiędzy zawartością flawonoli a aktywnością przeciwutleniającą dowodzi, że związki te ze względu na małą zawartość nie odgrywały istotnej roli w tworzeniu potencjału aktywności przeciwutleniającej owoców pigwy. Znaczenie mają tu flawanole, a w mniejszym stopniu kwasy fenolowe.

W badanych odmianach pigwy wyznaczono także zawartość polifenolooksydazy (PPO). Aktywność ta jest istotna w ocenie przydatności odmian pigwy do przetwórstwa. Aktywność polifenolooksydazy w badanych odmianach wynosiła od 3,11 do 0,38 $\Delta\text{U gmin}^{-1}$. Najwyższą aktywnością PPO odznaczały się owoce pigwy odmiany ‘Vranja’ ($3,11 \Delta\text{U gmin}^{-1}$) > ‘Bereczki’ ($1,01 \Delta\text{U gmin}^{-1}$) > ‘Studentka’ ($0,80 \Delta\text{U gmin}^{-1}$) > ‘Cydora Robusta’ ($0,65 \Delta\text{U gmin}^{-1}$) > ‘Uspiech’ ($0,54 \Delta\text{U gmin}^{-1}$) > ‘Leskovać’ ($0,44 \Delta\text{U gmin}^{-1}$) > ‘Darukon Onuku’ ($0,38 \Delta\text{U gmin}^{-1}$).

Współczynniki korelacji (r^2) pomiędzy związkami polifenolowymi a aktywnością przeciwutleniającą wyznaczoną różnymi metodami: ABTS, DPPH, FRAP
Correlation coefficient (r^2) between total phenolic compounds and the antioxidant activity as measured by different methods: ABTS, DPPH, FRAP

Wyszczególnienie – Specification	ABTS	DPPH	FRAP
Suma polifenoli – Total of polyphenols	0,88	0,92	0,79
Flawanole – Flavanols	0,88	0,96	0,93
Kwasy fenolowe – Phenolic acid	0,54	0,66	0,52
Flawonole – Flavonols	0,09	-0,06	-0,01

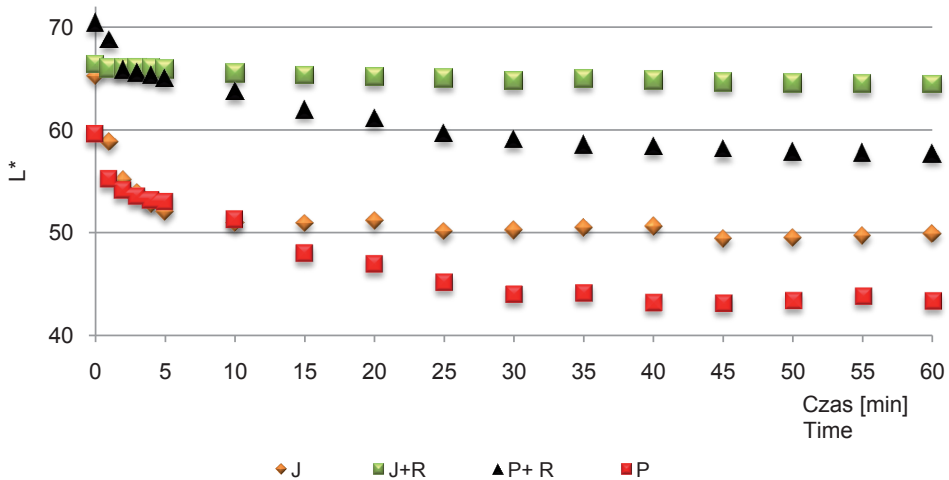
4.2. Ocena przydatności owoców pigwy pospolitej do przetwórstwa w porównaniu z jabłkami

4.2.1. Dobór inhibitora utleniania enzymatycznego podczas technologicznej obróbki surowca

Wstępnej oceny szybkości ciemnienia dokonano na podstawie pomiaru parametrów barwy w systemie CIE $L^*a^*b^*$, w świetle odbitym w miazdze zhomogenizowanych owoców pigwy i jabłek z dodatkiem i bez dodatku inhibitora przemian utleniających. Przebieg zmiany parametru jasności (L^*) rozdrobionych próbek w czasie przedstawiono na rysunku 13.

Podczas rozdrobnienia tkanki owoców nastąpiło intensywne natlenienie miążgi, uwolnienie zawartości komórki roślinnej, w tym także enzymów odpowiedzialnych za przemiany utleniające. Podczas badań zaobserwowano, że rozdrobnianie surowca istotnie wpłynęło na końcową barwę produktów. Jednocześnie ustalono, że zmiany te są hamowane przez dodatek inhibitora. W próbkach kontrolnych badanych miążg owoców, przygotowanych bez dodatku inhibitora, podczas ich przetrzymywania nastąpił sukcesywny spadek jasności barwy L^* , wzrost wartości parametru a^* , natomiast wartości parametru b^* pozostały na stałym poziomie. Dynamika związana z obniżeniem się wartości parametru L^* badanych próbek surowca bez dodatku inhibitora była odmienna. Mianowicie, wartość parametru L^* podlegała dynamicznemu obniżeniu, przez co próbki stawały się ciemniejsze. Zmiana barwy rozdrobionych owoców pigwy była większa niż rozdrobionych jabłek. Intensywna zmiana barwy rozdrobionej miążgi z jabłek następowała w trakcie pierwszych 10 min i czas ten był istotnie krótszy niż w przypadku rozdrobionej miążgi owoców pigwy (30 min). Podczas dalszego przetrzymywania miążgi obniżenie jasności nie było już tak dynamiczne. Zastosowany dodatek inhibitora podczas rozdrabniania przyczynił się do istotnego zahamowania procesu utleniania wywołanego przemianami enzymatycznymi. Wartość parametru L^* rozdrobionych owoców pigwy

z dodatkiem inhibitora zmieniała się wraz z dawką i rodzajem dodatku, gdyż $\Delta L_{max}=9,39$ dla kwasu askorbinowego i $\Delta L_{max}=19,48$ dla soku z rabarbaru, podczas gdy w odniesieniu do jabłek były to zmiany nieznaczne pomiędzy inhibitorami, odpowiednio $\Delta L_{max}=11,88$ i $\Delta L_{max}=11,48$.

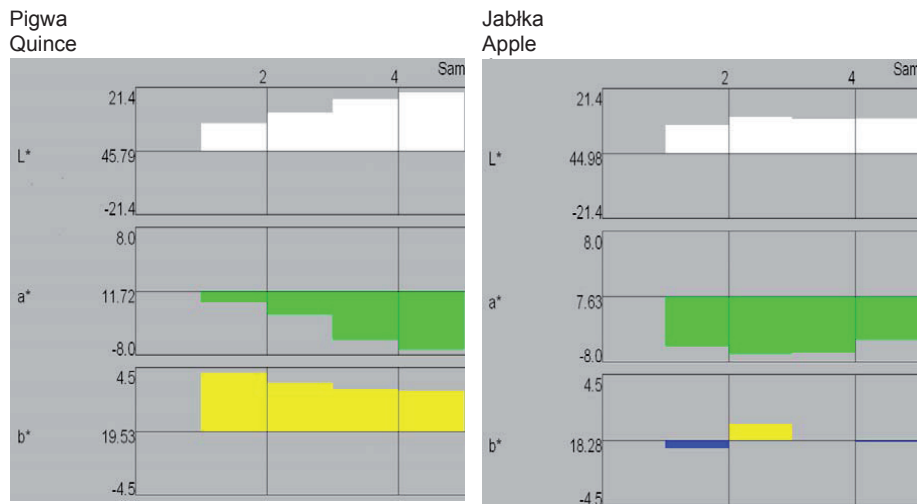


Rys. 13. Kinetyka zmiany barwy na przykładzie parametru L^* w próbkach przecierów z jabłek [J] i pigwy [P] z 5% dodatkiem inhibitora (R) i bez dodatku inhibitora w czasie 60 minut
P – pigwa; J – jabłka; R – sok z rabarbaru

Fig. 13. Kinetics of colour change on the example of L^* parameter in the quince [P] and apple [J] puree samples with the addition of inhibitor (R) and without it during 60 minutes
P – quince; J – apple; R – rhubarb juices

W celu pełniejszej charakterystyki barwy analizowanych przecierów wykonano pomiar barwy sporządzonych produktów, tj. przecierów z różnym dodatkiem inhibitorów. Inhibitory zastosowano w ilości 0,5 i 1,0 gkg⁻¹ kwasu askorbinowego oraz sok z rabarbaru w ilości 2,5 i 5% dodatku w stosunku do masy produktu.

Wartości parametrów: jasność (L^*), udział barwy czerwonej (a^*), jak i żółtej (b^*) w badanych próbkach zostały przedstawione na rysunku 14. Dodatek inhibitora, rodzaj i jego dawka miały istotne znaczenie do zachowania barwy, w tym jasności sporządzonych przecierów. Otrzymane przecieri z jabłek i pigwy bez dodatku inhibitora charakteryzowały się podobną jasnością (odpowiednio $L^*=44,98$ i $L^*=45,79$) i udziałem barwy żółtej ($b^*=18,28$ i $b^*=19,53$), lecz odmiennym udziałem barwy czerwonej ($a^*=7,63$ i $a^*=11,72$). Istotniejsze różnice związane z dawką i rodzajem inhibitora stwierdzono w przecierach z pigwy niż w przecierach z jabłek. W przypadku przecierów z owoców pigwy dodatek inhibitora w postaci soku z rabarbaru był korzystniejszy niż dodatek kwasu askorbinowego. Zmianie poziomu jasności barwy badanych przecierów pod wpływem inhibitora towarzyszyła również zmiana pozostałych parametrów barwy, a^* i b^* , w których dodatek inhibitora odgrywał istotną rolę.



Rys. 14. Barwa przecierów w zależności od dodatku inhibitora przemian utleniających
 1 – kontrola; 2 – 0,5gkg⁻¹ kwasu askorbinowego; 3 – 1gkg⁻¹ kwasu askorbinowego;
 4 – 2,5% soku z rabarbaru; 5 – 5% soku z rabarbaru

Fig. 14. The colour of mashes depending on the inhibitor of oxidant changes
 1 – control; 2 – 0,5gkg⁻¹ ascorbic acid; 3 – 1gkg⁻¹ ascorbic acid; 4 – 2,5% rhubarb juice;
 5 – 5% rhubarb juice

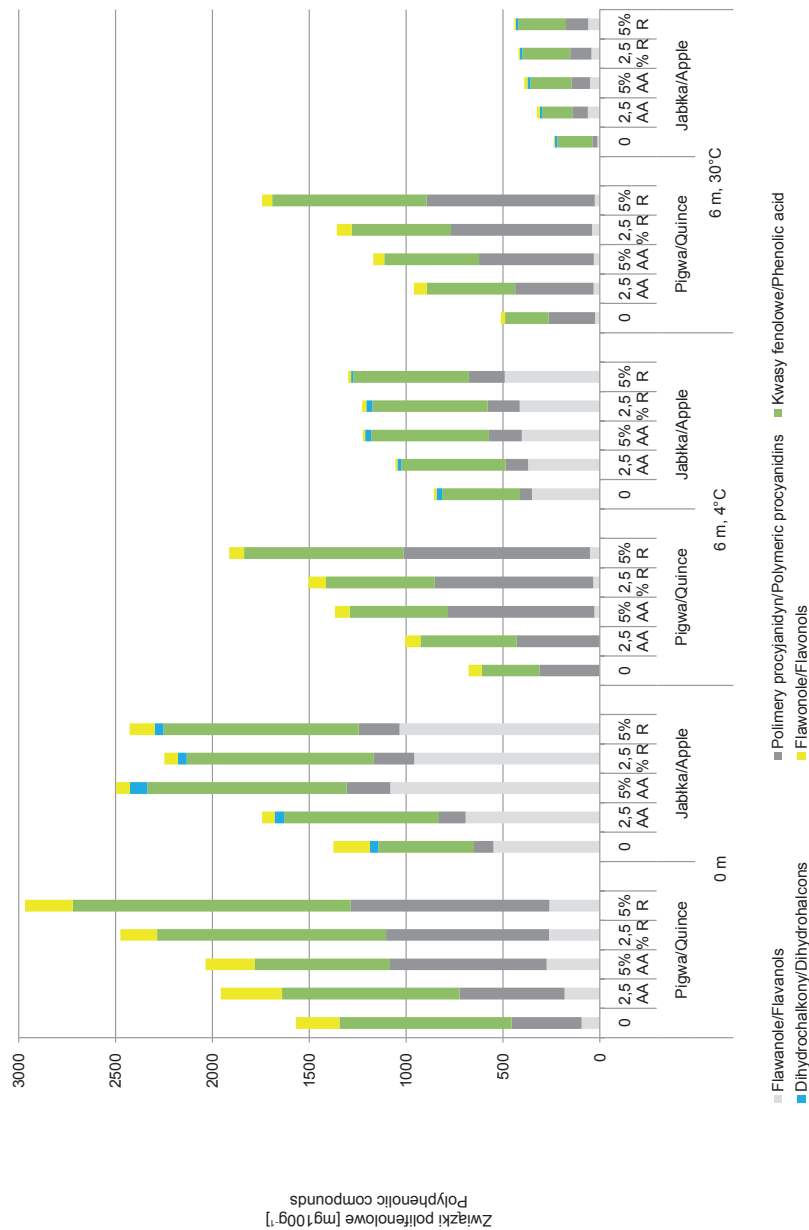
Wymiernym efektem zastosowania inhibitorów podczas obróbki wstępnej było zmniejszenie udziału barwy czerwonej na korzyść barwy żółtej, co istotnie zostało zaakcentowane dla próbek z dodatkiem soku z rabarbaru (spadek wartości a^* o 50% dla przecierów pigwy i 70% dla przecierów z jabłek) w porównaniu z próbkami kontrolnymi. Uzyskane wyniki potwierdziły pozytywny efekt działania inhibitora, gdyż zapobiegał on niekorzystnym przemianom brązowienia enzymatycznego podczas przygotowania próbek, przez co pożądana jasna barwa przecierów została zachowana.

Kolejnym zagadnieniem rozpatrywanym w związku z doбором inhibitora przemian utleniających podczas przygotowywania produktów z owoców pigwy jak i jabłek było wyznaczenie wpływu rodzaju inhibitora na zachowanie związków biologicznie aktywnych. Przygotowane przecieiry z owoców pigwy charakteryzowały się wyższą zawartością związków polifenolowych niż przecieiry sporządzone z jabłek, a różnice te dodatkowo wzrosły po zastosowaniu dodatku inhibitora przemian enzymatycznych (rys. 15). Zawartość związków polifenolowych w przecierze przygotowanym z owoców pigwy bez dodatku inhibitora wynosiła 1569,57 mg100g⁻¹ i była o 12% wyższa aniżeli w przecierach z jabłek. W przypadku przecierów otrzymanych z owoców pigwy dodatek soku z rabarbaru w ilości 5 lub 2,5% był skuteczniejszym inhibitorem przemian utleniających niż dodatek kwasu askorbinowego. Po zastosowaniu 5% dodatku soku z rabarbaru zawartość związków polifenolowych wynosiła 2966,79 mg100g⁻¹. Podobne wyniki osiągnięto podczas zastosowania 2,5% dodatku soku z rabarbaru. Natomiast po zastosowaniu

inhibitora przemian oksydacyjnych w postaci kwasu askorbinowego zachowalność związków polifenolowych była niższa, aczkolwiek istotna statystycznie ($p < 0,05$). W próbkach z dodatkiem kwasu askorbinowego w porównaniu z próbkami z sokiem z rabarbaru ilość tych związków była o 34% niższa, natomiast w porównaniu z próbką kontrolną do 49% wyższa. Odmienny efekt ochronny badanych inhibitorów stwierdzono w odniesieniu do przecierów z jabłek. Ustalono, że najwyższą zawartość związków polifenolowych zawierały próbki z dodatkiem kwasu askorbinowego w ilości 1 gkg^{-1} ($2496,86 \text{ mg100g}^{-1}$), a następnie z 5 i 2,5% dodatkiem soku z rabarbaru ($2427,38$ i $2307,71 \text{ mg100g}^{-1}$). Najniższą zawartość związków polifenolowych ($1744,19 \text{ mg100g}^{-1}$) zmierzono w próbkach z dodatkiem $0,5 \text{ gkg}^{-1}$ kwasu askorbinowego. Różnica w zawartości związków polifenolowych pomiędzy próbką kontrolną a próbką z dodatkiem kwasu askorbinowego w ilości 1 gkg^{-1} i 5% dodatkiem soku z rabarbaru wynosiła odpowiednio 45 i 44%. W przypadku pozostałych dwóch niższych badanych dawek inhibitorów różnice te były także znaczące (odpowiednio 21 i 41%). Zastosowanie w badaniach metody chromatografii cieczowej pozwoliło wskazać, które grupy związków polifenolowych korzystnie ochraniał dodatek inhibitora. Stwierdzono, że poprzez zastosowanie inhibitorów – w próbkach przecierów zwiększyła się zawartość flawanoli, w tym polimerów procyjanidyn i kwasów fenolowych, przy czym wzrost zawartości dihydrochalkonów (dla jabłek) i flawonoli był nieznaczny.

Po 6-miesięcznym okresie przechowywania sporządzonych przecierów nastąpiła degradacja związków polifenolowych, a zmiany te zależały od kilku czynników. Jednym z ważniejszych czynników wpływających na obniżenie zawartości polifenoli była zastosowana temperatura przechowywania. Przeciery przechowywane w wyższej temperaturze, tj. 30°C charakteryzowały się istotnie wyższą degradacją związków polifenolowych niż próbki przechowywane w 4°C . Następnym czynnikiem był surowiec użyty do przygotowania przecierów, gdyż zmiany związane z degradacją związków polifenolowych w przecierze jabłkowym były intensywniejsze niż w przecierach pigwowych w odniesieniu do prób wyjściowych. Dodatkowo, dodatek inhibitora także był związany z tempem zmian, jakie zachodziły podczas przechowywania próbek. W związku z działaniem poszczególnych inhibitorów aplikowanych w różnych dawkach podczas przygotowywania próbek zaobserwowano, że przeciery z dodatkiem soku z rabarbaru odznaczały się wyższą stabilnością związków polifenolowych niż ich odpowiedniki z dodatkiem kwasu askorbinowego. Efekt ten stwierdzono niezależnie od surowca, z jakiego przygotowano przeciery i od warunków przechowywania.

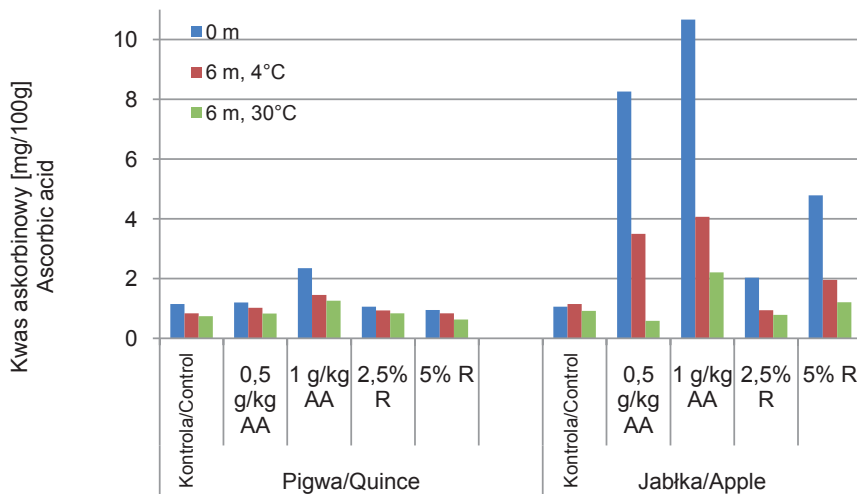
Dodatkowo, podczas przechowywania zauważono znaczące zmiany w składzie frakcji fenolowej. Związki polifenolowe z grupy flawanoli, czyli należące do nich także polimery procyjanidyn, były stabilniejsze podczas przechowywania niż pozostałe flawanole. Ponadto związki te odznaczały się wyższą stabilnością w przecierach z dodatkiem soku z rabarbaru niż kwasu askorbinowego. Po 6 miesiącach przechowywania przecierów z owoców pigwy w 30°C degradacja polimerów procyjanidyn wynosiła 34% w odniesieniu do próbek bez dodatku inhibitora i 14% w przypadku próbek z 5% dodatkiem soku z rabarbaru. W przecierach z jabłek ubytek zawartości tych związków wynosił odpowiednio 74 i 41%.



Rys. 15. Wpływ rodzaju i dodatku inhibitora (kwas askorbinowy [AA] i soku z rabarbaru [R]) na zawartość związków polifenolowych [mg/100g⁻¹] przed i po 6 miesiącach przechowywania w 4 i 30°C w przecierach sporządzonych z pigwy i jabłek

Fig. 15. The influence of inhibitor type and inhibitor (ascorbic acid [AA] and rhubarb juice [R]) on the polyphenolic compounds [mg/100g⁻¹] presence before and after the 6 months of storage at 4 and 30°C in the pures made from quince and apples

Zmiany zawartości kwasu askorbinowego w badanych przecierach przedstawiono na rysunku 16.



Rys. 16. Zmiany zawartości kwasu askorbinowego w zależności od rodzaju i ilości dodatku inhibitora [AA i R] oraz warunków przechowywania przecierów z pigwy i jabłek (6 miesięcy w 4 i 30°C)

AA – kwas askorbinowy

R – sok z rabarbaru

Fig. 16. The changes of ascorbic acid content depending on the type and presence of inhibitor [AA and R] and the storage conditions of quince and apple mashes (6 months at 4 and 30°C)

AA – ascorbic acid

R – rhubarb juices

Zawartość kwasu askorbinowego w badanych przecierach z owoców pigwy i jabłek była podobna. Podczas przygotowania przecierów z pigwy zastosowany dodatek kwasu askorbinowego w dawce $0,5 \text{ gkg}^{-1}$ niemal całkowicie został zużyty do ochrony związków polifenolowych w zapoczątkowanej reakcji utlenienia enzymatycznego. Tendencja ta powtórzyła się przy badanej dawce 1 gkg^{-1} kwasu askorbinowego. Inny efekt działania tego inhibitora stwierdzono podczas przygotowywania przecierów z jabłek. Kwas askorbinowy nie tylko nie został całkowicie zużyty do zahamowania przemian oksydacyjnych zachodzących podczas rozdrabniania surowca, ale dodatkowo spowodował wzbogacenie otrzymanych przecierów jabłkowych w witaminę C. Z kolei dodatek soku z rabarbaru jako inhibitora utleniania enzymatycznego przyczynił się do zachowania naturalnie zawartej witaminy C w surowcach, jak i innych związków biologicznie czynnych. Zaobserwowano także, że inhibitor ten pozwolił na istotnie wyższe ($p < 0,05$) zachowanie tego składnika w przecierach jabłkowych podczas przechowywania. W porównaniu z próbką kontrolną po 6 miesiącach przechowywania w 4 i 30°C z 5 i 2,5% dodatkiem soku z rabarbaru pozostało 40 i 25% kwasu askorbinowego, podczas gdy w analogicznych próbkach z dodatkiem $0,5$ i 1 mgkg^{-1} kwasu askorbinowego było to tylko 20 i 28%.

Aktywność przeciwutleniająca próbek przecierów sporządzonych z dodatkiem inhibitora była istotnie wyższa ($p < 0,05$) w porównaniu z próbkami kontrolnymi (tab. 8). W próbkach z inhibitorem stwierdzono ponad trzykrotnie wyższą aktywność w stosunku do rodników DPPH, do redukcji kationorodnika ABTS, oraz dwukrotną do redukcji żelaza. O redukcji wolnych rodników (ABTS i DPPH) decydował nie tylko dodatek inhibitora, ale także jego rodzaj i zastosowana dawka. Najwyższą aktywność przeciwutleniającą zmierzono w przecierach z owoców pigwy z dodatkiem inhibitora w postaci soku z rabarbaru. W przypadku przecierów z jabłek próbki z dodatkiem kwasu askorbinowego charakteryzowały się wysoką zdolnością do redukcji wolnych rodników. Podczas przechowywania przecierów nastąpiło sukcesywne obniżenie aktywności przeciwutleniającej. Obniżenie aktywności przeciwutleniającej zależało od warunków, w jakich przechowywano próbki ($p < 0,05$), a nie od rodzaju inhibitora ($p > 0,05$).

Tabela 8

Table 8

Wpływ dodatku inhibitora na aktywność przeciwutleniającą [$\mu\text{Mol Trolox } 100\text{g}^{-1}$] przecierów z owoców pigwy i jabłek

The influence of inhibitor on the antioxidant activity [$\mu\text{Mol Trolox } 100\text{g}^{-1}$] of quince and apple purees

Czas – Times	Owoce – Fruits	Próbka – Sample	ABTS	DPPH	FRAP
1	2	3	4	5	6
0 m	Pigwa–Quince	Kontrola – Control	69,80i	61,82k	8,93e
		0,5 g AA	96,97g	134,60e	12,16d
		1 g AA	127,25ef	156,49c	12,74d
		2,5% R	161,49b	169,76b	15,73b
		5% R	207,09a	220,09a	18,64a
	Jabłka Apple	Kontrola – Control	65,25i	102,81f	8,09g
		0,5 g AA	142,02d	136,93d	14,29bc
		1 g AA	153,91c	160,92b	15,21b
		2,5% R	126,10ef	133,03d	12,31d
		5% R	132,08e	142,48cd	14,06c
6 m, 4°C	Pigwa–Quince	Kontrola – Control	54,44jk	49,71k	6,20hi
		0,5 g AA	91,26g	98,16fg	10,35e
		1 g AA	118,62f	113,94e	11,71d
		2,5%R	127,90ef	128,17d	12,74cd
		5% R	140,91d	144,54cd	13,87c
	Jabłka Apple	Kontrola – Control	56,36j	84,74h	6,72h
		0,5 g AA	133,05e	135,32d	12,54d
		1 g AA	147,51cd	151,06c	13,91c
		2,5% R	117,57f	135,25d	9,65e
		5% R	129,06e	132,01d	11,23de

Tabela 8 cd.
Table 8 cont.

1	2	3	4	5	6
6 m, 30°C	Pigwa–Quince	Kontrola – Control	40,28k	37,14l	4,19j
		0,5 g AA	63,58j	69,88j	6,45h
		1 g AA	69,86i	76,16i	7,94h
		2,5% R	78,90i	90,82g	9,05f
		5% R	90,90h	104,712f	10,21e
	Jabłka Apple	Kontrola – Control	35,87l	33,23l	4,30j
		0,5 g AA	71,92i	51,45k	7,19h
		1 g AA	89,62h	63,65j	8,10g
		2,5% R	82,82hi	73,46i	9,00f
		5% R	102,47g	84,00h	9,83e

a, b, c... – litery w kolumnach oznaczają grupy jednorodne przy poziomie istotności $p < 0,05$

AA – sok z dodatkiem kwasu askorbinowego

R- sok z dodatkiem soku z rabarbaru

a, b, c... – the same letters in columns mean homogenous groups $p < 0,05$

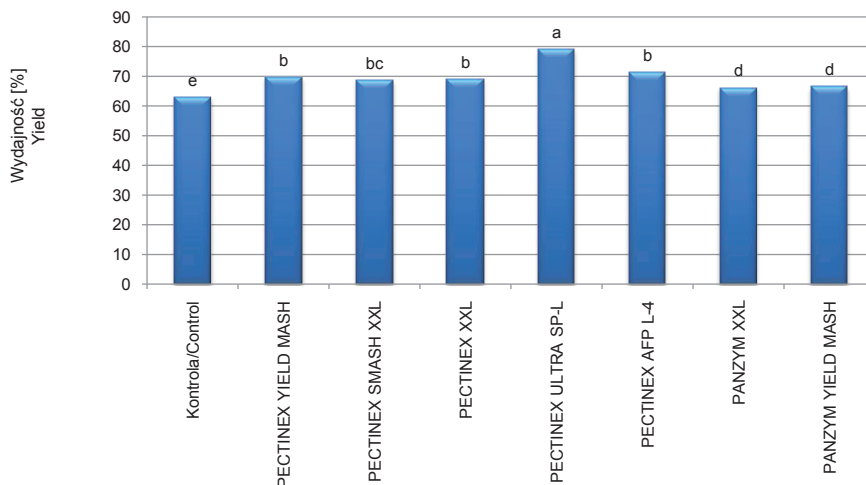
AA – juices with added ascorbic acid

R – juices with added juice from rhubarb

4.2.2. Dobór preparatów enzymatycznych do maceracji miazgi z owoców pigwy pospolitej w produkcji soku

Pierwszym etapem sprawdzenia efektywności enzymów użytych do obróbki enzymatycznej owoców pigwy było wyznaczenie wydajności procesu. Wyniki tych badań przedstawiono na rysunku 17. Wydajność tłoczenia miazgi pigwowej, bez wspomaganie enzymatycznego, wynosiła 62,9%. W zależności od zastosowanego preparatu enzymatycznego w porównaniu z próbką kontrolną nastąpił istotny ($p < 0,05$) wzrost wydajności procesu tłoczenia od 5 do 20%. Spośród badanych enzymów – próbki z dodatkiem Panzym XXL oraz Panzym Yield Mash charakteryzowały się najniższą wydajnością, wynoszącą odpowiednio 66,2 oraz 66,4%, podczas gdy po zastosowaniu enzymu Pectinex Ultra SP-L oraz Pectinex AFP L-4 uzyskano najwyższą wydajność procesu tłoczenia, odpowiednio 79,1 oraz 71,1%.

Wpływ preparatów enzymatycznych zastosowanych do maceracji miazgi z owoców pigwy w produkcji soku na jakość i ilość związków polifenolowych przedstawiono na rysunku 18. Zawartość związków polifenolowych w próbce soku nie poddanej obróbce enzymatycznej miazgi wynosiła 1345,65 $\text{mg}100\text{ml}^{-1}$, podczas gdy w próbkach poddanych temu procesowi zawartość ta wahała się od 1436,87 do 1585,03 $\text{mg}100\text{ml}^{-1}$. Najwyższą zawartość związków polifenolowych otrzymano po zastosowaniu enzymów Pectinex Ultra SP-L, Pectinex XXL oraz Pectinex Smash. Wzrost ekstraktywności tych związków w stosunku do próbki kontrolnej wynosił 18%. Najniższy wzrost zawartości związków polifenolowych otrzymano po zastosowaniu Pectinex AFP L-4 (7%) oraz Panzym Yield Mash (9%).



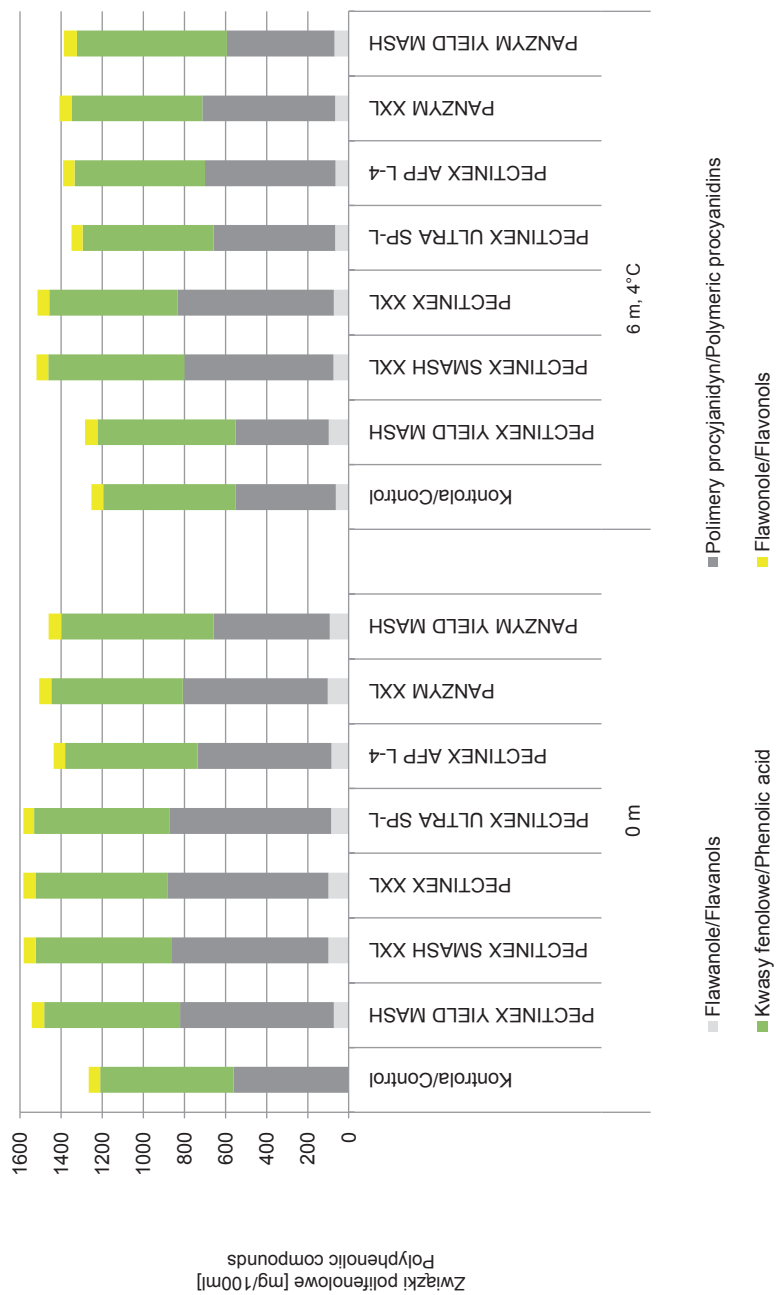
Rys. 17. Wpływ preparatów enzymatycznych na wydajność procesu tłoczenia soku z owoców pigwy
 a, b, c...– litery w kolumnach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$

Fig. 17. The influence of enzymatic preparations on the efficiency of quince juice pressing process
 a, b, c...– the same letters in columns mean homogenous groups $p < 0.05$

Proces obróbki enzymatycznej korzystnie wpłynął na zawartość poszczególnych klas związków polifenolowych, najwyższy istotny przyrost ($p < 0,05$) stwierdzono w odniesieniu do związków z grupy flawanoli, w tym polimerów procyjanidyn. Najwyższą zawartość polimerów procyjanidyn zmierzono w próbkach soków po zastosowaniu następujących enzymów: Pectinex Ultra SP-L oraz Pectinex XXL (nawet o 40%). Natomiast najniższą zawartość polimerów procyjanidyn była w próbkach z dodatkiem enzymów Pectinex AFP L-4 i Panzym Yield Mash, pomimo że ekstrakcja pozostałych klas związków polifenolowych była porównywalna do próbek z dodatkiem innych enzymów.

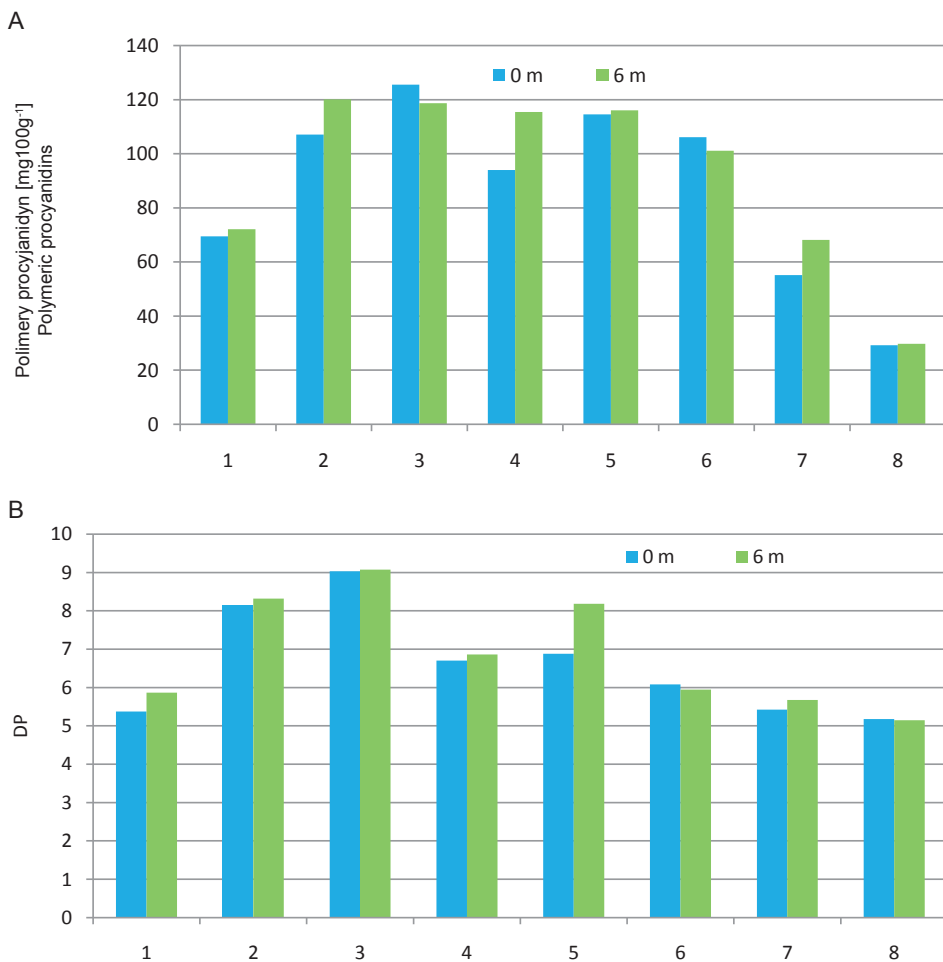
Podczas 6-miesięcznego przechowywania próbek badanych soków zawartość polifenoli ogółem obniżyła się o 3–16%, z czego 5–32% przypadało na monomery, dimery i trimer procyjanidyn, natomiast zawartość polimerów procyjanidyn obniżyła się o 3–11%. Pozostałe związki polifenolowe, w tych warunkach przechowywania, były stabilne (rys. 17).

Na rysunku 19 przedstawiono zawartość polimerów procyjanidyn (A) i stopień polimeryzacji (B) w wytrąconym osadzie przed i po przechowywaniu otrzymanych soków pigwowych. W wytrąconym osadzie alkoholem etylowym oznaczona zawartość polimerów procyjanidyn oraz stopień polimeryzacji zależały od użytego enzymu do obróbki enzymatycznej miążgi podczas produkcji soków. Zawartość polimerów procyjanidyn wynosiła od 25 do 122 $\text{mg}100\text{g}^{-1}$ osadu. Stopień depolimeryzacji (DP) wynosił od 5 do 9. Po przechowywaniu soków obserwowano wzrost zawartości tych związków w wytrąconym osadzie o 2–33% w stosunku do ilości początkowej w osadzie z poszczególnych soków.



Rys. 18. Wpływ enzymatycznej maceracji miążgi z owoców pigwy na ekstrahywność związków polifenolowych do soku [mgL⁻¹] m – miesiące

Fig. 18. The influence of enzymatic maceration of quince fruit pulp on polyphenol compounds extractiveness to juice [mgL⁻¹] m – month



Rys. 19. Zawartość polimerów procyjanidyn (A) i stopień polimeryzacji (B) w wytrąconym osadzie przed i po przechowywaniu soków

Fig. 19. The content of polymeric procyanidins (A) and polymerisation degree (B) in the precipitate before and after storage time

- 1 – Kontrola – Control
- 2 – Pectinex Yield Mash
- 3 – Pectinex Smash XXL
- 4 – Pectinex XXL
- 5 – Pectinex Ultra SP-L
- 6 – Pectinex AFP L-4
- 7 – Panzym XXL
- 8 – Panzym Yield Mash

Zastosowanie enzymów do maceracji miążgi i związanych z tym wzrost związków polifenolowych w sokach wpłynął na aktywność przeciwutleniającą soków (tab. 9). W próbkach soków z pigwy otrzymanych w wyniku maceracji enzymatycznej miążgi nastąpił wzrost aktywności przeciwutleniającej o 1–17% przy pomiarze wykonanym metodą ABTS, o 12–75% przy pomiarze z zastosowaniem rodnika DPPH. Także redukcja żelaza (metoda FRAP) była wyższa w analizowanych próbkach od 4 do 33% w stosunku do próbki kontrolnej. Wśród analizowanych próbek najwyższą aktywnością wygaszania wolnych rodników, jak i redukcji żelaza wyróżniały się soki otrzymane po maceracji miążgi z udziałem enzymu Pectinex Yield Mash, Pectinex Smash XXL, Pectinex Ultra SPL.

Tabela 9

Table 9

Aktywność przeciwutleniająca [$\mu\text{Mol Trolox } 100\text{ml}^{-1}$] soków z pigwy po enzymatycznym procesie maceracji miążgi oraz po przechowywaniu
 Antioxidant activity [$\mu\text{Mol Trolox } 100\text{ml}^{-1}$] of quince juices after enzymatic maceration of pulp after storage

Próbka Sample	Czas Times	ABTS	DPPH	FRAP
Kontrola – Control	0 m	256,65d	191,75e	18,33cd
Pectinex Yield Mash		342,31a	335,18a	24,15a
Pectinex Smash XXL		344,04a	293,84b	23,97a
Pectinex XXL		354,40a	290,02b	23,54a
Pectinex Ultra SP-L		316,06b	297,33b	24,39a
Pectinex AFP L-4		283,94c	220,47d	19,04c
Panzym XXL		316,41b	256,99c	22,76b
Panzym Yield Mash		275,99c	214,49d	19,39c
Kontrola – Control	6 m	247,32f	156,72d	17,25d
Pectinex Yield Mash		327,46b	275,91a	24,37b
Pectinex Smash XXL		322,28b	281,23a	24,90ab
Pectinex XXL		341,28a	265,79ab	24,28ab
Pectinex Ultra SP-L		300,86c	280,73a	25,82a
Pectinex AFP L-4		282,90d	206,03c	20,44c
Panzym XXL		263,21e	255,33b	23,84b
Panzym Yield Mash		255,27f	202,04c	20,65c

a, b, c... – litery w kolumnach oznaczają grupy jednorodne przy poziomie istotności $p < 0,05$
 m – miesiące

a, b, c... – the same letters in columns mean homogenous groups $p < 0.05$
 m – months

Podczas przechowywania badanych próbek soków ich zdolność do redukcji wolnych rodników ulegała sukcesywnemu obniżeniu. Zdolność do redukcji wolnych rodników przy wykorzystaniu metod ABTS i DPPH była o 18% niższa, a przy użyciu metody FRAP – o 7% w stosunku do próbek nieprzechowywanych.

Proces maceracji miazgi istotnie ($p < 0,05$) wpłynął także na pozostałe parametry fizykochemiczne otrzymanych soków, tj. na zawartość suchej masy, ekstrakt oraz kwasowość ogólną (tab. 10). Stwierdzono wzrost tych składników w próbkach uzyskanych soków po maceracji enzymatycznej miazgi. Zastosowana obróbka enzymatyczna istotnie ($p < 0,05$) zmieniła lepkość otrzymanych soków. W porównaniu z próbką kontrolną odnotowano 4–18% spadek lepkości. Wartości zmętnienia i wyznaczony stopień stabilności zmętnienia soków otrzymanych przez macerację enzymatyczną były wyższe od próbki kontrolnej. Najwyższy wzrost zmętnienia (trzykrotny) zaobserwowano w próbce po zastosowaniu preparatu Pectinex Smash XXL, podczas gdy w próbkach po zastosowaniu preparatów Pectinex Ultra SP-L, Pectinex APF L-4 i Panzym XXL wzrost ten był najniższy, bo tylko o 20 NTU. Oddziaływanie tych enzymów miało również istotny statystycznie ($p < 0,05$) wpływ na wyznaczony stopień stabilności zmętnienia. próbki soków po procesie enzymacji odznaczały się niższym stopniem stabilności, wynoszącym 47,66%, niż próbka kontrolna (79%).

Tabela 10
Table 10

Wpływ obróbki enzymatycznej miazgi na skład chemiczny soków z owoców pigwy
The influence of enzymatic maceration of pulp on the chemical composition of quince juice

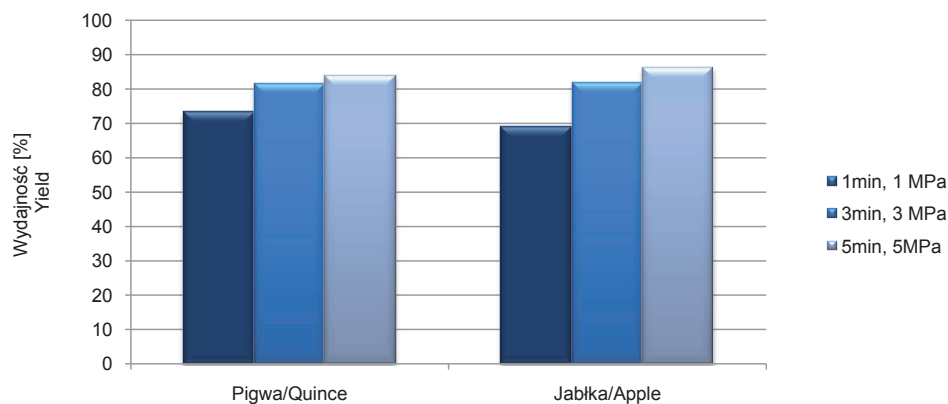
Próbki Sample	Sucha masa [%] Dry weight	Ekstrakt [%] Soluble solids	Kwasowość ogólna [mg kwasu jabłkowego 100ml ⁻¹] Total acidity [mg of malic acid 100ml ⁻¹]	Zmętnienie [NTU] Trubidity	Stabilność zmętnienia [%] Stability of trubidity	Lepkość [mPa·s] Viscosity
Kontrolna – Control	12,33c	12,9b	1,00bc	53e	74a	1,90a
Pectinex Yield Mash	13,02b	13,0ab	1,14a	110b	55d	1,66b
Pectinex Smash XXL	13,24a	13,2a	1,08a	151a	47e	1,72b
Pectinex XXL	13,22a	13,2a	1,06b	94c	59c	1,68b
Pectinex Ultra SP-L	13,10ab	13,1a	1,05b	72d	66b	1,93a
Pectinex AFP L-4	12,86b	13,0ab	1,05b	70d	60bc	1,82a
Panzym XXL	13,19a	13,3a	1,11a	72d	65b	1,72b
Panzym Yield Mash	10,98d	13,3a	0,95c	105b	54d	1,55c

a, b, c... – litery w kolumnach oznaczają grupy jednorodne przy poziomie istotności $p < 0,05$
a, b, c ... – the same letters in columns mean homogenous groups $p < 0.05$

4.2.3. Ocena możliwości otrzymania soków mętnych z owoców pigwy pospolitej w porównaniu z jabłkami

Porównano soki naturalnie mętne otrzymane z owoców pigwy i jabłek w dwóch wariantach: z dodatkiem inhibitora i bez dodatku inhibitora przemian utleniających, tj. 2,5% dodatku soku z rabarbaru. W procesie otrzymania soków mętnych oceniono wydajność procesu tłoczenia, zawartość związków polifenolowych i aktywność przeciwutleniającą oraz cechy fizykochemiczne otrzymanych soków (barwa, zmętnienie i stabilność zmętnienia).

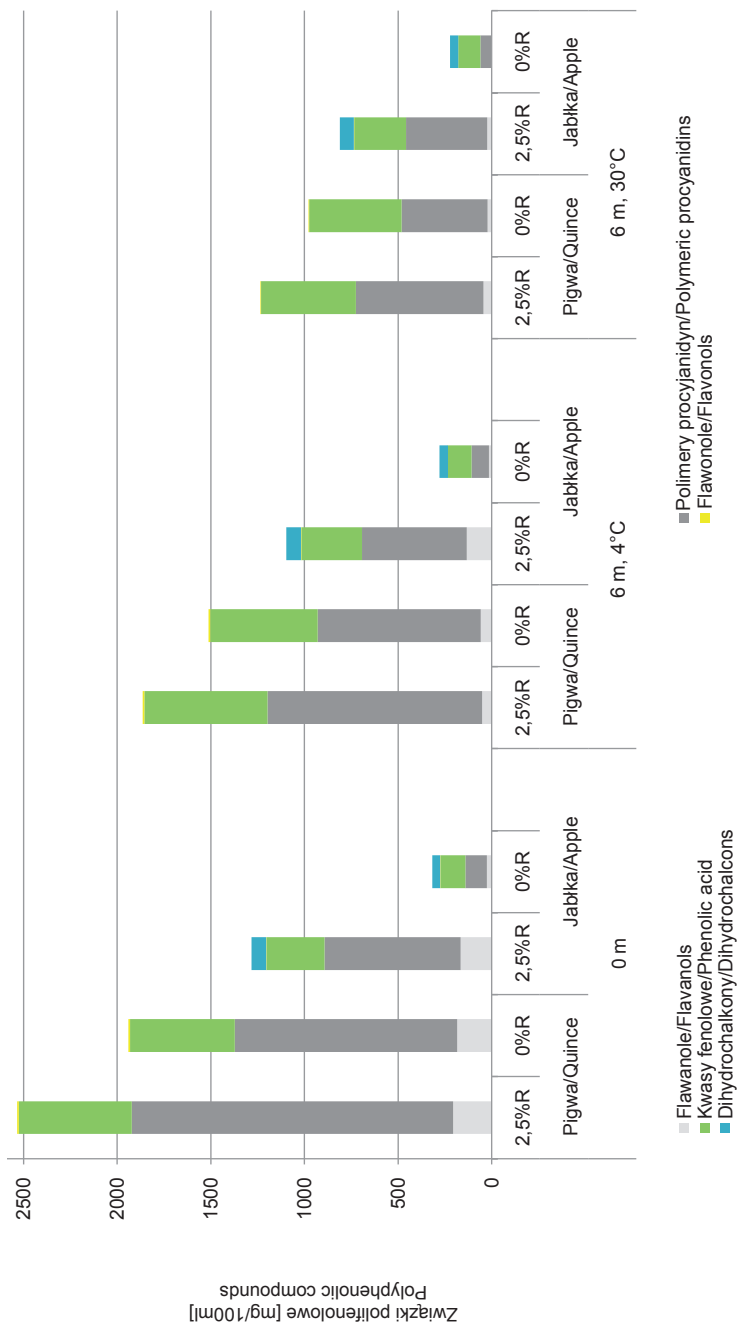
Wydajność otrzymanego soku mętnego przedstawiono na rysunku 20. Siła nacisku i czas trwania procesu tłoczenia ($p < 0,05$) decydowały o końcowej jego wydajności, a nie rodzaj surowca ($p > 0,05$), z którego otrzymywano soki. Końcowa wydajność podczas otrzymywania soku mętnego z pigwy i jabłek wynosiła 84 i 86%.



Rys. 20. Wydajność procesu tłoczenia soków mętnych z owoców pigwy i jabłek w zależności od czasu tłoczenia i nacisku

Fig. 20. The efficiency of quince and apple cloudy juices pressing process depending on the time of pressing

Zawartość związków polifenolowych w sokach z owoców pigwy i jabłek przedstawiono na rysunku 21. W produkcji soków mętnych zmierzono korzystny efekt stosowania inhibitora. Zawartość związków polifenolowych w badanych sokach otrzymanych z owoców pigwy z dodatkiem inhibitora wynosiła $2533,60 \text{ mg}100\text{ml}^{-1}$, podczas gdy bez tego dodatku w otrzymanym soku było o 23,43% mniej tych związków. W sokach jabłkowych oznaczona ilość związków polifenolowych z dodatkiem inhibitora wynosiła $1283,82 \text{ mg}100\text{ml}^{-1}$, w próbce bez dodatku inhibitora było to tylko $317,24 \text{ mg}100\text{ml}^{-1}$. Dominującymi związkami polifenolowymi w mętnych sokach pigwowych były flawanole i kwasy fenolowe, a w sokach jabłkowych – flawanole.



Rys. 21. Zawartość związków polifenolowych [mg100ml⁻¹] w sokach mętnych sporządzonych z owoców pigwy i jabłek w zależności od dodatku inhibitora oraz czasu przechowywania

0%R – soki bez dodatku inhibitora; 2,5%R – soki z dodatkiem inhibitora

Fig. 21. The content of polyphenol compounds [mg100ml⁻¹] in cloudy juices made from quince and apple fruits depending on the inhibitor's presence and time of storage

0%R – juices without inhibitor; 2,5%R – juices with inhibitor

W porównaniu z próbkami z dodatkiem inhibitora w otrzymanych mętnych sokach jabłkowych bez inhibitora stwierdzono mniej pochodnych katechiny o 84,7%, polimerów procyjanidyn o 80%, dihydrochalkonów o 47%, kwasów fenolowych o 44,5%. Z powyższych danych wynika, że wszystkie grupy związków polifenolowych jabłek ulegały sukcesywnemu utlenieniu enzymatycznemu podczas otrzymywania tych soków. W analogicznych sokach mętnych z owoców pigwy oznaczono mniej polimerów procyjanidyn o 30,8%, flawanoli o 11,0%, kwasów fenolowych o 6,9% oraz flawonoli o 7,0%. Stwierdzono, że w jednym i drugim przypadku, chociaż stopień zmian był różny, to zmiany degradacyjne objęły przede wszystkim związki z grupy flawanoli, w tym polimery procyjanidyn.

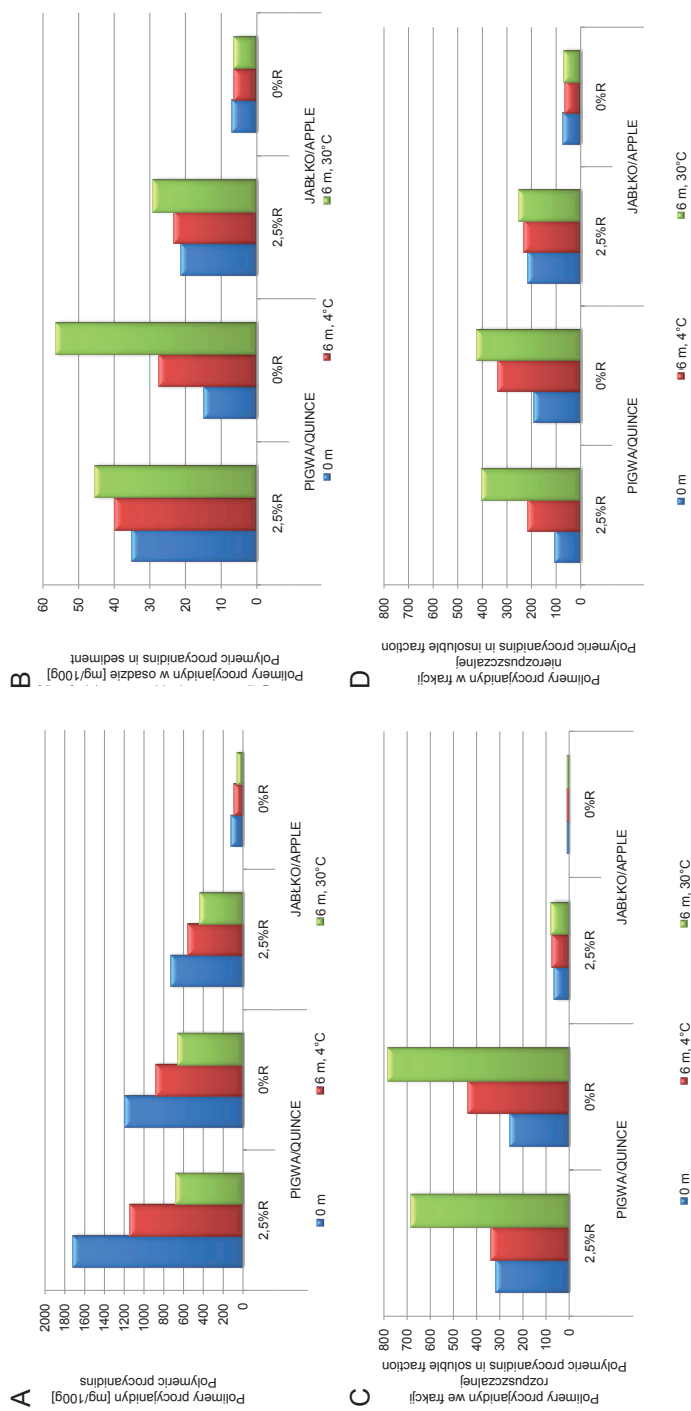
Sześciomiesięczne przechowywanie w warunkach 4°C wpłynęło w mniejszym stopniu na obniżenie zawartości badanych związków, w przeciwieństwie do próbek przechowywanych w temperaturze podwyższonej (30°C). W temperaturze tej obserwowano znaczną degradację polifenoli (rys. 21). Zmiany jakościowe podczas przechowywania były przede wszystkim związane z degradacją flawanoli, w tym polimerów procyjanidyn, gdyż pozostałe grupy związków (kwasy fenolowe, dihydrochalkony i flawonole) były stabilne.

Oznaczoną zawartość polimerów procyjanidyn metodą floroglucynolizy w osadach polisacharydów po wytrąceniu alkoholem oraz w ich frakcjach rozpuszczalnych i nierozpuszczalnych przedstawiono na rysunku 22.

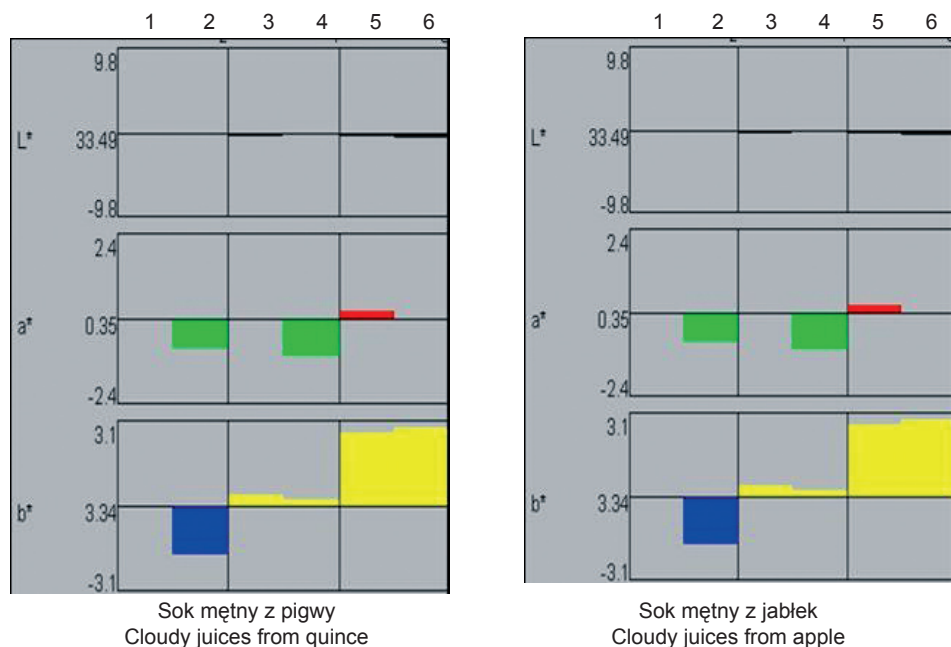
Analizując zawartość polimerów procyjanidyn, zaobserwowano, że wraz z degradacją tych związków w trakcie przechowywania następował wzrost ich ilości w wytrąconym osadzie. W przypadku soków z owoców pigwy wzrost ten był istotniejszy niż dla mętnych soków jabłkowych. Prawdopodobnie wynikało to z wyższej zawartości tych związków w sokach z pigwy. Dodatkowym czynnikiem determinującym ilość oznaczonych procyjanidyn w osadzie był zastosowany dodatek inhibitora utlenienia enzymatycznego. Soki sporządzone bez dodatku inhibitora charakteryzowały się niższą zawartością polimerów procyjanidyn w uzyskanych osadach niż ich odpowiedniki przygotowane z dodatkiem inhibitora. Należy przypuszczać, że polimery, które pozostały w tych sokach, były na tyle stabilne, że nie podlegały już dodatkowemu i dalszemu, znaczącemu wytrąceniu.

Osad frakcji rozpuszczalnej polisacharydów otrzymano przez przemycie wodą wytrąconego alkoholem osadu. Osad frakcji nierozpuszczalnej uzyskano poprzez wytrącenie alkoholem etylowym wcześniej otrzymanej rozpuszczalnej w wodzie frakcji polisacharydów. Zawartość polimerów procyjanidyn w analizowanych frakcjach była różna. Zależała od surowca, z którego sporządzono soki mętne. Frakcja rozpuszczalnych polisacharydów w sokach mętnych z owoców pigwy odznaczała się wyższą zawartością polimerów procyjanidyn niż frakcja nierozpuszczalna, podczas gdy w sokach jabłkowych zaobserwowano tendencję odwrotną.

Produkcja naturalnie mętnych soków wymaga odpowiedniej ochrony przed procesem utleniania, gdyż wszystkie nieprawidłowości procesu technologicznego objawiają się niepożądanymi zmianami barwy. Na rysunku 23 przedstawiono zmiany barwy przed i po 6-miesięcznym przechowywaniu soków w zależności od temperatury.



Rys. 22. Zawartość polimerów procyanidyn [A], polimerów procyanidyn w wytrąconym alkoholem osadzie [B] oraz polimerów procyanidyn we frakcji rozpuszczalnej [C] i nierozpuszczalnej [D] w badanych sokach mętnych z owoców pigwy i jabłek
 Fig. 22. The content of procyanidin polymers in deposit precipitated with alcohol [B] and procyanidin polymers in dissolved fraction [C] and insoluble [D] in quince and apple cloudy juices



Rys. 23. Zmiany barwy soków mętnych podczas przechowywania przez 6 miesięcy w 4 i 30°C

- 1 – kontrola bez inhibitora (0% R);
- 2 – kontrola z inhibitorem (2,5% R);
- 3 – sok bez inhibitora (0% R) po przechowywaniu (6 miesięcy, 4°C);
- 4 – sok z inhibitorem (2,5% R) po przechowywaniu (6 miesięcy, 4°C);
- 5 – sok bez inhibitora (0% R) po przechowywaniu (6 miesięcy, 30°C);
- 6 – sok z inhibitorem (2,5% R) po przechowywaniu (6 miesięcy, 30°C);

Fig. 23. The change of colour of cloudy juices during storage for 6 months at 4 and 30°C

- 1 – control with inhibitor (0% R);
- 2 – control with inhibitor (2,5% R);
- 3 – juices without inhibitor (0% R) after storage (6 months, 4°C);
- 4 – juices with inhibitor (2,5% R) after storage (6 months, 4°C);
- 5 – juices without inhibitor (0% R) after storage (6 months, 30°C);
- 6 – juices with inhibitor (2,5% R) after storage (6 months, 30°C);

Barwa analizowanych soków mętnych z owoców pigwy i jabłek była zróżnicowana. W przypadku otrzymywania jabłkowych soków mętnych dodatek inhibitora korzystnie zmienił wartości parametrów barwy. Wartość L^* w odniesieniu do mętnych soków jabłkowych wynosiła 7,94, podczas gdy w przypadku soku mętneho z pigwy $L^*=0,15$. Najprawdopodobniej było to związane z tym, że w otrzymanych sokach z pigwy bez dodatku inhibitora stopień zmętnienia był znikomy (76 NTU) a w sokach z jabłek znaczący (1540 NTU). Pomiar barwy wykonano w świetle odbitym, a niska zawartość cząstek zmętnienia w soku z pigwy w mniejszym stopniu odbijała promienie świetlne, zmniejszając wartości parametrów barwy. W przypadku pozostałych parametrów poprzez dodatek inhibitora uzyskano korzystną zmianę barwy (wzrost wartości $-a^*$ oraz $-b^*$).

Zmiana barwy związana z 6-miesięcznym przechowywaniem była wyraźniejsza dla soków mętnych z jabłek niż dla soków z pigwy i była zależna od temperatury. W przypadku mętnych soków pigwowych przechowywanych w temperaturze 30°C w porównaniu z próbką kontrolną (bez dodatku inhibitora) nastąpił wzrost parametru b^* (z 1,6 do 3,57 i 3,69). Dodatkowo, w soku bez dodatku inhibitora stwierdzono wzrost parametru a^* do wartości 0,60, podczas gdy w soku z inhibitorem wartość parametru a^* wynosiła -0,36.

Stopień zmętnienia badanych soków z owoców pigwy wynosił 562 NTU, podczas gdy w sokach z jabłek wartość ta była czterokrotnie wyższa (2240 NTU). Wartości te istotnie determinowały także wyznaczoną stabilność zmętnienia, która w sokach z pigwy była nieznaczna (0,3%) w porównaniu z sokami z jabłek (15,8%). Wytrącenie osadu podczas przygotowywania soków bez dodatku inhibitora, spowodowane utlenieniem, skutkowało istotnym wzrostem zmętnienia (5–10%) przy jednoczesnym obniżeniu stopnia stabilności zmętnienia.

Uwzględniając wpływ polifenoli na aktywność przeciwutleniającą, przeprowadzono pomiar zdolności wiązania wolnych rodników DPPH, kationorodnika ABTS i redukcji Fe metodą FRAP (tab. 11). W sokach mętnych uzyskanych z owoców pigwy zmierzono wyższą aktywność przeciwutleniającą niż w sokach z jabłek.

Tabela 11

Table 11

Aktywność przeciwutleniająca [$\mu\text{Mol Trolox } 100\text{ml}^{-1}$] soków mętnych z owoców pigwy i jabłek przed i po 6 miesiącach przechowywania w 4 i 30°C
Antioxidant activity [$\mu\text{Mol Trolox } 100\text{ml}^{-1}$] of quince and apple cloudy juices before and after 6 months of storage at 4 and 30°C

Czas Time	Sok Juice	Inhibitor Inhibitor	ABTS	DPPH	FRAP
0 m	Pigwa Quince	2,5% R	99,22a	80,58a	9,06a
		0% R	97,75b	77,29b	8,78b
	Jabłka – Apple	2,5% R	65,98d	52,59e	5,57e
		0% R	25,53f	22,71f	3,20g
6 m, 4°C	Pigwa Quince	2,5% R	95,60b	66,21d	8,08c
		0% R	73,66c	51,20e	6,65d
	Jabłka Apple	2,5% R	56,13de	50,37e	5,36e
		0% R	23,82	20,98f	3,00g
6 m, 30°C	Pigwa Quince	2,5% R	75,01c	70,24c	8,58b
		0% R	67,33d	52,57e	4,96ef
	Jabłka Apple	2,5% R	51,96e	49,91e	4,97ef
		0% R	17,56g	17,79f	2,89g

a, b, c... – litery w kolumnach oznaczają grupy jednorodne przy poziomie istotności $p < 0,05$
m – miesiąc; 0% R – sok bez dodatku inhibitora; 2,5% R – sok z 2,5% dodatkiem inhibitora

a, b, c... – the same letters in columns means homogenous groups $p < 0,05$

m – month; 0% R – juices without added inhibitor; 2,5% R – juices with 2,5% added inhibitor

Zdolność do redukcji wolnego kationorodnika ABTS w przypadku mętnych soków pigwowych wynosiła 99,22 i 97,75 $\mu\text{Mola Trolox } 100\text{ml}^{-1}$, dla rodnika DPPH 80,58 i 77,29 $\mu\text{Mola Trolox } 100\text{ml}^{-1}$, podczas gdy zdolność do redukcji jonów Fe wynosiła 9,06 i 8,78 $\mu\text{Mola Trolox } 100\text{ml}^{-1}$, odpowiednio w próbkach z dodatkiem i bez dodatku inhibitora. W przypadku mętnych soków jabłkowych różnice w aktywności przeciwutleniającej analizowanych próbek z dodatkiem inhibitora i bez dodatku były większe niż pomiędzy próbkami soków pigwowych. Między wartością aktywności przeciwutleniającej soków a zawartością związków polifenolowych wyznaczono korelacje, przy użyciu metody ABTS współczynnik korelacji wynosił $r^2=0,963$, przy wykorzystaniu metody DPPH $r^2=0,921$, a metody FRAP $r^2=0,923$ (tab. 12).

Tabela 12

Table 12

Współczynniki korelacji (r^2) pomiędzy związkami polifenolowymi analizowanych soków mętnych a aktywnością przeciwutleniającą mierzoną metodą: ABTS, DPPH, FRAP
Correlation coefficient (r^2) of analysed cloudy apple juices phenolic compounds and the antioxidant activity as measured with different methods: ABTS, DPPH, FRAP

Próba – Sample	Wyszczególnienie – Specification	ABTS	DPPH	FRAP
Sok mętny z pigwy Cloudy quince juice	Flawanole – Flavanols	0,856	0,754	0,814
	Polimery procyjanidyn Polymeric procyanidins	0,991	0,942	0,959
	Kwasy fenolowe – Phenolic acid	0,971	0,990	0,997
	Flawonole – Flavonols	0,713	0,676	0,714
	Ogółem – Total	0,986	0,946	0,967
Sok mętny z jabłek Cloudy apple juice	Flawanole – Flavanols	0,727	0,850	0,779
	Polimery procyjanidyn Polymeric procyanidins	0,863	0,999	0,712
	Kwasy fenolowe – Phenolic acid	0,791	0,898	0,728
	Flawonole – Flavonols	0,807	0,749	0,281
	Dihydrochalkony – Dihydrochalcones	0,976	0,995	0,995
Ogółem – Total	0,678	0,733	0,442	

W obu rodzajach soków nastąpiło zmniejszenie aktywności przeciwutleniającej w trakcie przechowywania. Analogicznie jak w przypadku polifenoli w sokach mętnych bez dodatku inhibitora tempo niekorzystnych zmian było większe. Po 6-miesięcznym przechowywaniu badanych mętnych soków z pigwy i jabłek bez dodatku inhibitora w warunkach obniżonej i podwyższonej temperatury pozostało 75–96% i 57–90% z pierwotnej aktywności przeciwutleniającej. Oszacowano także wpływ dodatku inhibitora na całkowitą pojemność przeciwutleniającą. Zastosowany 2,5% dodatek inhibitora podczas przygotowywania mętnych soków spowodował ograniczenie zmian degradacyjnych

podczas przechowywania w zdolności neutralizacji wolnych rodników w stosunku do próbki kontrolnej (tab. 11). Spowodowało to stabilizację pojemności przeciwutleniającej, która w trakcie 6-miesięcznego przechowywania zmniejszyła się nieznacznie, od 5 do 24% z wartości pierwotnej. W przypadku próbek bez dodatku inhibitora redukcja pojemności przeciwutleniającej była znacząca.

Aktywność przeciwutleniająca mętnych soków pigwowych i jabłkowych związana była przede wszystkim z zawartością składników polifenolowych. W przypadku mętnych soków pigwowych za aktywność przeciwutleniającą odpowiedzialne były polimery procyanidyn oraz kwasy fenolowe, dwie dominujące grupy fenolowe tego surowca. W mętnych sokach jabłkowych współczynniki te były niższe, a aktywność zależała także od zawartości flawonoli i dihydrochalkonów, co wskazuje, że związki te także brały aktywny udział w neutralizowaniu wolnych rodników w przypadku tego surowca.

4.2.4. Porównanie cech fizykochemicznych i organoleptycznych soków i przecierów mieszanych otrzymanych z owoców pigwy pospolitej i jabłek z udziałem innych owoców

Porównanie jakości mieszanych soków pigwowych z mieszanymi sokami jabłkowymi

Przystępując do badań, założono, że dodatek owoców podczas przygotowania soków z pigwy oraz jabłek wzbogaci produkt finalny w substancje biologicznie czynne, podwyższy aktywność przeciwutleniającą oraz zmieni (uatrakcyjni) barwę otrzymanych produktów. Dlatego też wyniki z powyższych doświadczeń zostały rozpatrzone w aspekcie zawartości związków bioaktywnych (związków polifenolowych i zawartości witaminy C), aktywności przeciwutleniającej oraz zmiany barwy.

Zawartość związków polifenolowych w badanych sokach pigwowych i mieszanych w zależności od dodatku inhibitora i owoców przedstawiono na rysunku 24. Zawartość związków polifenolowych w soku pigwowym wynosiła $782,96 \text{ mg}100\text{ml}^{-1}$. Natomiast w otrzymanych sokach mieszanych stwierdzono od $607,94$ do $2293,58 \text{ mg}100\text{ml}^{-1}$ polifenoli ogółem. Największy wzrost zawartości polifenoli ogółem zmierzono w próbkach, gdzie jako dodatek zastosowano owoce czarnej porzeczki (wzrost 2,9-krotny) > aronii (2,6-krotny) > jarzębiny (2,2-krotny) > truskawki (1,5-krotny) > pigwowca (1,4-krotny) > rokitnika (1,3-krotny) > maliny (1,2-krotny) w stosunku do soku pigwowego. Tego korzystnego efektu wzrostu zawartości polifenoli nie stwierdzono jedynie w przypadku soku mieszanego, gdzie jako dodatek zastosowano owoce głogu. Tu nastąpiła znacząca degradacja związków polifenolowych (22% w stosunku do próbki kontrolnej, tj. soku z pigwy). Najprawdopodobniej, wrażliwe na procesy utleniania polifenole owoców pigwy i głogu (80:20) w tym układzie były dodatkowo niestabilne. Dlatego też bardzo korzystny okazał się dodatek inhibitora podczas sporządzania tego soku mieszanego (pigwa-głóg), gdyż zawartość związków polifenolowych wzrosła z $607,94$ do $1351,71 \text{ mg}100\text{ml}^{-1}$.

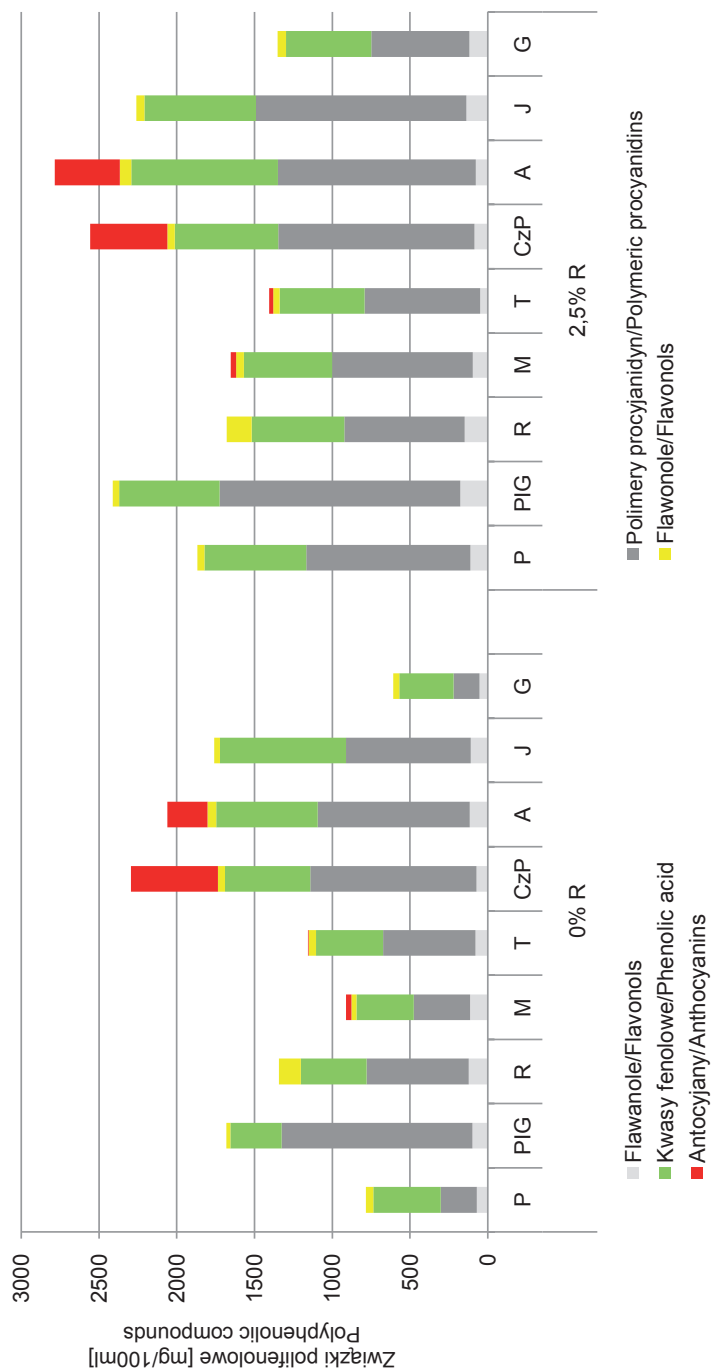
Dodatek inhibitora przemian oksydacyjnych był także czynnikiem, który istotnie wpłynął na zachowanie związków polifenolowych w sokach pigwowych oraz sokach

mieszanych podczas ich sporządzenia. W wariancie tym w zależności od zastosowanych owoców uzyskano wzrost zawartości polifenoli od 4 do 55%, w odniesieniu do próbek bez dodatku inhibitora. Najwyższą zawartość związków polifenolowych zmierzono w sokach mieszanych z owocami głogu (+55%) oraz maliny (+45%). Natomiast najniższy wzrost zawartości polifenoli uzyskano w sokach mieszanych z owocami pigwowca (+4%), czarną porzeczką (+10%) oraz truskawką (+18%) i rokitnikiem (+20%).

Dodatek owoców aronii i czarnej porzeczkii sprawił, że produkty te charakteryzowały się najwyższą zawartością związków polifenolowych (rys. 24), jednakże zawartość ta była uzależniona od dodatku inhibitora. Sok mieszany pigwowo-aroniowy z dodatkiem inhibitora zawierał więcej polifenoli niż pigwowo-porzeczkowy. Natomiast bez dodatku inhibitora to sok pigwowo-porzeczkowy był zasobniejszy w te związki niż pigwowo-aroniowy. Otrzymana różnica pomiędzy tymi surowcami związana była z zawartością naturalnej witaminy C, która również wykazuje działanie przeciwutleniające i synergistyczne w stosunku do flawonoidów.

W przypadku soku mieszanego pigwowo-rokitnikowego zawartość związków polifenolowych zależała nie tylko od zawartości kwasu askorbinowego w owocach, ale także od ich zasobności w polifenole. Dodatek inhibitora podczas sporządzania tego soku mieszanego był również korzystny. Najprawdopodobniej, obecność naturalnej witaminy C w tych owocach nie była całkowicie wystarczająca do ochrony związków polifenolowych owoców pigwy przed ciemnieniem enzymatycznym, co potwierdziło wcześniej opisane rezultaty badań związanych z dobozem inhibitora przemian oksydacyjnych. W soku mieszanym pigwowo-pigwowcowym zauważono niewielki wpływ dodatku inhibitora na zachowanie związków polifenolowych, co najprawdopodobniej wynikało z natury tych owoców. Odmiennie było w przypadku czerwonych owoców jagodowych, gdzie powstrzymanie reakcji utleniania enzymatycznego poprzez dodatek soku z rabarbaru skutecznie stabilizowało barwniki antocyjanowe i chroniło je przed degradacją.

Najwyższy wzrost zawartości polimerów procyjanidyn był w soku z dodatkiem owoców pigwowca oraz czarnej porzeczkii (6- i 5-krotne). Istotne podwyższenie zawartości kwasów fenolowych w ogólnej puli związków polifenolowych uzyskano w sokach z 20% udziałem owoców czarnej porzeczkii, aronii i jarzębiny (2-krotne). Wzrost zawartości flawonoli w nowo otrzymanych sokach uzyskano także poprzez dodatek owoców rokitnika (3-krotny), truskawek i aronii.



Rys. 24. Zawartość związków polifenolowych [mg/100ml⁻¹] w sokach pigwowych i sokach mieszanych przed przechowywaniem 0%R – soki bez dodatku inhibitora; 2,5%R – soki z dodatkiem inhibitora

P – pigwa, PIG – pigwowiec, R – rokitnik, M – malina, T – truskawka, CzP – czarna porzeczka, A – aronia, J – jarzębina, G – głóg

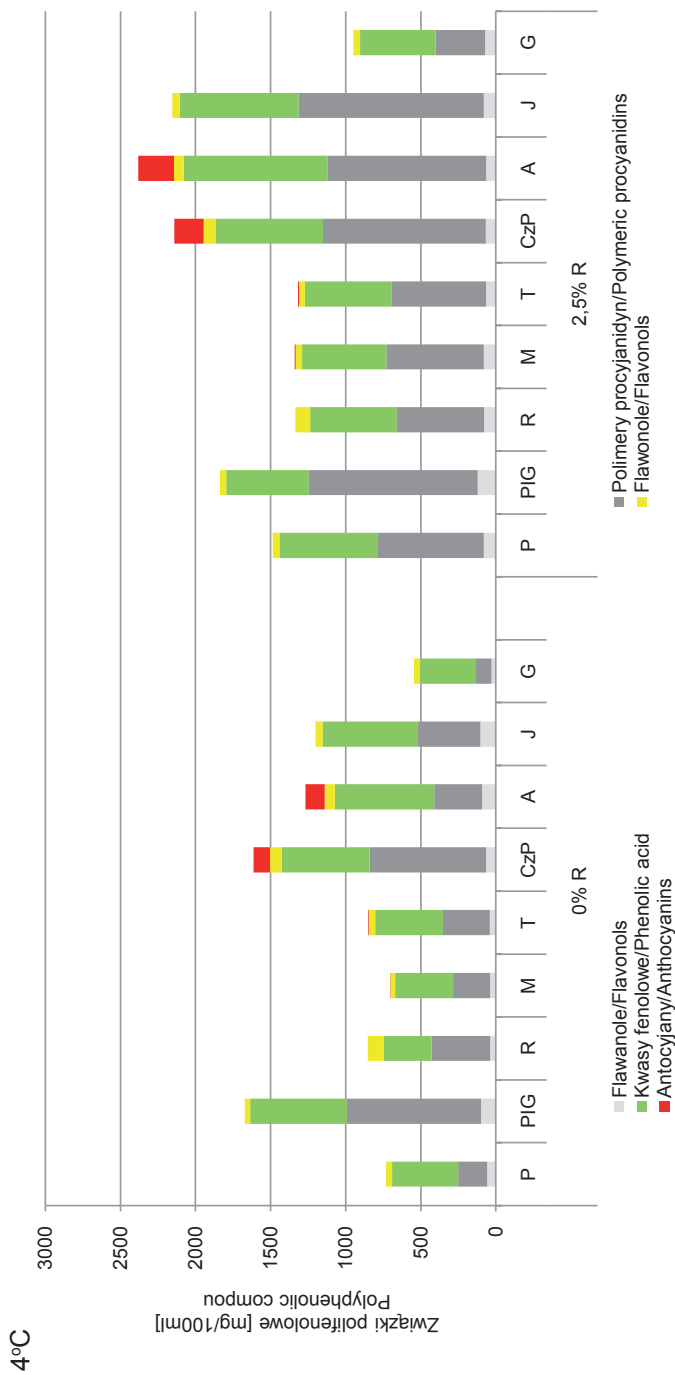
0%R – juices without inhibitor; 2,5%R – juices with inhibitor

P – quince, PIG – flowering quince, R – sea buckthorn, M – raspberry, T – strawberry, CzP – black currant, A – chokeberry, J – rowanberry, G – hawthorn

Korzystny efekt mieszania surowców uzyskano także poprzez wprowadzenie odmiennej grupy związków polifenolowych od występujących w owocach pigwy, tj. antocyjanów. Efekt ten uzyskano w przypadku soków z dodatkiem owoców jagodowych: malin, truskawek, czarnej porzeczki i aronii. Dodatkowo, poprzez zastosowanie inhibitora do miazgi podczas przygotowania soków zaobserwowano lepsze zachowanie antocyjanów. Wynikało to z ograniczenia reakcji enzymatycznych, którym podlegają te związki po rozdrobnieniu owoców. Powstały efekt stabilizujący mógł być wynikiem tworzenia warstwowego kompleksu pomiędzy polifenolami a antocyjanami poprzez wiązania wodorowe, co osłaniało cząsteczkę antocyjanu przed nukleofilową addycją i chroniło przed utratą barwy. Dlatego też zawartość antocyjanów w sokach bez dodatku inhibitora, gdzie nastąpiło znaczne utlenienie tych i innych związków polifenolowych, była niższa niż w wariancie z jego dodatkiem. Najwyższe różnice pomiędzy próbkami stwierdzono w sokach mieszanych z udziałem owoców truskawki (82%) i aronii (38%).

Analiza zawartości związków polifenolowych przechowywanych soków przez okres 6 miesięcy wykazała istotne zmiany składu polifenolowego w stosunku do wartości początkowych. Wielkość tych zmian istotnie ($p < 0,05$) zależała od składu związków polifenolowych soków mieszanych, dodatku inhibitora i temperatury ich przechowywania. Średni ubytek zawartości związków polifenolowych w przechowywanych przez 6 miesięcy sokach w temperaturze 4 i 30°C wynosił odpowiednio 1–36% i 21–56%, przy czym większe ubytki stwierdzono w próbkach bez dodatku inhibitora.

Temperatura i czas przechowywania miały statystycznie istotny wpływ ($p < 0,05$) na zmiany zawartości antocyjanów oraz flawanoli, w tym polimerów procyjanidyn w badanych sokach. Nie stwierdzono znaczącego wpływu warunków przechowywania na zmiany związków z grupy flawonoli oraz kwasów fenolowych, co świadczy o dużej stabilności tych związków w badanych warunkach. Dodatkowo, efekt ten był wyraźniejszy, gdy podczas produkcji soków użyto inhibitora przemian utleniających. Również zawartość antocyjanów w sokach z dodatkiem malin, truskawek, czarnej porzeczki i aronii podczas przechowywania ulegała stopniowemu zmniejszaniu (rys. 25a,b), przy czym to temperatura przechowywania w istotny sposób wpłynęła na ich degradację. Zaobserwowano wyższą degradację antocyjanów w próbkach soków mieszanych z udziałem czarnej porzeczki niż aronii.



Rys. 25a. Zawartość związków polifenolowych [mg100ml⁻¹] w sokach pigwowych i sokach mieszanych po 6 miesiącach przechowywania w 4°C

0%R – soki bez dodatku inhibitora; 2,5%R – soki z dodatkiem inhibitora

P – pigwa, PIG – pigwowiec, R – rokitnik, M – malina, T – truskawka, CzP – czarna porzeczka, A – aronia, J – jarzębina, G – głóg

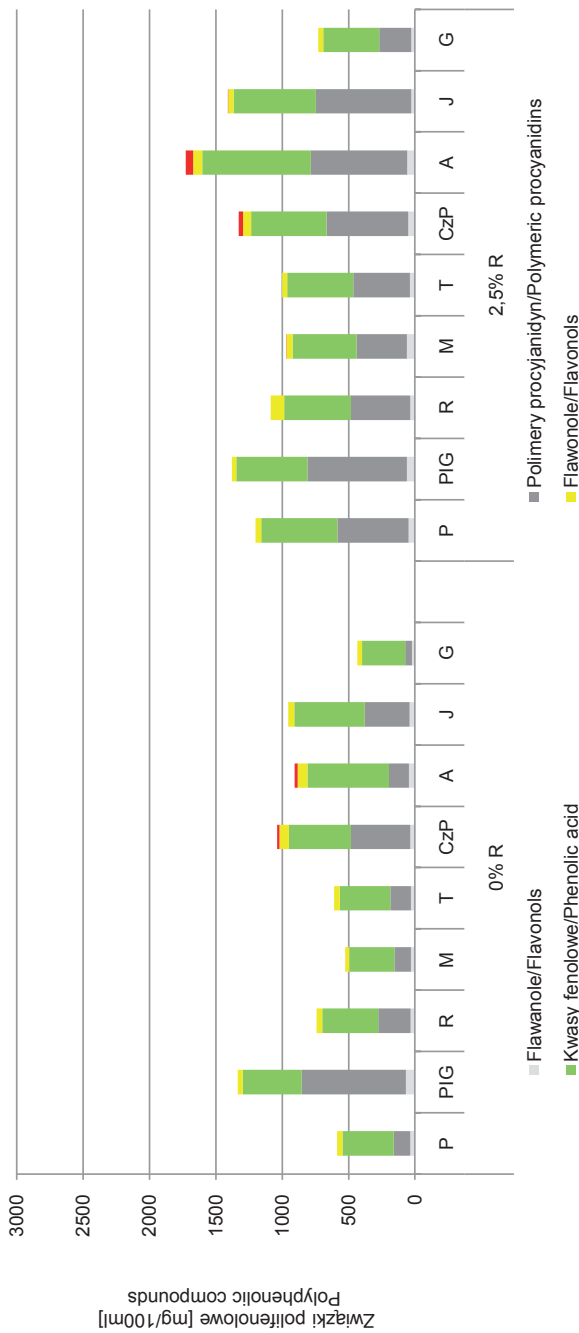
The content of polyphenolic [mg100ml⁻¹] compounds in quince juice and mixed juices after 6 month storage at 4°C

0%R – juices without addition of inhibitor; 2,5%R – juices with addend of inhibitor

P – quince, PIG – flowering quince, R – sea buckthorn, M – raspberry, T – strawberry, CzP – black currant, A – chokeberry,

J – rowanberry, G – hawthorn

30°C



Rys. 25b. Zawartość związków polifenolowych [$\text{mg}100\text{ml}^{-1}$] w sokach pigwowych i sokach mieszanych przygotowanych po 6 miesiącach przechowywania w 30°C

0%R– soki bez dodatku inhibitora; 2,5%R – soki z dodatkiem inhibitora

P – pigwa, PIG – pigwowiec, R – rokitnik, M – malina, T – truskawka, CzP – czarna porzeczka, A – aronia, J – jarzębina, G – głóg

The content of polyphenolic compounds [$\text{mg}100\text{ml}^{-1}$] in quince juice and mixed juices after 6-month storage at 30°C

0%R – juices without addition of inhibitor; 2,5%R – juices with addend of inhibitor

P – quince, PIG – flowering quince, R – sea buckthorn, M – raspberry, T – strawberry, CzP – black currant, A – chokeberry,

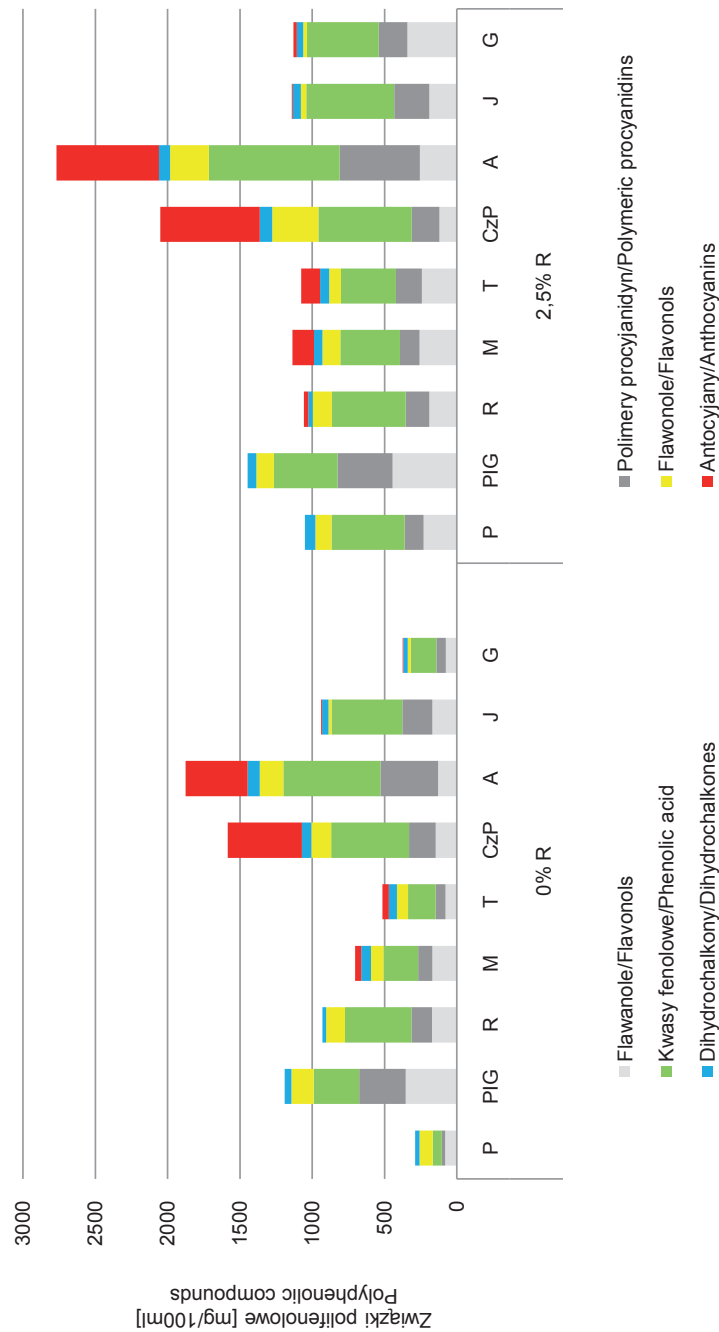
J – rowanberry, G – hawthorn

Zawartość związków polifenolowych badanych **soków jabłkowych** była istotnie niższa w porównaniu z sokami sporządzonymi z owoców pigwy. Ilość związków polifenolowych w sokach jabłkowych bez i z dodatkiem inhibitora wynosiła 287,40 i 1049,62 mg100ml⁻¹. W porównaniu z analogicznie sporządzonymi sokami z pigwy było to mniej, odpowiednio o 37 i 56%. Kolejna różnica pomiędzy porównywanymi sokami była związana z dodatkiem owoców i funkcją inhibitora przemian oksydacyjnych. Znaczący wzrost zawartości polifenoli osiągnięto poprzez dodatek takich owoców jak: aronia, czarna porzeczka, rokitnik i pigwowiec. Najniższy wzrost uzyskano przy dodatku takich owoców jak: głóg, maliny oraz truskawki (rys. 26). Jest to zgodne z wynikami uzyskanymi w mieszanych sokach pigwowych. Stosując dodatek inhibitora w otrzymaniu mieszanych soków jabłkowych, uzyskano wzrost zawartości polifenoli o 12–75%, podczas gdy w mieszanych sokach pigwowych wzrost ten wynosił 10–58%. W obu przypadkach najwyższy wzrost zawartości związków polifenolowych zmierzono w sokach mieszanych z dodatkiem głogu, truskawek i malin (rys. 26).

Dominującymi związkami w badanych sokach jabłkowych były flawanole > kwasy fenolowe > flawonole > dihydrochalkony. Zawartość dihydrochalkonów (florydzyina, ksyloglukozyd floretyny) w badanych sokach jabłkowych wynosiła 28,82 mg100ml⁻¹, przy czym dodatek inhibitora, jak i innych owoców w stosunku do tej grupy związków, pełnił także funkcję przeciwutleniającą.

Temperatura i czas przechowywania miały istotny wpływ na zmiany zawartości związków polifenolowych w badanych sokach jabłkowych i sokach mieszanych z jabłkami (rys. 27a i b). W okresie 6-miesięcznego przechowywania, niezależnie od rodzaju soku, obserwowano podobny kierunek zmian, jaki miał miejsce w przypadku badanych mieszanych soków pigwowych. Ubytek związków polifenolowych w badanych mieszanych sokach pigwowych przechowywanych w temperaturze 4 i 30°C wynosił od 1–36% i 18–61%, podczas gdy w omawianych mieszanych sokach jabłkowych było to odpowiednio 12–42% i 36–78%.

Większy ubytek związków polifenolowych w produktach sporządzonych z jabłek był związany z degradacją flawanoli, w tym polimerów procyanidyn i antocyjanów. Ubytek flawanoli wynosił 7–72% w próbkach przechowywanych w 4°C i 34–95% w próbkach przechowywanych w 30°C, podczas gdy w mieszanych sokach pigwowych było to maksymalnie 50 i 76%. Najprawdopodobniej należy to powiązać ze skłonnością do wytrącania się osadów, których główny składnik stanowią polifenole, a jak wykazano wcześniej przy doświadczeniu z sokami mętnymi, soki z pigwy charakteryzowały się niższą zdolnością do tworzenia i wytrącania osadów niż soki z jabłek. Natomiast wysoką stabilnością podczas przechowywania odznaczały się związki z grupy dihydrochalkonów (rys. 27a i b).



Rys. 26. Zawartość związków polifenolowych [$\text{mg}/100\text{ml}^{-1}$] w sokach jabłkowych i sokach mieszanych przed przechowywaniem 0%R – soki bez dodatku inhibitora; 2,5%R – soki z dodatkiem inhibitora

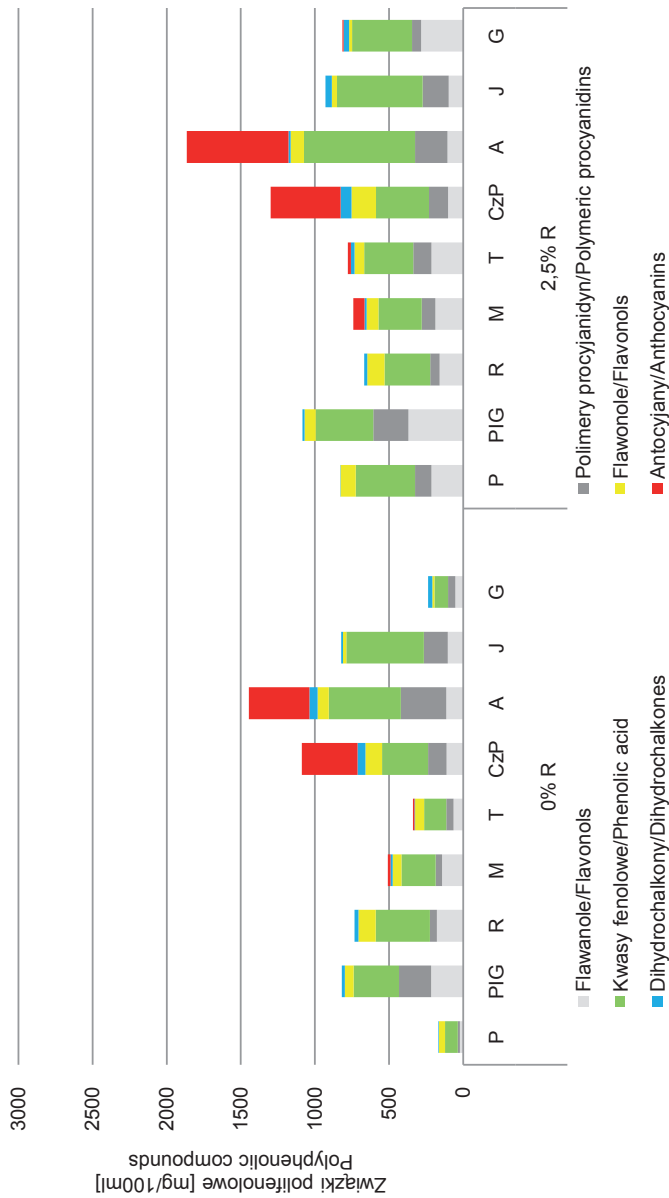
P – pigwa, PiG – pigwowiec, R – rokitnik, M – malina, T – truskawka, CzP – czarna porzeczka, A – aronia, J – jarzębina, G – głóg

Fig. 26. The content of polyphenolic compounds [$\text{mg}/100\text{ml}^{-1}$] in apple juice and mixed juices before storage time

0%R – juices without addition of inhibitor; 2,5%R – juices with added of inhibitor

P – quince, PiG – flowering quince, R – sea buckthorn, M – raspberry, T – strawberry, CzP – black currant, A – chokeberry, J – rowanberry, G – hawthorn

4°C



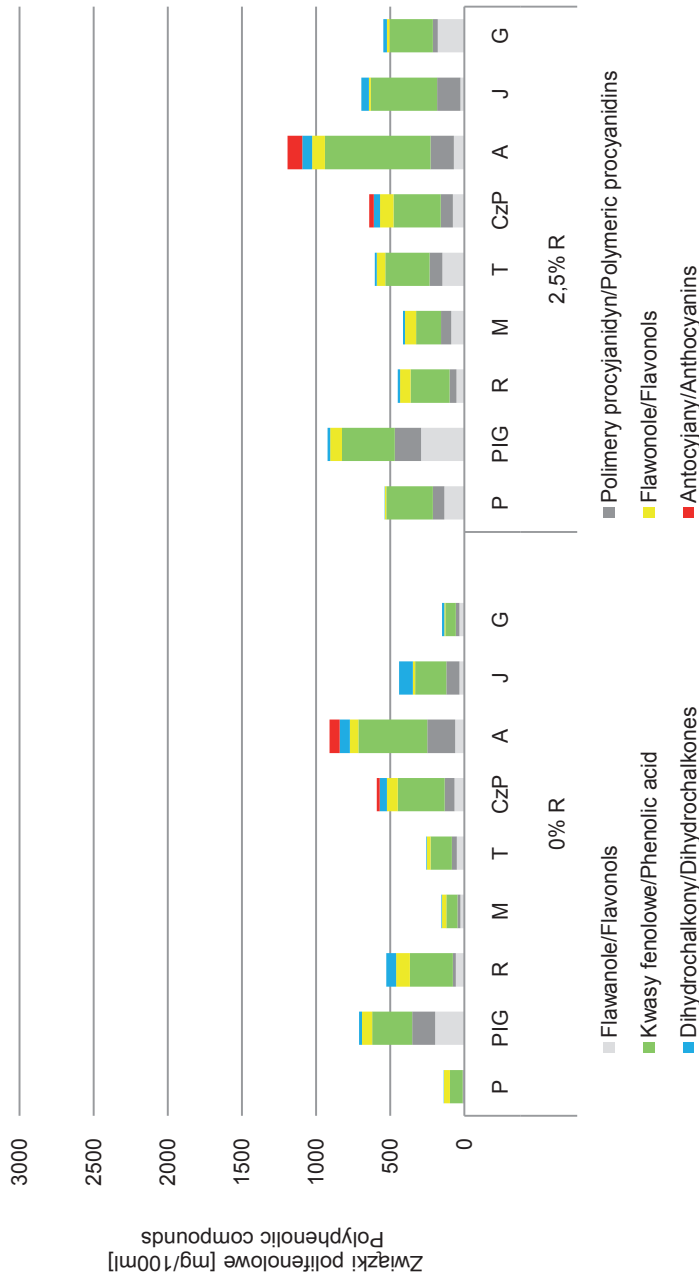
Rys. 27a. Zawartość związków polifenolowych [$\text{mg}/100\text{ml}^{-1}$] w sokach jabłkowych i sokach mieszanych po 6 miesiącach przechowywania w 4°C
0% R – soki bez dodatku inhibitora; 2,5% R- soki z dodatkiem inhibitora

P – pigwa, PIG – pigwowiec, R – rokitnik, M – malina, T – truskawka, CzP – czarna porzeczka, A – aronia, J – jarzębina, G – głóg

The content of polyphenolic compounds [$\text{mg}/100\text{ml}^{-1}$] in apple juice and mixed juices after 6 months of storage at 4°C

0% R – juices without addition of inhibitor; 2,5% R – juices with added of inhibitor

P – quince, PIG – flowering quince, R – sea buckthorn, M – raspberry, T – strawberry, CzP – black currant, A – chokeberry, J – rowanberry, G – hawthorn



Rys. 27b. Zawartość związków polifenolowych [$\text{mg}/100\text{ml}^{-1}$] w sokach jabłkowych i sokach mieszanych po 6 miesiącach przechowywania w 30°C 0% R – soki bez dodatku inhibitora; 2,5% R – soki z dodatkiem inhibitora

P – pigwa, PIG – pigwowiec, R – rokitnik, M – malina, T – truskawka, CzP – czarna porzeczka, A – aronia, J – jarzębina, G – głóg

The content of polyphenolic compounds [$\text{mg}/100\text{ml}^{-1}$] in apple juice and mixed juices after 6 months of storage at 30°C

0% R – juices without addition of inhibitor; 2,5% R – juices with added of inhibitor

P – quince, PIG – flowering quince, R – sea buckthorn, M – raspberry, T – strawberrry, CzP – black currant, A – chokeberry, J – rowanberry, G – hawthorn

Soki pigwowe zawierały niewielkie ilości kwasu askorbinowego ($0,35 \text{ mgL}^{-1}$) w zależności od owoców gatunku owoców użytych do otrzymania soków mieszanych zawartość tego składnika wynosiła do $363,70 \text{ mgL}^{-1}$ (rys. 28).

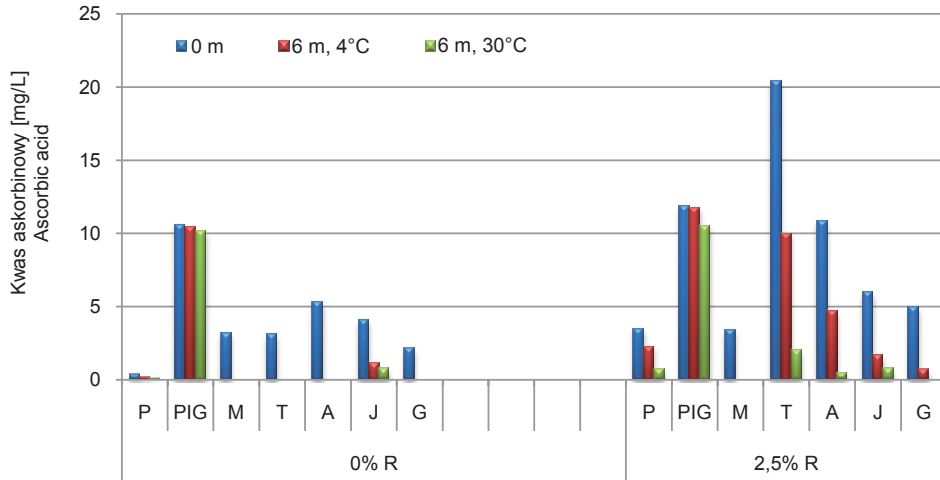
Najwyższą zawartość kwasu askorbinowego oznaczono w próbkach soków mieszanych sporządzonych z dodatkiem owoców rokitnika ($363,70 \text{ mgL}^{-1}$) i czarnej porzeczki ($208,92 \text{ mgL}^{-1}$). Dodatek inhibitora podczas przygotowania soków korzystnie wpłynął na zachowanie witaminy C w otrzymanych sokach mieszanych. Uzyskane wyniki wskazują, że w sokach bez dodatku inhibitora witaminy C pełniła rolę inhibitora przemian oksydacyjnych zapoczątkowanych podczas rozdrabniania owoców. Zmierzone wyższą zawartość kwasu askorbinowego w sokach mieszanych z udziałem owoców czarnej porzeczki oraz rokitnika z dodatkiem inhibitora o 67 i 95% w stosunku do ich odpowiedników bez inhibitora. W pozostałych sokach mieszanych zawartość tego składnika była niska, niezależnie od dodatku inhibitora, co wynikało z faktu, że surowce te nie są znaczącym źródłem witaminy C.

Przechowywanie soków przez 6 miesięcy w temperaturze 4 i 30°C spowodowało zmniejszenie zawartości witaminy C o 1–63% oraz 4–95%, odpowiednio do temperatury przechowywania próbek. W sporządzonym soku mieszanym z dodatkiem owoców pigwowca degradacja tego związku była znikoma. Soki te, niezależnie od warunków przechowywania próbek, charakteryzowały się najwyższym zachowaniem witaminy C, które wynosiło 96–99%.

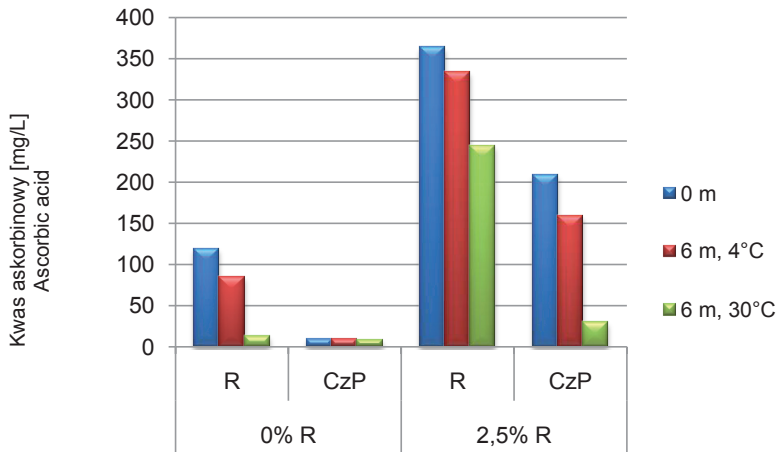
Wyniki z analizy aktywności przeciwutleniającej badanych soków i soków mieszanych z pigwy zamieszczono w tabeli 13. Otrzymane soki różniły się istotnie ($p < 0,05$) pod względem zdolności redukcji rodników 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylowych (DPPH), 2,2'-azynobis (3-etylobenzotiazolino)-6-sulfonianu (ABTS) oraz jonów żelaza (FRAP). Na aktywność przeciwutleniającą miał wpływ zarówno dodatek owoców ($p < 0,05$) użytych do sporządzenia soków mieszanych, jak i dodatek inhibitora przemian oksydacyjnych w postaci soku z rabarbaru ($p < 0,05$).

Aktywność przeciwutleniająca (wyznaczona metodą ABTS) soku pigwowego wynosiła $64,34 \mu\text{Mol Trolox}100\text{ml}^{-1}$, a dodatek inhibitora spowodował wzrost wartości do $133,77 \mu\text{Mol Trolox}100\text{ml}^{-1}$. Wzrost ten zmierzono również w sokach mieszanych, przy czym był on większy w sokach z dodatkiem inhibitora. Najwyższy wzrost aktywności przeciwutleniającej uzyskano w sokach mieszanych z dodatkiem owoców aronii, czarnej porzeczki, pigwowca i jarzębiny (33–18%), następnie rokitnika, maliny i truskawki (11–9%). Tylko w soku mieszanym z dodatkiem owoców głogu uzyskano nieznaczny efekt i nie zmienił tego nawet dodatek inhibitora. Pożądany wzrost aktywności przeciwutleniającej wykazano także w sokach otrzymanych bez dodatku inhibitora, czego przykładem jest sok mieszany z czarną porzeczką > pigwowcem > aronią. Przy użyciu pozostałych metod do wyznaczania potencjału przeciwutleniającego efekt był analogiczny, przy czym w sokach o wysokiej zawartości antocyjanów (przede wszystkim dla soków z aronią i czarną porzeczką) redukcja jonów Fe była wyższa w porównaniu z innymi próbkami. Analizując otrzymane wyniki, zwrócono także uwagę na zawartość witaminy C w sokach mieszanych, tj. soku mieszanym z rokitnikiem oraz czarną porzeczką, i jej wpływ na aktywność przeciwutleniającą. Dlatego też wyznaczono współczynniki korelacji pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą (metodą ABTS) a zawartością witaminy C, antocyjanów i polifenoli ogółem. Soki mieszane zarówno z rokitnikiem, jak i czarną porzeczką charakteryzowały się wysoką aktywnością przeciwutleniającą niezależnie od obecności inhibitora, nawet przy znaczącej redukcji zawartości naturalnej witaminy C.

A



B



Rys. 28. Zawartość witaminy C [$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$] w sokach pigwowych i sokach mieszanych przed [A] i po 6 miesiącach przechowywania [B] w 4 i 30°C

0% R – soki bez dodatku inhibitora; 2,5% R – soki z dodatkiem inhibitora

P – pigwa, PIG – pigwowiec, R – rokitnik, M – malina, T – truskawka, CzP – czarna porzeczka, A – aronia, J – jarzębina, G – głóg

Fig. 28. The content of vitamin C [$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$] in quince juice and mixed juices before and after 6 month of storage time at 4 and 30°C

0% R – juices without addition of inhibitor; 2,5% R – juices with added of inhibitor

P – quince, PIG – flowering quince, R – sea buckthorn, M – raspberry, T – strawberry, CzP – black currant, A – chokeberry, J – rowanberry, G – hawthorn

Tabela 13
Table 13

Aktywność przeciwutleniająca ($\mu\text{Mol Trolox } 100\text{ml}^{-1}$) soków pigwowych i soków mieszanych przed i po przechowywaniu
Antioxidant activity ($\mu\text{Mol Trolox } 100\text{ml}^{-1}$) of quincee juice and mixed juices before
and after storage

Inhibitor	Soki Juices	ABTS			DPPH			FRAP		
		0 m	6 m, 4°C	6 m, 30°C	0 m	6 m, 4°C	6 m, 30°C	0 m	6 m, 4°C	6 m, 30°C
0% R	P	64,34i	60,54f	51,47i	62,94h	56,14k	51,22i	5,27j	3,93i	3,94hi
	PIG	140,93cd	135,23b	93,01e	142,23e	138,62e	123,54f	14,63c	12,89d	9,58d
	R	107,25f	86,40e	75,65g	115,47g	95,09h	87,82g	9,03f	7,68g	5,80g
	M	92,57g	89,38e	73,06g	69,30i	66,50j	58,86i	6,22i	4,87i	4,73h
	T	111,57f	95,42d	66,84h	98,66h	96,87h	76,44h	7,64h	6,91h	5,06g
	CzP	174,44a	166,49a	103,63d	281,15a	248,05b	218,67b	20,79a	15,91c	15,20b
	A	126,30e	102,94d	106,76d	175,64c	165,78d	148,48e	11,43de	10,39e	9,59d
	J	112,52f	99,22d	99,40e	113,50g	109,14g	75,41h	8,85g	8,18f	6,65f
	G	57,51h	54,92f	44,56	71,77i	64,52j	58,12i	5,24j	4,73i	3,96hi
	P	133,77d	115,16c	95,42e	165,31d	157,56d	154,05d	18,16b	15,46c	14,29b
2,5% R	PIG	158,29c	129,27b	126,60b	126,51f	121,97f	119,06f	10,78e	10,06e	9,62d
	R	145,85c	120,34b	116,06c	135,30f	120,69f	112,70f	10,61e	8,61f	8,36e
	M	145,51c	137,44b	111,14c	171,16c	170,52d	165,51d	10,73e	9,63f	8,77e
	T	148,45c	110,23c	97,32e	123,08fg	115,00g	112,57f	9,89f	8,34f	8,11e
	CzP	167,27b	167,96a	123,96b	297,15a	261,89a	255,65a	21,31a	18,72a	18,75a
	A	177,37a	164,51a	153,63a	254,92b	212,49c	195,16c	18,43b	17,20b	13,82c
	J	156,48c	152,42a	125,26b	145,31e	134,58e	112,49f	12,73d	8,95f	7,92e
	G	114,85f	110,02c	89,90f	110,14g	89,14i	91,45g	10,02e	9,34f	7,28e

a, b, c, ... – litery w kolumnach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$

0% R – soki bez dodatku inhibitora; 2,5% R – soki z dodatkiem inhibitora

P – pigwa, PIG – pigwowiec, R – rokitnik, M – malina, T – truskawka, CzP – czarna porzeczka, A – aronia, J – jarzębina, G – głóg

a, b, c, ... – the same letters in columns means homogenous groups $p < 0,05$

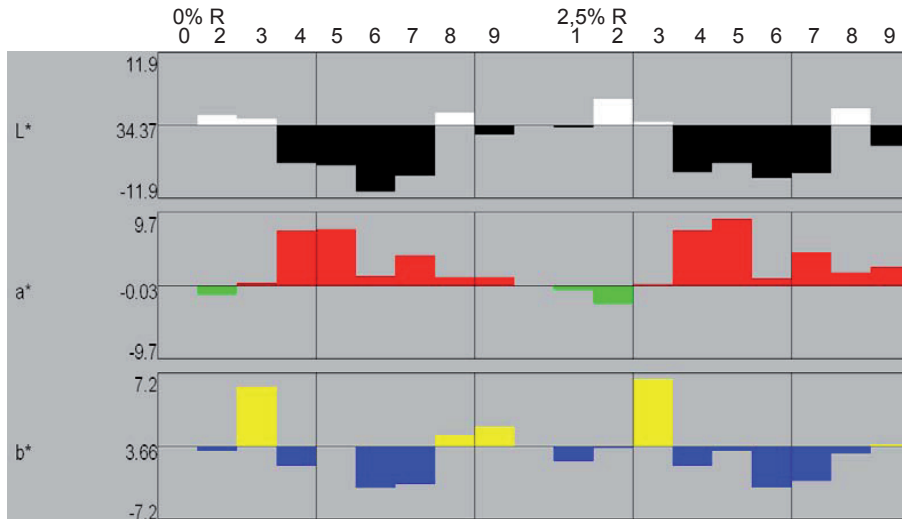
0% R – juices without addition of inhibitor; 2,5% R – juices with added of inhibitor

P – quince, PIG – flowering quince, R – sea buckthorn, M – raspberrry, T – strawberry, CzP – black currant, A – chokeberry, J – rowanberry, G – hawthorn

W przypadku soku mieszanego z owocami rokitnika o aktywności przeciwutleniającej decydowała bardziej witamina C ($r^2=0,886$) niż związki polifenolowe ($r^2=0,410$). Natomiast w sokach mieszanych z aronią to związki polifenolowe, w tym antocyjany ($r^2=0,751$ i $r^2=0,521$) były w znaczącej mierze odpowiedzialne za aktywność przeciwutleniającą niż witamina C ($r^2=0,169$).

W trakcie przechowywania próbek soków następowało obniżenie aktywności przeciwutleniającej soków. Wyniki zaprezentowano w tabeli 13. Wraz ze wzrostem temperatury przechowywania obserwowano większy spadek potencjału przeciwutleniającego badanych soków. Maksymalne obniżenie wartości przeciwutleniającej w przypadku metody ABTS, DPPH i FRAP wynosiło odpowiednio: do 35, 24 i 42% w przypadku próbek przechowywanych w temperaturze 4°C oraz do 68, 50 i 61% w odniesieniu do próbek z temperatury 30°C. Ponadto wyższa aktywność przeciwutleniająca utrzymywała się po przechowywaniu w próbkach soków, które były sporządzone z dodatkiem inhibitora, co związane było z wyższą zawartością związków polifenolowych w tych sokach.

Na rysunku 29 przedstawione zostały parametry barwy soków pigwowych i mieszanych z pigwy przed przechowywaniem.



Rys. 29. Zmiany barwy mieszanych soków pigwowych w zależności od dodatku owoców oraz inhibitora przemian oksydacyjnych (0% R i 2,5% R)

0% R – soki bez dodatku inhibitora; 2,5% R – soki z dodatkiem inhibitora

0 – sok pigwowy przed przechowywaniem, 1 – sok pigwowy, 2 – sok z dodatkiem pigwowca, 3 – sok z dodatkiem rokitnika, 4 – sok z dodatkiem maliny, 5 – sok z dodatkiem truskawki, 6 – sok z dodatkiem czarnej porzeczki 7 – sok z dodatkiem aronii, 8 – sok z dodatkiem jarzębiny, 9 – sok z dodatkiem głogu

Fig. 29. The change of quince mixed juices from depending on added fruit and oxidative inhibitor (0% R i 2,5% R)

0% R – juices without addition of inhibitor; 2,5% R – juices with added of inhibitor

0 – quince juice before storage, 1 – quince juice quince, 2 – juices with flowering quince, 3 – juices with sea buckthorn, 4 – juices with raspberry, 5 – juices with strawberry, 6 – juices with black currant, 7 – juices with chokeberry, 8 – juices with rowanberry, 9 – juices with hawthorn

Otrzymane soki różniły się poszczególnymi parametrami barwy, czyli jasnością (L^*), udziałem barwy czerwonej (a^*), udziałem barwy żółtej (b^*) (rys. 29). Dodatek czerwonych owoców jagodowych, m.in. malin, truskawek, czarnej porzeczki, aronii, przyczynił się do tego, że otrzymane soki charakteryzowały się odmienną barwą w stosunku do soku pigwowego, jak i soków z dodatkiem owoców rokitnika, pigwowca, jarzębiny czy głogu. Na parametry barwy wpłynął również dodatek inhibitora, tj. soku z rabarbaru.

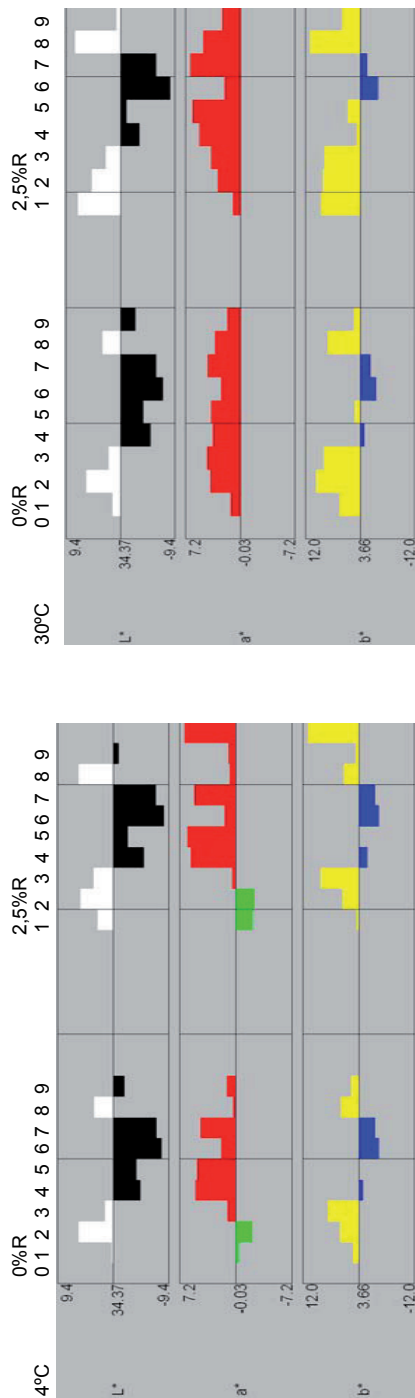
Soki sporządzone z owoców pigwy bez dodatku inhibitora charakteryzowały się następującymi parametrami: $L^*=34,37$; $a^*=-0,03$; $b^*=3,66$, a dodatek inhibitora zmienił parametry barwy związane z wartością parametru $a^*=-0,63$ i $b^*=2,16$ przy niewielkiej różnicy parametru związanego z jasnością tych soków ($\Delta L=-0,25$). Podobnie było w przypadku soków mieszanych z dodatkiem owoców pigwowca, gdzie dodatek inhibitora spowodował, że sok ten był najjaśniejszy ($L^*=38,65$) spośród wszystkich badanych próbek i charakteryzował się bardziej zielono-niebieskawym odcieniem barwy ($a^*=-2,37$; $b^*=3,52$) niż pozostałe soki. Również dodatek owoców rokitnika istotnie zmienił barwę soku pigwowego. Sok ten ze względu na żółtą, naturalną barwę owoców rokitnika, charakteryzował się najwyższym udziałem barwy żółtej ($b^*=10,23$) spośród badanych soków, a dodatek inhibitora dodatkowo zintensyfikował tę barwę.

Soki z dodatkiem owoców o czerwonej barwie, tj. malin, truskawek, czarnej porzeczki czy aronii, charakteryzowały się wysokim udziałem barwy czerwonej ($+a^*$) a niską jasnością (L^*). Spośród tych soków soki mieszane z dodatkiem malin i truskawek charakteryzowały się największym udziałem barwy czerwonej ($a^*=7,16$ i $7,38$), a dodatek soku z rabarbaru wzmógł intensywność tego parametru barwy ($a^*=8,76$; $7,58$). Szczególnie korzystny wpływ inhibitora zaobserwowano w sokach mieszanych z dodatkiem truskawek.

Podczas 6-miesięcznego przechowywania badanych soków w temperaturze 4 i 30°C nastąpiły istotne zmiany parametrów barwy. Porównanie barwy soków po przechowywaniu przedstawiono na rysunku 30, gdzie próbką odniesienia był przechowywany sok pigwowy bez dodatku soku z rabarbaru.

Intensyfikacja tych przemian ściśle zależała od warunków przechowywania, gdyż próbki przechowywane w 30°C charakteryzowały się niższymi parametrami jakościowymi barwy niż ich odpowiedniki przechowywane w 4°C. Dodatkowo, zmiany te były bardziej znaczące dla soków sporządzonych bez dodatku inhibitora, przechowywanych w temperaturze 30°C (rys. 30).

Grupa soków mieszanych, gdzie do ich otrzymania użyto czerwonych owoców jagodowych, tj. z udziałem związków z grupy antocyjanów, była niestabilna. W sokach tych następował nie tylko ubytek polifenoli, ale także zanik barwy czerwonej, przy czym zmiana ta była intensywniejsza dla surowców zawierających witaminę C, tj. dla czarnej porzeczki. Zanik czerwonej barwy był bezpośrednim wynikiem degradacji antocyjanów (rys. 23) podczas przechowywania.



Rys. 30. Barwa soków pigwowych i soków mieszanych po przechowywaniu (6 miesięcy w 4 i 30°C)

0% R – soki bez dodatku inhibitora; 2,5% R – soki z dodatkiem inhibitora

0 – sok pigwowy przed przechowywaniem, 1 – sok pigwowy, 1' – sok pigwowy przechowywany, 2 – sok z dodatkiem pigwowca, 3 – sok z dodatkiem rokitnika, 4 – sok z dodatkiem maliny, 5 – sok z dodatkiem truskawki, 6 – sok z dodatkiem czarnej porzeczki, 7 – sok z dodatkiem aronii, 8 – sok z dodatkiem jarzębiny, 9 – sok z dodatkiem głogu

Fig. 30. Colour for quince juice and mixed juices after stored (6 month at 4 and 30°C)

0% R – juices without addition of inhibitor; 2,5% R – juices with added of inhibitor

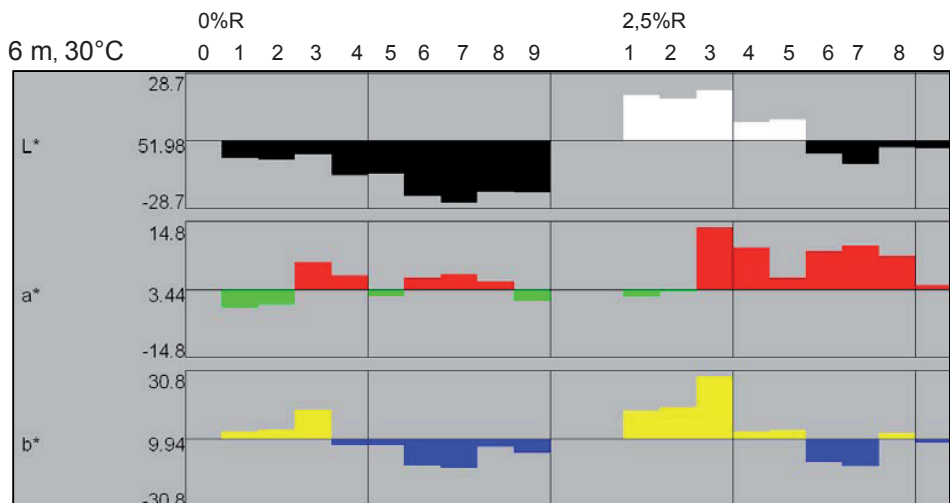
0 – quince juice before storage, 1 – quince juice, 1' – quince juice after storage, 2 – juices with added flowering quince, 3 – juices with added sea buckthorn, 4 – juices with added raspberry, 5 – juices with added strawberry, 6 – juices with added black currant, 7 – juices with added chokeberry, 8 – juices with added rowanberry, 9 – juices with added hawthorn

Barwę soków jabłkowych i soków mieszanych przedstawiono na rysunku 31. Barwa badanych produktów była odmienna od barwy soków z pigwy. Soki jabłkowe bez i z dodatkiem inhibitora były jaśniejsze ($L^*=48,20$ i $L^*=53,02$) niż soki pigwowe ($L^*=34,37$ i $L^*=38,65$). Różnice te przedłożyły się także na parametry barwy soków mieszanych. Jabłkowe soki mieszane także charakteryzowały się wyższymi parametrami barwy. W sokach tych nastąpiło istotne zintensyfikowanie poszczególnych parametrów barwy, w szczególności udziału barwy czerwonej ($+a^*$) (przy dodatku owoców malin, truskawek, czarnej porzeczki, aronii) oraz barwy żółtej ($+b^*$) (przy dodatku owoców pigwowca i rokitnika). Analizując wyniki pomiarów barwy po 6-miesięcznym przechowywaniu w stosunku do próbek nieprzechowywanych, stwierdzono, że soki jabłkowe i mieszane były ciemniejsze, mniej czerwone i żółte, a bardziej zielone i niebieskie. Zmiany barwy były uzależnione od sposobu przygotowania soku do badań, czyli dodatku inhibitora i owoców, gdyż dodane owoce były o jasnym, żółtym, czerwonym i ciemnoczerwonym kolorze. Zmiany barwy badanych soków były intensywniejsze w próbkach przechowywanych w 30 niż w 4°C.

Podstawowy skład chemiczny (ekstrakt, kwasowość ogólna) oraz parametry fizyczne (lepkość i zmetnienie) w sokach pigwowych i pigwowych sokach mieszanych przedstawiono w tabeli 14. Na zawartość analizowanych wyróżników składu chemicznego istotny wpływ miał dodatek owoców oraz inhibitora ($p<0,05$). Ekstrakt ogólny soków pigwowych wynosił 13,3°Brix, przy czym dodatek inhibitora nieznacznie, chociaż istotnie statystycznie ($p<0,05$), obniżył tę wartość do 12,5°Brix. Najwyższą zawartość ekstraktu uzyskano w sokach mieszanych z dodatkiem owoców jarzębiny, czarnej porzeczki i aronii. W porównaniu z sokiem pigwowym najniższe wartości ekstraktu uzyskano dla soków mieszanych z dodatkiem owoców rokitnika, malin oraz truskawki. Analogiczną zależność zaobserwowano w odniesieniu do wyników uzyskanych z pomiaru kwasowości ogólnej. Najniższą kwasowością ogólną charakteryzowały się soki pigwowe oraz soki mieszane z dodatkiem owoców truskawki, aronii i malin. Najwyższą kwasowością charakteryzowały się soki mieszane z dodatkiem pigwowca (niemal 2%).

Wyznaczona lepkość badanych soków zarówno mieszanych, jak i jednoskładnikowych była zróżnicowana. Dodatek inhibitora przemian oksydacyjnych, co potwierdziła analiza statystyczna, nie miał istotnego wpływu na lepkość ($p>0,05$), natomiast dodatek owoców był czynnikiem istotnie determinującym ten parametr ($p<0,05$). Wartości lepkości w sokach bez dodatku inhibitora wynosiły od 1,84 do 2,14 mPa·s, natomiast z dodatkiem inhibitora mieściły się one w nieco węższym przedziale od 1,88 do 2,09 mPa·s. W grupie soków sporządzonych bez dodatku inhibitora najwyższe wartości lepkości uzyskano w sokach mieszanych z dodatkiem owoców jarzębiny (2,14 mPa·s) i głogu (2,13 mPa·s). Natomiast najniższą lepkość miały soki mieszane z dodatkiem truskawek i malin (1,84 mPa·s). Podobne wartości uzyskano w przypadku odpowiedników tych soków z dodatkiem inhibitora.

Analiza statystyczna wyników związana z pomiarem zmetnienia badanych soków wskazała, że na parametr ten miał istotny ($p<0,05$) wpływ zarówno dodatek inhibitora, jak i owoców. Wartości zmetnienia soków mieszanych z dodatkiem owoców głogu, ale bez dodatku inhibitora wynosiły 151,56 NTU, natomiast z dodatkiem owoców rokitnika 1278,00 NTU. Z przedstawionych danych wynika, że dodatek inhibitora spowodował wzrost wartości zmetnienia.



Rys. 31. Barwa soków jabłkowych i soków mieszanych przed i po przechowywaniu (6 miesięcy (m) w 4 i 30°C)

0 – sok jabłkowy przed przechowywaniem, 1 – sok jabłkowy, 2 – sok z dodatkiem pigwowca, 3 – sok z dodatkiem rokitnika, 4 – sok z dodatkiem maliny, 5 – sok z dodatkiem truskawki, 6 – sok z dodatkiem czarnej porzeczki, 7 – sok z dodatkiem aronii, 8 – sok z dodatkiem jarzębiny, 9 – sok z dodatkiem głogu

Fig. 31. The colour of apple and mixed juices before and after storage (6 months (m) at 4 and 30°C)

0 – apple juice before storage, 1 – apple juice, 2 – juice with added flowering quince, 3 – juice with added sea buckthorn, 4 – juice with added raspberry, 5 – juice with added strawberry, 6 – juice with added black currant, 7 – juice with added chokeberry, 8 – juice with added rowanberry, 9 – juice with added hawthorn

Wyniki związane z oceną organoleptyczną soków pigwowych i soków mieszanych przedstawiono w tabeli 15. Ocenie organoleptycznej sporządzonych soków poddano barwę, smak, zapach i wygląd. Dodatkowo określono stopień zmętnienia oraz wrażenie ogólne. Oceny dokonano w skali 1–5, gdzie wartość 1 oznaczała wyróżnik bardzo niepożądany, a 5 – bardzo pożądaną.

Soki pigwowe i soki mieszane sporządzono bez dodatku cukru, przez co oddawały rzeczywiste właściwości surowców. Barwa była parametrem, który kształtował pierwsze wrażenie i często decydował o wrażeniu ogólnym, akceptacji a także dyskwalifikacji danego produktu bez poznania jego pozostałych cech. Najwyżej oceniona została barwa soków mieszanych z dodatkiem owoców czarnej porzeczki, rokitnika oraz malin (5,0; 4,9 i 4,6). Najniższą notę uzyskał sok mieszany z dodatkiem owoców jarzębiny (3,1), truskawek i głogu (3,7).

Tabela 14
Table 14

Skład chemiczny soków pigwowych i mieszanych
The chemical composition of quince juice and mixed juices

Inhibitor	Soki Juices	Ekstrakt [oBrix] Soluble solid	Kwasowość ogólna [g kwasu jabłkowego 100ml ⁻¹ Total acidity [g of malic acid 100ml ⁻¹]	Lepkość [mPa·s] Viscosity	Zmętnienie [%] Trubidity
0% R	P	13,3	1,13	2,17	449,00
	PIG	13,3	1,96	1,91	642,54
	R	12,6	1,29	1,87	1278,00
	M	12,6	1,22	1,84	159,60
	T	13,8	1,28	1,84	180,82
	CzP	15,3	1,55	1,95	293,00
	A	16,9	1,21	2,06	851,50
	J	16,6	1,42	2,14	958,20
	G	14,9	1,13	2,13	151,56
2,5% R	P	12,5	1,01	1,90	429,66
	PIG	13,0	1,82	1,91	1110,90
	R	13,2	1,31	1,93	1912,30
	M	13,3	1,24	1,88	2934,15
	T	12,5	0,98	1,96	659,55
	CzP	15,4	1,69	1,97	354,66
	A	15,1	1,13	2,00	1930,80
	J	16,8	1,43	2,09	1086,90
	G	14,7	1,18	1,99	337,98

a, b, c... – litery w kolumnach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$

0% R – soki bez dodatku inhibitora; 2,5% R – soki z dodatkiem inhibitora

P – pigwa, PIG – pigwowiec, R – rokitnik, M – malina, T – truskawka, CzP – czarna porzeczka, A – aronia, J – jarzębina, G – głóg

a, b, c... – the same letters in columns means homogenous groups $p < 0.05$

0% R – juices without addition of inhibitor; 2,5% R – juices with added of inhibitor

P – quince, PIG – flowering quince, R – sea buckthorn, M – raspberry, T – strawberry, CzP – black currant, A – chokeberry, J – rowanberry, G – hawthorn

Tabela 15
Table 15

Wyniki oceny organoleptycznej soków pigwowych i mieszanych (wartości średnie)
The results of organoleptic examination of quince juices and mixed juices (average values)

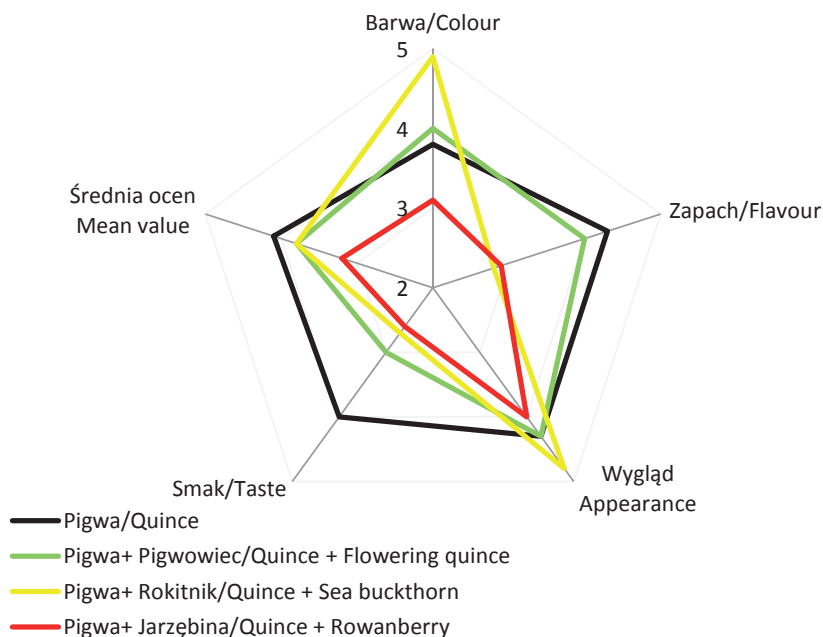
Rodzaj soku – Kind of juices	Cecha – Property				
	Kolor Colour	Zapach Aroma	Wygląd Appearance	Smak Taste	Średnia ocen Mean value
Pigwa – Quince	3,8	4,3	4,3	4,0	4,1
Pigwa+ Pigwowiec Quince+ Flowering quince	4,0	4,0	4,3	3,0	3,8
Pigwa+ Rokitnik – Quince + Sea buckthorn	4,9	2,8	4,8	2,7	3,8
Pigwa+ Malina – Quince + Raspberry	4,6	4,7	4,6	4,2	4,5
Pigwa+ Truskawka – Quince + Strawberry	3,7	5,0	4,0	4,9	4,4
Pigwa+ Czarna porzeczka Quince + Black currant	5,0	4,1	4,9	4,7	4,7
Pigwa+ Aronia – Quince + Chokeberry	4,2	3,1	4,4	3,6	3,8
Pigwa+ Jarzębina – Quince + Rowanberry	3,1	2,9	4,0	2,6	3,2
Pigwa+ Głóg – Quince + Hawthorn	3,7	3,2	4,1	4,2	3,8

Pomimo nietypowego wrażenia smaku i zapachu pochodzącego z surowca – owoców pigwy, które mogło nie wszystkim oceniającym odpowiadać, sok pigwowy został wysoko oceniony. Uzyskana nota z wrażenia ogólnego dla tego soku była jedną z wyższych (4,2), co sugeruje, że sok został zaakceptowany przez panel konsumencki. Dodatek owoców innego gatunku zmienił w nieznacznym stopniu cechy organoleptyczne soku pigwowego. Dwudziestoprocentowy dodatek takich owoców jak czarnej porzeczki, truskawek czy malin spowodował, że pozytywne doznania sensoryczne (barwa, smak, zapach, wygląd) wśród oceniających nasiliły się, co bezpośrednio przełożyło się na wyższe noty.

Zapach produktów często wspomaga nasze doznania smakowe i ukierunkowuje je, gdyż z danym zapachem kojarzą się konkretne smaki. Nieprzyjemne lub nietypowe cechy zapachu i smaku również decydują o stopniu jego akceptowalności. Najwyższe noty dla wyróżnika, jakim był zapach, uzyskały soki z dodatkiem malin oraz truskawek (4,7 i 5,0). Pod względem smaku ankietowani najlepiej ocenili smak soków z dodatkiem owoców truskawek i czarnych porzeczek (4,9 i 4,7). Najniższe noty akceptacji zapachu i smaku uzyskał sok mieszany z dodatkiem owoców rokitnika (2,8 i 2,7) oraz jarzębiny (2,9 i 2,6).

Wszystkie cechy organoleptyczne wpłynęły na wrażenie ogólne panelu oceniającego. Podsumowując, najwyżej ocenionymi sokami były soki mieszane z dodatkiem takich owoców jak truskawki, czarne porzeczki i maliny.

Oceniane właściwości organoleptyczne wybranych soków zostały przedstawione w postaci graficznej na zamieszczonym poniżej profilogramie 1 (rys. 32).



Rys. 32. Profilogram analizy sensorycznej soku pigwowego i soków mieszanych z dodatkiem owoców pigwowca, rokitnika oraz jarzębiny

Fig. 32. Sensory analysis profile of quince juice and mixed juices with flowering quince, sea buckthorn and rowanberry

Podczas otrzymywania soków mieszanych dodatek takich owoców jak rokitnik, pigwowiec, jarzębina szczególnie niekorzystnie został odebrany przez oceniających. Niska ocena soku mieszanego z dodatkiem owoców pigwowca (3,7) wynikała z natury tych owoców, odznaczających się bardzo kwaśnym smakiem. Natomiast w przypadku soków mieszanych z dodatkiem owoców jarzębiny czy rokitnika ich specyficzny smak i zapach nie został zaakceptowany (tab.15).

Pierwszą, poddaną ocenie sensorycznej cechą soków jabłkowych i mieszanych soków jabłkowych była ich barwa (tab. 16). Spośród tych soków najkorzystniejszą barwą według oceniających charakteryzowały się soki mieszane z dodatkiem czarnej porzeczki (5,0), rokitnika (4,9) i aronii (4,7). Oceniający również zwrócili uwagę na atrakcyjną barwę mieszanych soków jabłkowych z owocami pigwowca (4,8). Najmniej atrakcyjne były soki z dodatkiem jarzębiny i głogu. W ocenie wyglądu,

gdzie zwrócono uwagę na atrakcyjność barwy badanych soków, stwierdzono, że soki z dodatkiem owoców kolorowych należały do najbardziej pożądaných. Oceniający zwrócili uwagę na atrakcyjny żółty kolor mieszanego soku jabłkowo-rokitnikowego (4,8). Kolejnymi cechami podlegającymi ocenie były zapach i smak. Najwyżej ocenionymi sokami pod względem smaku i zapachu były soki mieszane jabłkowo-truskawkowe (5,0 i 5,0) i jabłkowo-porzeczkowe (5,0 i 4,8). Najniższą ocenę uzyskały soki mieszane z dodatkiem owoców rokitnika (3,2 i 2,8) i jarzębiny (2,9 i 2,7). Według średniej oceny końcowej najbardziej pożądanymi produktami ze względu na oceniane cechy były soki mieszane z dodatkiem owoców czarnej porzeczki i truskawek. Niskie noty barwy, zapachu i smaku sprawiły, że najmniej pożądanym sokiem mieszanym były soki z dodatkiem owoców jarzębiny i rokitnika. W porównaniu z pigwowymi sokami mieszanymi soki jabłkowe mieszane charakteryzowały się podobnymi bądź wyższymi notami analizowanych wyróżników. Dobrym przykładem był tutaj wyższy stopień akceptacji przez oceniających soku mieszane jabłkowo-rokitnikowego. Jednakże sok z dodatkiem owoców jarzębiny niezależnie od układu jabłko-jarzębina czy pigwa-jarzębina nie spotkał się z akceptacją oceniających z powodu gorzkiego smaku, jaki wniosły owoce jarzębiny.

Tabela 16

Table 16

Wyniki oceny organoleptycznej soków jabłkowych i soków mieszanych (wartości średnie)
The results of organoleptic examination of apple juice and mixed juices (mean values)

Rodzaj soku Kind of juices	Cecha – Property				
	Barwa Colour	Wygląd Appearance	Zapach Aroma	Smak Taste	Średnia ocen Mean value
Jabłko – Apple	4,7	4,5	4,4	4,5	4,5
Jabłko+ Pigwowiec Apple+ Flowering quince	4,8	4,2	2,9	4,3	4,1
Jabłka + Rokitnik – Apple + Sea buckthorn	4,9	4,8	3,2	2,9	4,0
Jabłka + Malina – Apple + Raspberry	4,4	4,7	4,3	4,6	4,5
Jabłka + Truskawka – Apple + Strawberry	4,5	4,8	5,0	5,0	4,8
Jabłka + Czarna porzeczka Apple + Black currant	5,0	4,6	4,8	5,0	4,9
Jabłka + Aronia – Apple + chokeberry	4,7	4,6	3,6	3,5	4,1
Jabłka + Jarzębina – Apple + Rowanberry	3,6	4,0	2,7	2,9	3,3
Jabłka+ Głóg – Apple + Hawthorn	3,8	4,4	4,3	4,5	4,3

Porównanie jakości mieszanych przecierów pigwowych z mieszanymi przecierami jabłkowymi

Przeciery mieszane to kolejna grupa produktów, do których przygotowania wykorzystano owoce pigwy. Przeciery zostały sporządzone z zachowaniem takiej samej proporcji owoców (80:20) oraz wykonano te same analizy jak przy sokach mieszanych.

Przeciery mieszane charakteryzowały się od 1,76 do 54,25% wyższą zawartością związków polifenolowych niż ich odpowiedniki, tj. soki. Z uzyskanych wyników największą różnicę pomiędzy sokami a przecierami stwierdzono w zawartości flawonoli. Wzrost zawartości pochodnych kwercetyny w przecierach w stosunku do soków wynosił z 8,07 do 62,88%. Wyższa ilość pochodnych kwercetyny i kamferolu związana była z dodatkiem surowca i użyciem inhibitora jak i technologią produkcji. Najwyższy wzrost zawartości tych związków stwierdzono w próbkach przecierów mieszanych z dodatkiem owoców pigwowca i rokitnika oraz w przecierze pigwowym z dodatkiem inhibitora. W przypadku pozostałych klas związków polifenolowych nie uzyskano tak wyraźnej różnicy jak w zawartości flawonoli (rys. 33).

Zawartość związków polifenolowych w przecierze pigwowym wynosiła 842,78 mg100g⁻¹. Zastosowane mieszanie owoców podczas otrzymywania przecierów istotnie wpłynęło nie tylko na zahamowanie procesów utleniania, ale przyczyniło się do wzbogacenia badanych produktów w związki polifenolowe. Otrzymane przeciery mieszane zawierały od 842,78 do 2468,42 mg100g⁻¹ związków polifenolowych. Najwyższy wzrost zawartości polifenoli ogółem zmierzono w przecierach, gdzie jako dodatek zastosowano owoce czarnej porzeczki (wzrost 2,9-krotny) > aronii (2,6-krotny) > jarzębiny (2,5-krotny) > pigwowca (2,3-krotny) > rokitnika (2,2-krotny) oraz maliny, truskawki i głogu (do 1,5-krotny) w stosunku do przecieru pigwowego. Zawartość flawonoli, w tym polimerów procyanidyn, kwasów fenolowych i flawonoli w przecierze pigwowym, wynosiła odpowiednio: 35,51; 403,25; 333,38 i 70,64 mg100g⁻¹. Dodatek owoców czarnej porzeczki sprawił, że istotnie wzrosła zawartość niemal wszystkich klas związków polifenolowych (oprócz flawonoli). Ponadto przecier ten został wzbogacony w związki z grupy antocyjanów (644,31 mg100g⁻¹).

Decydujący wpływ na zawartość związków polifenolowych w przecierach wywierał dodatek inhibitora przemian oksydacyjnych. Uzyskane wyniki wskazują, że zawartość związków polifenolowych zależy głównie od stopnia zabezpieczenia ich przed procesami enzymatycznego utlenienia czy też hydrolizy. Zawartość polifenoli w próbkach przecierów mieszanych wynosiła od 1589,11 do 3557,17 mg100g⁻¹ i średnio była wyższa o 70% od próbek przecierów bez dodatku inhibitora. Analogicznie jak dla soków najwyższą zawartość tych związków stwierdzono w przecierach mieszanych z dodatkiem owoców aronii, czarnej porzeczki i jarzębiny. Natomiast najwyższy wzrost zawartości tych związków pomiędzy próbkami bez inhibitora a próbkami z dodatkiem inhibitora uzyskano w próbce przecieru pigwowego (88,6%) oraz mieszanego z dodatkiem owoców truskawek, malin i aronii (62,4, 59,6 i 59,4%). Również w przecierze pigwowym z dodatkiem owoców głogu wzrost zawartości związków polifenolowych był znaczący (57,9%). Najniższy wzrost zawartości polifenoli w porównaniu z próbkami przecierów bez dodatku inhibitora uzyskano w przypadku sporządzonych przecierów z dodatkiem owoców kwaśnych, tj. z dodatkiem owoców pigwowca i rokitnika (rys. 33). W przypadku owoców rokitnika to naturalnie zawarty kwas askorbinowy działał stabilizująco na związki polifenolowe owoców pigwy podczas przygotowywania przecierów. Natomiast obniżenie pH w przypadku przecierów mieszanych

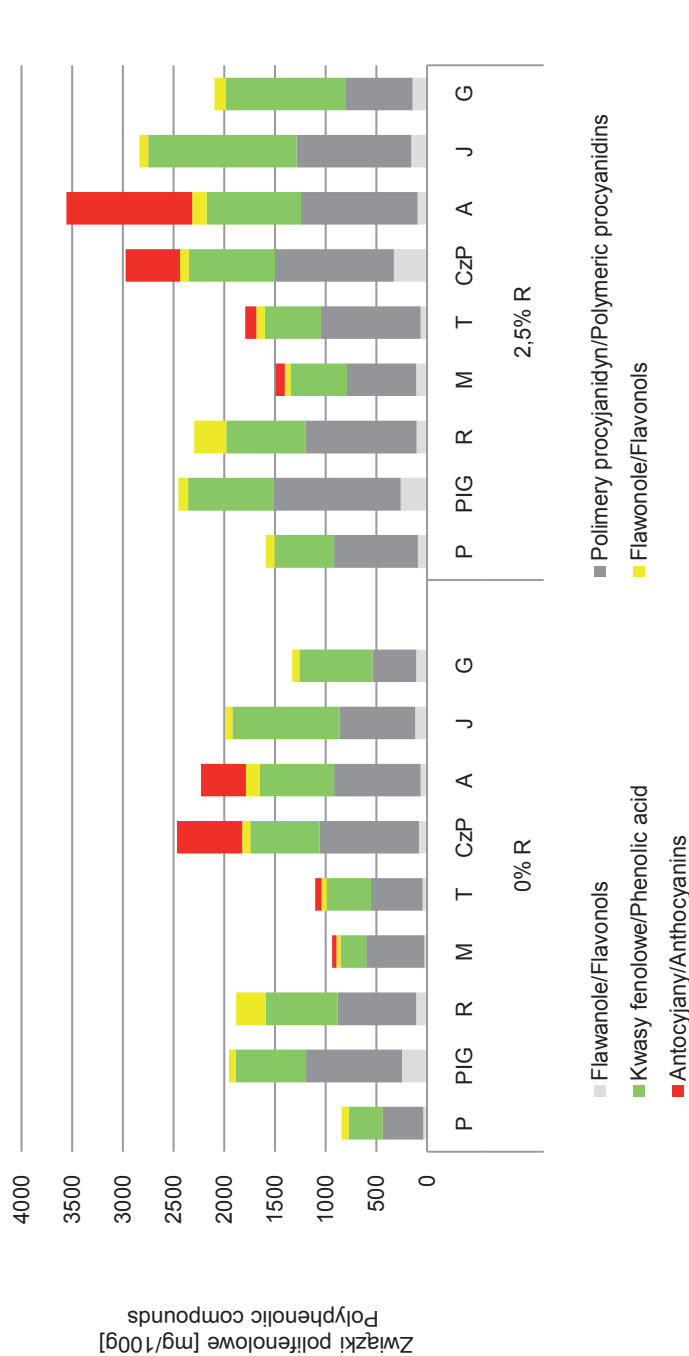
z dodatkiem owoców pigwowca wpłynęło istotnie na stabilizację związków polifenolowych pigwy, składnika bazowego tego produktu. Dlatego obserwowano, że w tych próbkach dodatek inhibitora był mało efektywny. Ponadto owoce pigwowca zasobne w związki polifenolowe, w szczególności we flawanole istotnie zwiększyły zawartość tych związków w produkcie finalnym.

Znaczący wzrost zawartości flawanoli, w tym polimerów procyanidyn, w badanych przecierach mieszanych uzyskano wraz z dodatkiem owoców pigwowca, czarnej porzeczki i jarzębiny (rys. 33). Również po wprowadzeniu owoców aronii i rokitnika nastąpił dodatkowy wzrost polimerów procyanidyn. W przypadku kwasów fenolowych ich wyższą zawartość stwierdzono w badanych przecierach mieszanych z dodatkiem jarzębiny, głogu, pigwowca, czarnej porzeczki i aronii. Wzrost zawartości pochodnych kwercetyny związany był z procesem mieszania owoców pigwy z owocami rokitnika oraz aronii. Wprowadzenie odmiennej klasy polifenoli, tj. autocyjanów do przecierów pigwowych uzyskano poprzez dodatek owoców jagodowych, tj. maliny, truskawki, czarnej porzeczki, aronii.

Tak jak w przypadku soków znaczący wzrost zawartości tych związków uzyskano poprzez dodatek inhibitora. W szczególności w próbkach przecierów z dodatkiem owoców malin, aronii i czarnej porzeczki uzyskano wzrost zawartości antocyjanów, odpowiednio 2,1-, 2,8-, 8,5-krotny. Podobnie jak w przypadku soków zawartość antocyjanów w badanym przecierze pigwowo-porzeczkowym, otrzymanym bez dodatku inhibitora, była wyższa niż w przecierze pigwowo-aroniowym. Dodatkowo, wyższa zawartość antocyjanów w tych próbkach, w szczególności w próbce z dodatkiem owoców aronii, potwierdziła korzystne działanie inhibitora przemian utleniających jako przeciwutleniacza, co uzyskano także w odniesieniu do soków pigwowo-aroniowych i jabłkowo-aroniowych.

Zawartość związków polifenolowych, po przechowywaniu badanych przecierów jabłkowych i mieszanych, przedstawiono na rysunku 34a i b. W zależności od temperatury przechowywania zawartość związków polifenolowych zmniejszyła się o 3–30% i 17–56%, odpowiednio – 4 i 30°C. Analogicznie, jak wykazano wcześniej, omawiając soki jabłkowe i soki pigwowe oraz ich odpowiedniki soków mieszanych, antocyjany to grupa związków najmniej trwałych, w szczególności w przypadku przechowywania próbek w podwyższonej temperaturze. W próbkach przecierów mieszanych pigwowo-porzeczkowych w odróżnieniu od przecierów z dodatkiem owoców aronii degradacja antocyjanów następowała niezależnie od dodatku inhibitora. Najwyższą degradację antocyjanów zmierzono w pozostałych przecierach mieszanych z dodatkiem truskawek i malin.

Pozostałe związki polifenolowe, w porównaniu z antocyjanami, oprócz flawanoli, w tym polimerami procyanidyn, były związkami stabilnymi podczas 6-miesięcznego okresu przechowywania badanych próbek przecierów pigwowych i przecierów mieszanych. Degradacja flawanoli oraz polimerów, zwłaszcza w wyższej temperaturze 30°C, była intensywniejsza niż próbek przechowywanych w 4°C. W stosunku do zawartości początkowej w badanych próbkach przecierów przechowywanych w 30°C pozostało odpowiednio 6–52% flawanoli, w tym 12–77% polimerów procyanidyn. W przypadku próbek przechowywanych w 4°C pozostało odpowiednio 32–96% i 53–99%. W niektórych próbkach przechowywanych w 4°C uzyskano wyższą zawartość pochodnych (+)-katechiny i (-)-epikatechiny (próbka z dodatkiem owoców truskawek, malin oraz pigwy) przy jednoczesnym znaczącym ubytku polimerów procyanidyn (rys. 34a).



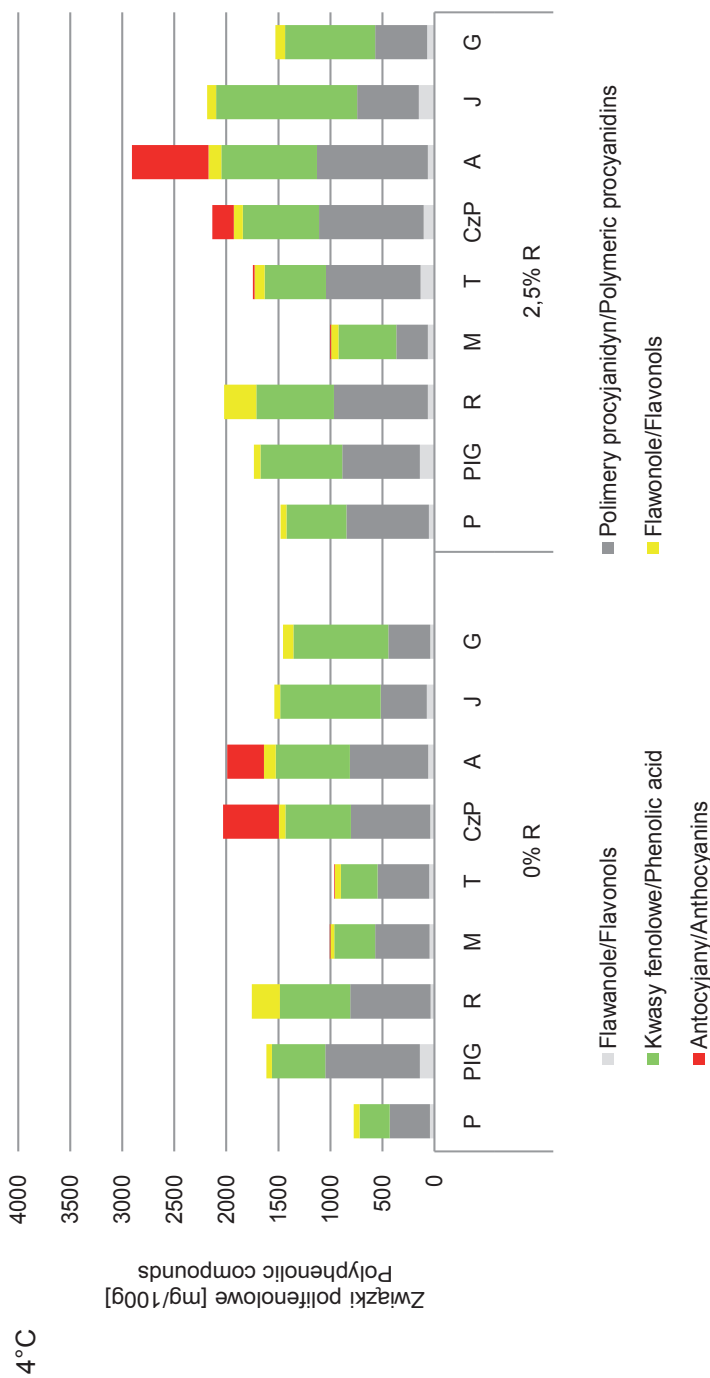
Rys. 33. Zawartość związków polifenolowych [$\text{mg } 100\text{g}^{-1}$] w przecierach pigwowych i mieszanych przed przechowywaniem 0% R – przeciera bez dodatku inhibitora; 2,5% R – przeciera z dodatkiem inhibitora

P – pigwa, PIG – pigwowiec, R – rokitnik, M – malina, T – truskawka, CzP – czarna porzeczka, A – aronia, J – jarzębina, G – głóg

Fig. 33. The content of polyphenolic compounds [$\text{mg } 100\text{g}^{-1}$] in quince purees and mixed purees before storage time

0% R – purees without addition of inhibitor; 2,5% R – purees with added of inhibitor

P – quince, PIG – flowering quince, R – sea buckthorn, M – raspberry, T – strawberry, CzP – black currant, A – chokeberry, J – rowanberry, G – hawthorn



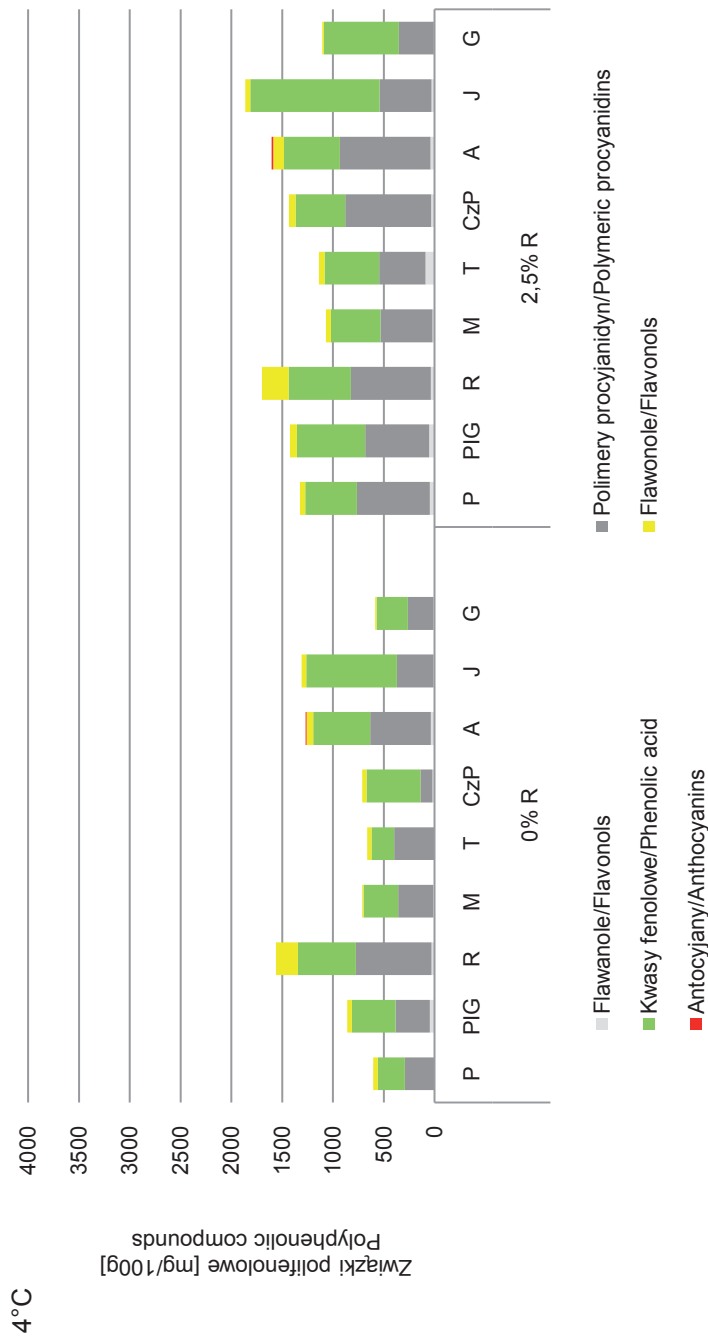
Rys. 34a. Zmiana zawartości związków polifenolowych [mg/100g⁻¹] w przecierach pigwowych i przecierach mieszanych podczas 6-miesięcznego przechowywania w 4°C

P – pigwa, PIG – pigwowiec, R – rokitnik, M – malina, T – truskawka, CzP – czarna porzeczka, A – aronia, J – jarzębina, G – głóg
0%R – przeciecy bez dodatku inhibitora; 2,5%R – przeciecy z dodatkiem inhibitora

Fig. 34a. The change of polyphenolic compounds [mg/100g⁻¹] in quince puree and mixed purees during 6 months of storage at 4°C

0%R – purees without addition of inhibitor; 2,5%R – purees with added of inhibitor

P – quince, PIG – flowering quince, R – sea buckthorn, M – raspberry, T – strawberry, CzP – black currant, A – chokeberry, J – rowanberry, G – hawthorn



Rys. 34b. Zmiana zawartości związków polifenolowych [$\text{mg}100\text{g}^{-1}$] w przecierach pigwowych i mieszanych podczas 6-miesięcznego przechowywania w 30°C

P – pigwa, PIG – pigwowiec, R – rokitnik, M – malina, T – truskawka, CzP – czarna porzeczka, A – aronia, J – jarzębina, G – głóg
0%R – przeciera bez dodatku inhibitora; 2,5%R – przeciera z dodatkiem inhibitora

Fig. 34b. The change of polyphenolic compounds [$\text{mg}100\text{g}^{-1}$] in quince puree and mixed purees during 6 months of storage at 30°C

0%R – purees without addition of inhibitor; 2,5%R – purees with added of inhibitor

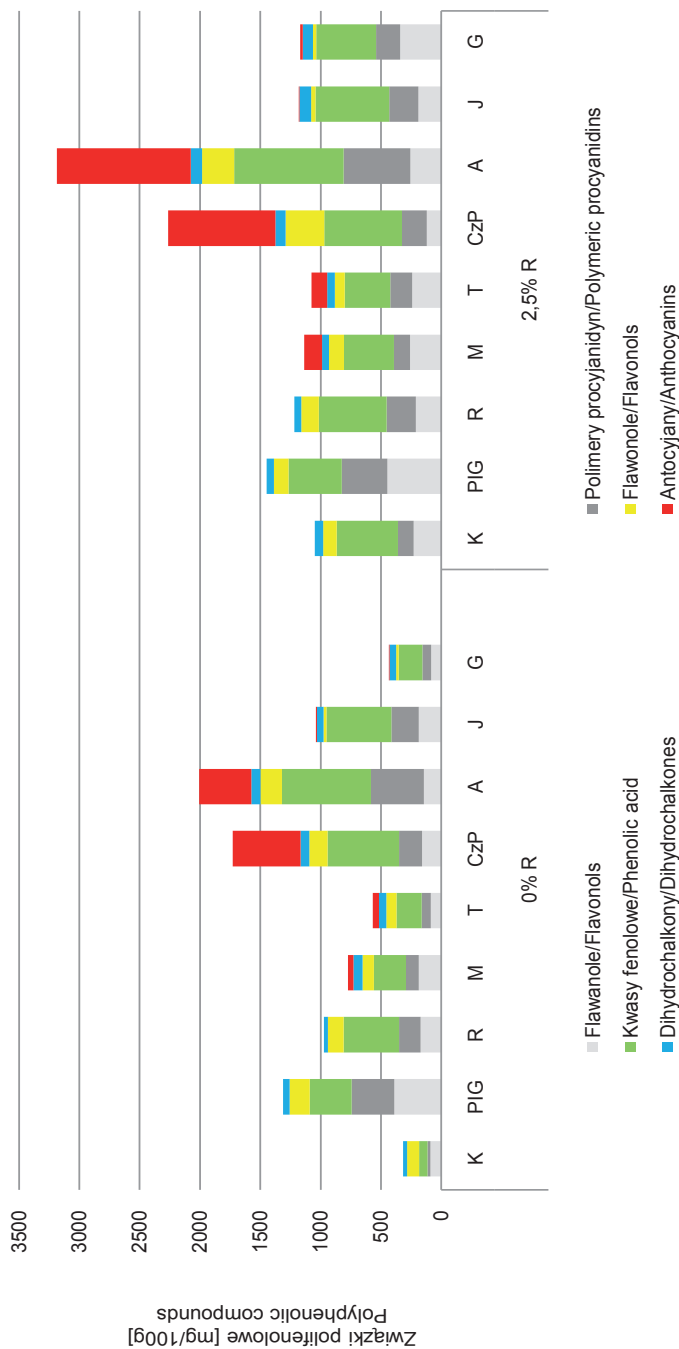
P – quince, PIG – flowering quince, R – sea buckthorn, M – raspberry, T – strawberry, CzP – black currant, A – chokeberry, J – rowanberry, G – hawthorn

Zawartość związków polifenolowych w badanych **przecierach jabłkowych** i mieszanych przedstawiono na rysunku 35. Zawartość związków polifenolowych w przecierach jabłkowych, sporządzonych bez dodatku inhibitora, wynosiła 316,14 mg100g⁻¹. Dodatek inhibitora sprawił, że zawartość polifenoli ogółem istotnie wzrosła (1049,62 mg100g⁻¹) i była również większa od zawartości wyznaczonej w analogicznej próbce przecieru pigwowego (882,84 mg100g⁻¹). W zależności od gatunku owoców, które dodawano celem uzyskania jabłkowych przecierów mieszanych, uzyskano wzrost zawartości polifenoli od 118,73 do 2408,68 mg100g⁻¹ w stosunku do próbki kontrolnej bez dodatku inhibitora. W odniesieniu do mieszanych przecierów pigwowych wzrost ten był mniejszy i wynosił od 273,16 do 777,94 mg100g⁻¹ (rys. 34). Zwiększenie zawartości związków polifenolowych uzyskano poprzez dodanie surowców bogatych w polifenole. Jednakże, wzrost ten był zróżnicowany w zależności od surowca podstawowego stanowiącego bazę produktów mieszanych (pigwa-jabłko). Analogicznie jak dla przecierów z pigwy najwyższy wzrost zawartości związków polifenolowych nastąpił poprzez wprowadzenie do próbek 20% dodatku owoców aronii, czarnej porzeczki, pigwowca oraz rokitnika. Najmniejszy wzrost zanotowano w próbkach przecierów z dodatkiem owoców głogu, truskawki i maliny. Dodatek inhibitora znacząco wpłynął na zachowanie związków w tych próbkach.

Temperatura i czas przechowywania miały istotny wpływ na zmiany zawartości związków polifenolowych badanych przecierów jabłkowych i przecierów mieszanych. Po 6-miesięcznym przechowywaniu obserwowano podobny kierunek zmian, jaki miał miejsce w przypadku wcześniej omawianych soków i przecierów z owoców pigwy. Ubytek związków polifenolowych w badanych przecierach pigwowych przechowywanych w 4 i 30°C wynosił 3–28 i 17–56%, podczas gdy dla przecierów jabłkowych było to odpowiednio 3–43% i 14–78%. Degradacja związków polifenolowych w przechowywanych przecierach jabłkowych była wyższa. W przecierach jabłkowych monomery (+)-katechiny i (-)-epikatechiny odznaczały się większą podatnością na procesy utleniania niż polimery procyanidyn. Przyczyną tego jest większy udział tych monomerów w badanych produktach z jabłek niż w produktach z pigwy, gdzie dominowały polimery procyanidyn (rys. 36a, b).

Najwyższą zawartość witaminy C stwierdzono w przecierze mieszanym z dodatkiem owoców rokitnika (66,39 mg100g⁻¹). W pozostałych produktach zawartość witaminy C wynosiła poniżej 10 mg100g⁻¹. Dodatek soku z rabarbaru skutecznie przeciwdziałał procesowi utlenienia naturalnej witaminy C w produktach. Szczególną rolę inhibitora jako przeciwutleniacza zmierzono w przecierach z dodatkiem owoców czarnej porzeczki i pigwowca, gdzie uzyskano 10-krotnie większą zawartość tego składnika.

Szybkość degradacji witaminy C przy niewielkich zawartościach w próbkach przecierów jabłkowych i przecierów mieszanych była niezależna od warunków, w jakich były one przechowywane. Po przechowywaniu badanych próbek przecierów zawartość witaminy C była śladowa, z wyjątkiem próbki z dodatkiem owoców rokitnika (53,06 i 32,20 mg100g⁻¹ w 4 i 30°C z dodatkiem inhibitora).



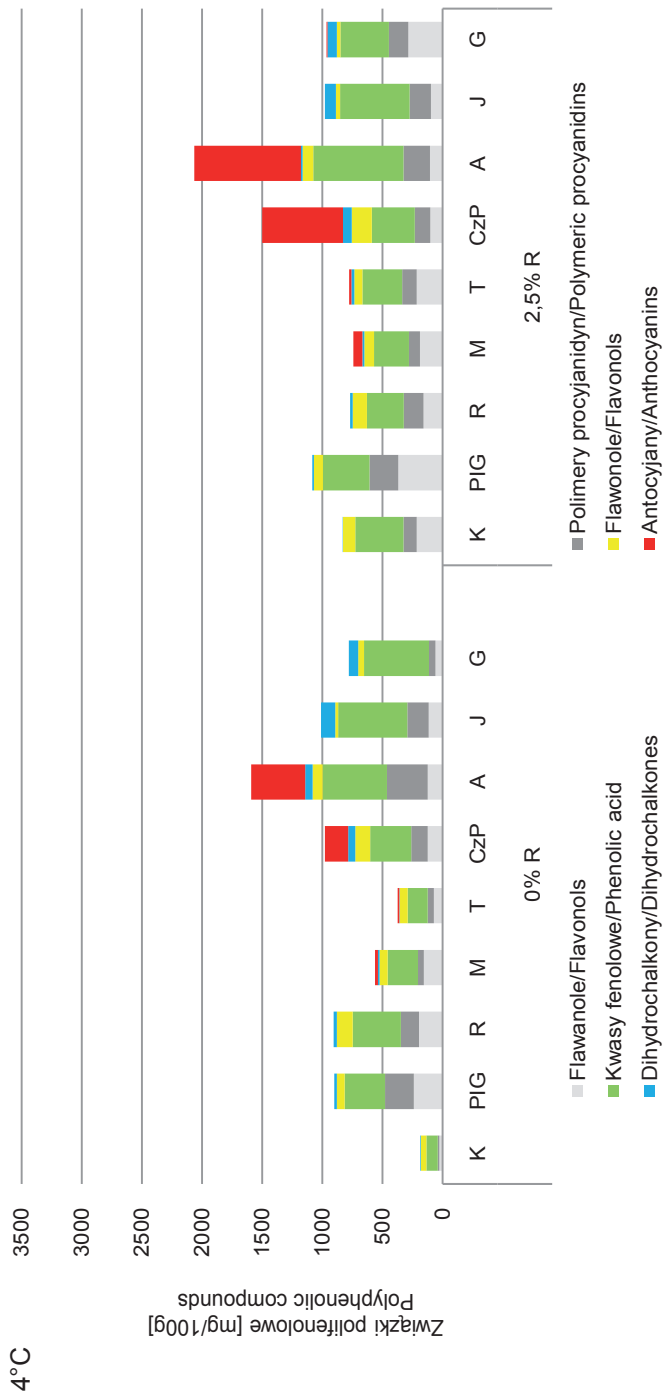
Rys. 35. Zawartość związków polifenolowych [mg 100g⁻¹] w przecierach jabłkowych i przecierach mieszanych przed przechowywaniem 0%R – przecięry bez dodatku inhibitora; 2,5%R – przecięry z dodatkiem inhibitora

K – jabłka, PIG – pigwowiec, R – rokitnik, M-malina, T – truskawka, CzP – czarna porzeczka, A – aronia, J – jarzębina, G – głóg

Fig. 35. The content of polyphenolic compounds [mg 100g⁻¹] in apple puree and mixed purees before storage

0%R – purees without addition of inhibitor; 2,5%R – purees with added of inhibitor

K – apple, PIG – flowering quince, R – sea buckthorn, M – raspberry, T – strawberry, CzP – black currant, A – chokeberry, J – rowanberry, G – hawthorn



Rys. 36a. Zawartość związków polifenolowych [mg/100g⁻¹] w przecierach jabłkowych i przecierach mieszanych po 6 miesiącach przechowywania w 4°C

0% R – przeciery bez dodatku inhibitora; 2,5% R – przeciery z dodatkiem inhibitora

K – jabłko, PIG – pigwowiec, R – rokitnik, M – malina, T – truskawka, CzP – czarna porzeczka, A – aronia, J – jarzębina, G – głóg

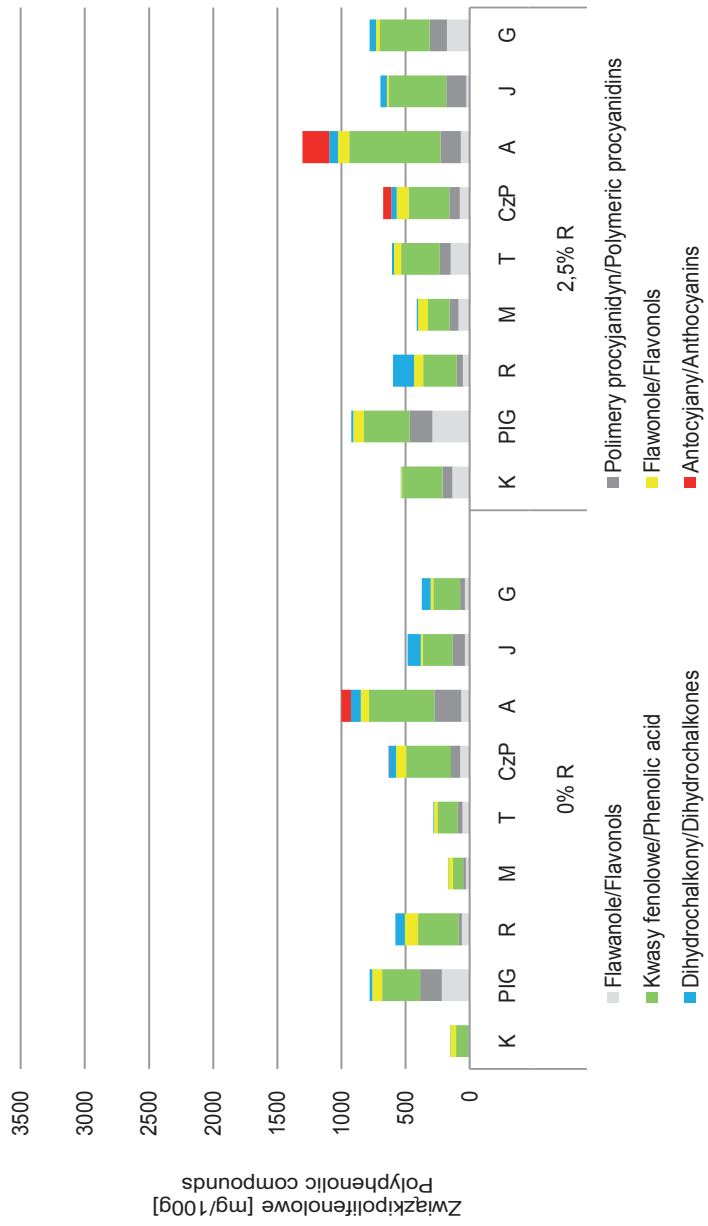
Fig. 36a. The content of polyphenolic compounds [mg/100g⁻¹] in apple puree and mixed purees after 6 months of storage at 4°C

0% R – purees without addition of inhibitor; 2,5% R – purees with added of inhibitor

K – apple, PIG – flowering quince, R – sea buckthorn, M – raspberry, T – strawberry, CzP – black currant, A – chokeberry,

J – rowanberry, G – hawthorn

30°C



Rys. 36b. Zawartość związków polifenolowych [mg/100g⁻¹] w przecierach jabłkowych i przecierach mieszanych po 6 miesiącach przechowywania w 30°C

0% R – przecięry bez dodatku inhibitora; 2,5% R – przecięry z dodatkiem inhibitora
 K – jabłko, PIG – pigwowiec, R – rokitnik, M – malina, T – truskawka, CzP – czarna porzeczka, A – aronia, J – jarzębina, G – głóg
 The content of polyphenolic compounds [mg/100g⁻¹] in apple puree and mixed purees after 6 months of storage at 30°C
 0% R – purees without addition of inhibitor; 2,5% R – purees with added of inhibitor
 K – apple, PIG – flowering quince, R – sea buckthorn, M – raspberry, T – strawberry, CzP – black currant, A – chokeberry, J – rowanberry, G – hawthorn

Otrzymane przeciery pigwowe i przeciery mieszane poddano analizie aktywności przeciwutleniającej. Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 17. Na aktywność przeciwutleniającą badanych przecierów istotny wpływ wywarł dodatek owoców, inhibitora oraz temperatura przechowywania. Aktywność przeciwutleniająca mierzona metodą ABTS, DPPH i FRAP w przecierach kontrolnych bez dodatku inhibitora wynosiła odpowiednio 48,95; 37,66; 7,80 $\mu\text{Mola Trolox } 100\text{g}^{-1}$. Dodatek inhibitora sprawił istotny wzrost aktywności przeciwutleniającej mierzonej tymi metodami, odpowiednio o 11,21; 56,97; 13,55 $\mu\text{Mola Trolox } 100\text{g}^{-1}$. Najwyższą aktywność przeciwutleniającą uzyskano w przecierach mieszanych z dodatkiem owoców pigwowca, aronii, czarnej porzeczki, jarzębiny i rokitnika niezależnie od metody użytej do jej wyznaczenia. Najwyższy wzrost aktywności przeciwutleniającej, po użyciu inhibitora podczas przygotowania przecierów, stwierdzono w próbkach przecierów mieszanych z owocami aronii, malin, truskawek, jak i pigwy (tab. 17).

Podczas przechowywania badanych próbek przecierów pigwowych i mieszanych następowało sukcesywne obniżenie zdolności do zmiatania wolnych rodników (metoda ABTS i DPPH) i redukcji żelaza (metoda FRAP). Pojemność przeciwutleniająca próbek sporządzonych bez dodatku inhibitora po okresie przechowywania zmniejszyła się nawet o 50%. Najwyższe różnice w aktywności przeciwutleniającej po przechowywaniu zmierzono w próbce kontrolnej przecieru pigwowego. Dodatkowo, efekt obniżenia aktywności został spowodowany wyższą temperaturą (30°C) przechowywania próbek, gdyż zdolność do redukcji kationorodnika ABTS zmniejszyła się o 23–47%, redukcji rodnika DPPH o 42–79%, natomiast do redukcji żelaza o 15–77% w tych warunkach.

Na rysunku 37 przedstawiono wyniki pomiaru barwy badanych próbek przecierów pigwowych. Próbką odniesienia był przecier pigwowy bez dodatku soku z rabarbaru. W tej próbce zmierzone wartości parametrów L^* , a^* , b^* wynosiły odpowiednio: 52,19; 10,36 i 21,55. Na barwę przecierów mieszanych istotny wpływ miał 20% dodatek owoców oraz dodatek inhibitora. W zależności od dodatku owoców wykorzystanych do sporządzenia przecierów mieszanych zaobserwowano pojaśnienie lub pociemnienie próbek. Efekt ten uzyskano w przypadku próbek przecierów mieszanych z dodatkiem owoców pigwowca i rokitnika. Obniżenie wartości parametru L^* uzyskano przy dodatku czerwonych owoców jagodowych, tj. maliny, truskawki, czarnej porzeczki i aronii. Dodatek owoców jarzębiny i głogu sprawił, że jasność tych przecierów tylko nieznacznie różniła się od próbki kontrolnej, a dodatek inhibitora spowodował jej wzrost. Podobny wzrost wartości L^* stwierdzono w odniesieniu do próbek z dodatkiem inhibitora, co w szczególności było znaczące w przypadku przecieru pigwowego, gdzie ΔL wynosiła 9,36, oraz w przecierze mieszanym z dodatkiem owoców pigwowca ($\Delta L=19,56$ w odniesieniu do próbki kontrolnej oraz $\Delta L=8,15$ w odniesieniu do analogicznej próbki bez inhibitora). Natomiast w przecierach sporządzonych z dodatkiem owoców jagodowych, tj. maliny, truskawek, czarnych porzeczek oraz jarzębiny i głogu stwierdzono wzrost wartości parametru a^* , czyli udziału barwy czerwonej (+15%), co związane było z wprowadzeniem odmiennej grupy związków polifenolowych – antocyjanów. Znaczącą zmianę wartości parametru a^* zmierzono w próbkach przecieru pigwowo-aroniowego gdzie wartość parametru a^* z inhibitorem wzrosła z -0,43 do +1,13. Zmierzony wzrost jasności próbek przecierów z dodatkiem owoców jarzębiny i głogu związany był z obniżeniem wartości parametru a^* , co świadczyło o zahamowaniu procesu utleniania poprzez dodatek inhibitora.

Aktywność przeciwutleniająca [$\mu\text{Mol Trolox } 100\text{g}^{-1}$] przecierów pigwowych i przecierów mieszanych przed i po przechowywaniu
The antioxidant activity [$\mu\text{Mol Trolox } 100\text{g}^{-1}$] of quince puree and mixed purees before and after storage

Dodatek inhibitora Inhibitor added	Soki Juices	ABTS		DPPH		FRAP		
		0 m	6 m, 4°C	0 m	6 m, 30°C	0 m	6 m, 4°C	6 m, 30°C
0% R	P	48,95j	40,29j	37,66k	23,28i	7,80f	5,36f	4,39f
	PIG	185,02c	150,55d	163,55f	110,95d	15,32b	10,62b	7,48c
	R	144,65f	148,93d	194,59d	133,30c	15,63b	9,89c	7,85c
	M	84,97i	71,04h	59,73h	39,91h	8,75e	4,02g	2,40g
	T	85,02i	72,49h	50,24	79,22g	10,98	8,77d	5,51e
	CzP	175,49d	139,74e	104,21d	251,51b	12,30d	8,87d	6,74d
	A	163,92e	141,76de	102,72e	250,59b	11,97d	7,60e	6,24d
	J	142,34f	104,04g	94,40g	133,77g	8,69e	7,37e	6,97d
	G	77,32i	64,36i	56,41h	83,30fg	6,19g	5,39f	4,06f
	P	111,21h	97,12g	62,46h	45,45h	13,55c	12,33a	11,55a
	PIG	182,53c	161,90c	98,11f	171,53e	15,36b	11,65ab	7,82c
	R	205,75b	171,17b	116,49c	231,48c	20,85a	9,72c	7,65c
M	133,38fg	121,79f	103,07de	111,89h	11,71d	4,96f	4,42f	
T	129,33g	115,34f	83,98g	138,29g	12,62d	10,86b	2,92g	
CzP	185,40c	174,08b	136,76a	301,21a	14,25c	10,18b	7,76c	
A	216,75a	193,91a	136,93a	305,65a	15,05b	10,72b	7,54c	
J	176,36d	162,52c	125,56b	156,21f	144,58c	16,35b	9,75c	
G	134,55fg	130,22e	97,850f	130,45g	95,44f	13,13cd	8,33d	

a, b, c, ... - litery w kolumnach oznaczają grupy jednorodnie przy poziomie istotności $p < 0,05$

0% R – przecietery bez dodatku inhibitora; 2,5% R – przecietery z dodatkiem inhibitora

P – pigwa, PIG – pigwowiec, R – rokitnik, M – malina, T – truskawka, CzP – czarna porzeczka, A – aronia, J – jarzębina, G – głóg

a, b, c, ... - the same letters in columns means homogenous groups $p < 0,05$

0% R – purees without addition of inhibitor; 2,5% R – purees with added of inhibitor

P – quince, PIG – flowering quince, R – sea buckthorn, M – raspberry, T – strawberry, CzP – black currant, A – chokeberry, J – rowanberry, G – hawthorn

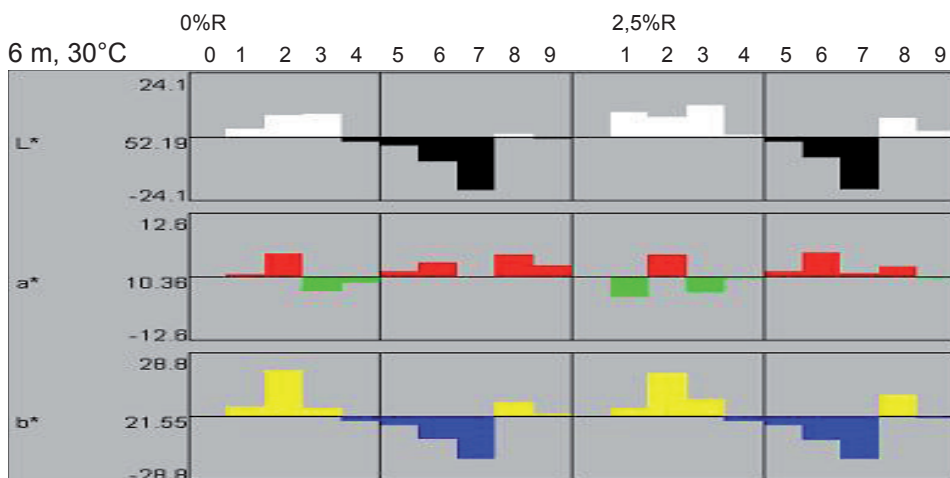
Barwa badanych przecierów sporządzonych z owoców pigwy podlegała dynamicznym zmianom w czasie ich przechowywania. Tempo tych zmian zależało od temperatury przechowywania oraz od zastosowania inhibitora (rys. 37). Jako próbką odniesienia posłużono się nieprzechowywaną próbką przecieru pigwowego bez dodatku inhibitora. W stosunku do tej próbki przecierzy przechowywane w 30°C odznaczały się większymi zmianami poszczególnych parametrów barwy niż próbki przechowywane w 4°C.

Obniżeniu uległy wartości parametru L^* decydującego o jasności, parametru a^* decydującego o odcieniu czerwonym oraz parametru b^* decydującego o odcieniu żółtym badanych produktów. Obniżenie udziału wartości parametru a^* było bezpośrednim wynikiem degradacji antocyjanów odpowiedzialnych za czerwoną barwę sporządzonych produktów i powstania produktów degradacji tych związków o brązowym zabarwieniu. Zmiany te dodatkowo zostały zintensyfikowane w próbkach bez dodatku inhibitora przemian oksydacyjnych.

Wyniki pomiaru barwy otrzymanych przecierów jabłkowych i przecierów mieszanych zostały przedstawione na rysunku 38. W próbkach kontrolnych badanych przecierów bez dodatku inhibitora oraz z nim wartość parametru L^* świadczącego o jasności wynosiła odpowiednio 42,57 i 55,07; wartość parametru a^* , informującego o położeniu w przestrzeni barwnej pomiędzy czerwienią a zielenią, wynosiła odpowiednio 6,94 i 0,08 oraz parametru b^* , określającego położenie między barwą żółtą a niebieską, odpowiednio 15,71 i 16,42. Natomiast w przecierach pigwowych wartości te stanowiły odpowiednio: $L^*=52,19$ i $61,55$; $a^*=10,36$ i $4,83$ oraz $b^*=21,55$ i $21,37$. Pomimo że surowce te charakteryzowały się różnymi parametrami barwy, to dodatek inhibitora podczas rozdrabniania surowca w obu przypadkach spowodował znaczący wzrost jasności badanych produktów z nieznacznym wzrostem udziału barwy żółtej ($+b^*$) i obniżeniem wartości parametru a^* . Świadczy to o skutecznym zahamowaniu procesu utlenienia związków polifenolowych surowca (brak odcienia brązowo-czerwonego), a tym samym zachowaniu pożądanej, atrakcyjnej jasnej barwy.

Dodatek owoców w przecierach mieszanych, w porównaniu z próbką kontrolną, spowodował istotne przesunięcie wartości badanych parametrów w kierunku barwy czerwonej (truskawka, malina, głóg), niebieskiej (aronia i czarna porzeczka) oraz żółtej (pigwowiec i rokitnik). Dodatek inhibitora także korzystnie wpłynął na barwę, przyczyniając się do poprawy poszczególnych analizowanych parametrów barwy. Nawyższą zmianę barwy zmierzono w przecierach mieszanych z dodatkiem owoców jarzębiny (wzrost b^* z 22,31 do 31,14) oraz głogu (wzrost a^* z 12,47 do 18,65).

Analizując wartości parametrów barwy po przechowywaniu przez 6 miesięcy w temperaturze 4 i 30°C w stosunku do próbek nieprzechowywanych, stwierdzono, że im wyższa temperatura, tym próbki były jaśniejsze, mniej czerwone i żółte. Dodatkowo, zmiany tych parametrów były intensywniejsze dla próbek bez dodatku inhibitora (rys. 38).



Rys. 37. Barwa przecierów pigwowych mieszanych przed i po przechowywaniu (6 miesięcy w 4 i 30°C)

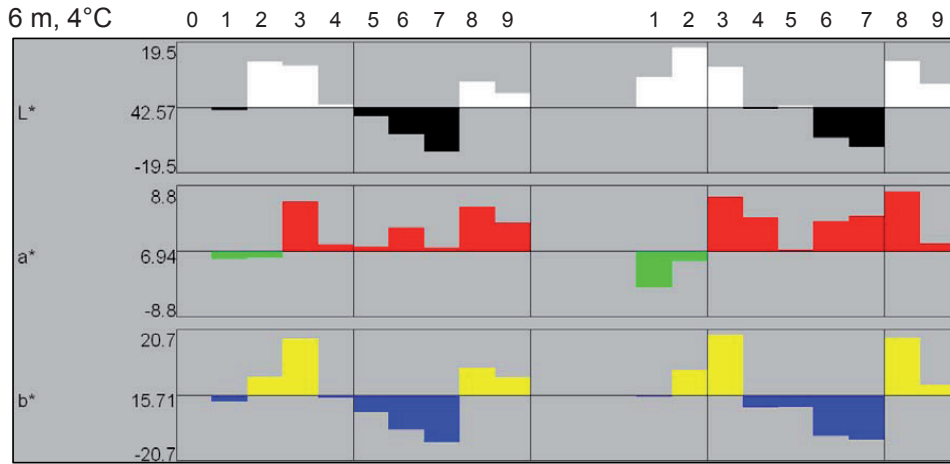
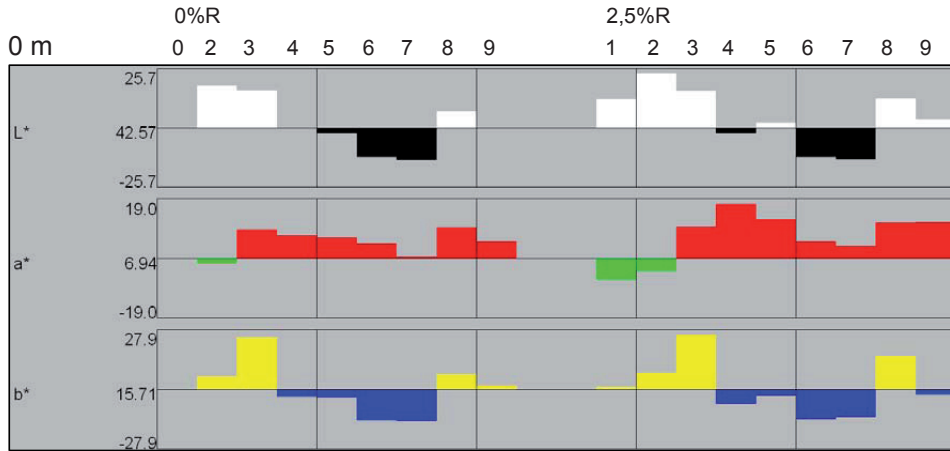
0% R – przecieri bez dodatku inhibitora; 2,5% R – przecieri z dodatkiem inhibitora

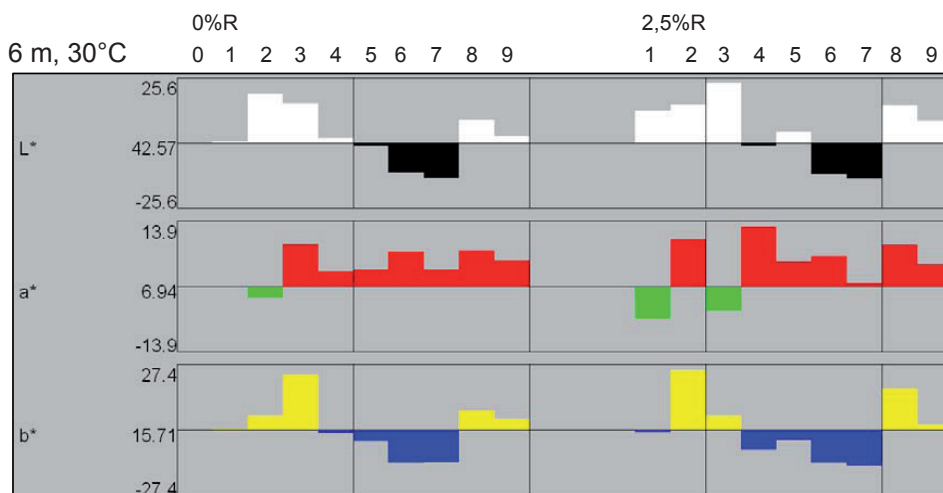
0 – przecier z pigwy przed przechowywaniem, 1 – przecier z pigwy, 2 – przecier z dodatkiem pigwowca, 3 – przecier z dodatkiem rokitnika, 4 – przecier z dodatkiem maliny, 5 – przecier z dodatkiem truskawek, 6 – przecier z dodatkiem czarnej porzeczki, 7 – przecier z dodatkiem aronii, 8 – przecier z dodatkiem jarzębiny, 9 – przecier z dodatkiem głogu

Fig. 37. The influence of fruits and inhibitor on the colour of quince puree and mixed purees before and after storage (6 months at 4 and 30°C)

0% R – purees without addition of inhibitor; 2,5% R – purees with added of inhibitor

0 – puree from quince before storage, 1 – puree from quince, 2 – puree with added flowering quince, 3 – puree with added sea buckthorn, 4 – puree with added raspberry, 5 – puree with added strawberry, 6 – puree with added black currant, 7 – puree with added chokeberry, 8 – puree with added rowanberry, 9 – puree with added hawthorn





Rys. 38. Barwa przecierów jabłkowych i mieszanych przed i po przechowywaniu (6 miesięcy w 4 i 30°C)

0% R – przecieri bez dodatku inhibitora; 2,5% R – przecieri z dodatkiem inhibitora

0 – przecier jabłkowy przed przechowywaniem, 1 – przecier jabłkowy, 2 – przecier z dodatkiem pigwowca, 3 – przecier z dodatkiem rokitnika, 4 – przecier z dodatkiem maliny, 5 – przecier z dodatkiem truskawek, 6 – przecier z dodatkiem czarnej porzeczki, 7 – przecier z dodatkiem aronii, 8 – przecier z dodatkiem jarzębiny, 9 – przecier z dodatkiem głogu

Fig. 38. The colour of apple puree and mixed purees before and after storage (6 months at 4 and 30°C)

0% R – purees without addition of inhibitor; 2,5% R – purees with added of inhibitor

0 – apple puree before storage, 1 – apple puree, 2 – puree with added flowering quince, 3 – puree with added sea buckthorn, 4 – puree with added raspberry, 5 – puree with added strawberry, 6 – puree with added black currant, 7 – puree with added chokeberry, 8 – puree with added rowanberry, 9 – puree with added hawthorn

Podstawowy skład chemiczny (ekstrakt, kwasowość ogólna) oraz lepkość przecierów pigwowych i mieszanych przedstawiono w tabeli 18. Podobnie jak we wcześniej omawianych sokach na analizowane wyróżniki chemiczne istotny wpływ miał dodatek owoców oraz inhibitora ($p < 0,05$). Ekstrakt ogólny przecieru pigwowego w porównaniu z innymi przecierami mieszany był najniższy (9,4 °Brix), przy czym dodatek inhibitora nieznacznie, chociaż istotnie statystycznie, dodatkowo obniżył tę wartość do 9,1°Brix. Najwyższą zawartość ekstraktu uzyskano w odniesieniu do przecierów mieszanych z dodatkiem owoców jarzębiny, głogu i aronii. Analogiczną zależność zaobserwowano w przypadku wyników pomiaru kwasowości ogólnej.

Tabela 18
Table 18

Skład chemiczny przecierów pigwowych i przecierów mieszanych
The chemical composition of quince puree and mixed purees

Inhibitor	Przeciery Purees	Ekstrakt [°Brix] Soluble solid	Kwasowość ogólna [g kwasu jabłkowego 100g ⁻¹] Total acidity [g of malic acid 100g ⁻¹]	Lepkość [mPa·s] Viscosity
0% R	P	9,4	0,43	764
	PIG	10,9	0,62	746
	R	11,6	1,08	205
	M	11,3	0,82	612
	T	11,5	0,63	660
	CzP	12,7	1,12	398
	A	13,6	0,67	414
	J	16,3	1,00	510
	G	15,5	0,84	383
2,5% R	P	9,1	0,44	746
	PIG	12,2	1,37	672
	R	11,7	0,62	243
	M	11,8	0,87	288
	T	11,6	0,62	380
	CzP	12,6	1,20	445
	A	13,9	0,66	410
	J	16,5	1,14	422
	G	16,1	0,90	585

a, b, c... – litery w kolumnach oznaczają grupy jednorodne przy poziomie istotności $p < 0,05$

0% R – przecieri bez dodatku inhibitora; 2,5% R – przecieri z dodatkiem inhibitora

P – pigwa, PIG – pigwowiec, R – rokitnik, M – malina, T – truskawka, CzP – czarna porzeczka, A – aronia, J – jarzębina, G – głóg

a, b, c... – the same letters in columns means homogenous groups $p < 0.05$

0% R – purees without addition of inhibitor; 2,5% R – purees with added of inhibitor

P – quince, PIG – flowering quince, R – sea buckthorn, M – raspberry, T – strawberry, CzP – black currant, A – chokeberry, J – rowanberry, G – hawthorn

Najniższą kwasowością ogólną charakteryzowały się przeciery pigwowe oraz przeciery mieszane z dodatkiem takich owoców jak aronia, truskawka i malina. Najwyższą kwasowość ogółem zmierzono w przecierach z dodatkiem owoców pigwowca (niemal 2%). Spośród badanych przecierów najwyższą wartością lepkości charakteryzował się przecier pigwowy, natomiast dodatek inhibitora obniżał tę wartość.

Badane przeciery pigwowe oraz przeciery mieszane, podobnie jak wcześniej omawiane soki, zostały poddane ocenie organoleptycznej. Oceniono barwę, smak, zapach i konsystencję przecierów. Uśrednione wartości oceny organoleptycznej przedstawiono w tabeli 19.

Przeciery, podobnie jak soki, zostały sporządzone bez dodatku cukru, przez co oceniane cechy nie były w tym względzie zmienione. Oceniany przecier pigwowy charakteryzował się jedną z wyższych ocen ogólnych. Jednakże ocena konsystencji przecieru pigwowego, obok noty uzyskanej dla przecieru mieszanego z dodatkiem owoców aronii, jarzębiny i głogu, była jedną z najniższych. Dodatek takich owoców jak czarna porzeczka, truskawka czy malina spowodował, że pozytywne doznania sensoryczne (barwa, smak, zapach, wygląd) wśród oceniających nasiliły się, przez co oceny były wyższe.

Tabela 19

Table 19

Wyniki oceny organoleptycznej przecierów pigwowych i przecierów mieszanych (wartości średnie)
The results of organoleptic examination of quince puree and mixed purees (mean values)

Przeciery Purees	Cecha Property				
	Barwa Colour	Zapach Aroma	Konsys- tencja Consistency	Smak Taste	Ocena ogólna Mean value
Pigwa – Quince	3,2	4,4	3,6	3,6	3,7
Pigwa+ Pigwowiec Quince+ flowering quince	3,7	3,7	3,9	2,8	3,5
Pigwa+ Rokitnik – Quince + sea buckthorn	4,1	3,3	4,0	2,5	3,5
Pigwa+ Malina – Quince + raspberry	4,4	4,8	4,7	4,3	4,6
Pigwa+ Truskawka – Quince + strawberry	4,1	5,0	4,1	4,8	4,5
Pigwa+ Czarna porzeczka Quince + Black currant	5,0	3,4	4,1	4,3	4,2
Pigwa+ Aronia – Quince + chokeberry	4,3	2,6	3,5	3,3	3,4
Pigwa+ Jarzębina – Quince + rowanberry	2,6	2,4	3,3	2,4	2,7
Pigwa+ Głóg – Quince + hawthorn	3,1	2,7	3,4	3,8	3,3

Najwyższą notę przy ocenie barwy uzyskały próbki przecierów mieszanych z dodatkiem czarnej porzeczki i malin (5,0 i 4,4). Najniższą notę uzyskał przecier mieszany z dodatkiem owoców jarzębiny (2,6) i głogu (3,1).

Zapach, który wspomaga nasze doznania smakowe i ukierunkowuje wrażenia sensoryczne, spowodował, że najwyższą notę uzyskały przecier mieszane z dodatkiem truskawek i malin (5,0 i 4,8). Wysoką akceptowalnością zapachu odznaczała się także próbka kontrolna – przecier pigwowy (4,4). Najwyżej oceniano smak przecierów mieszanych z dodatkiem truskawek, malin i czarnej porzeczki. Natomiast najniższe noty, związane z oceną zapachu i smaku, uzyskały przecier mieszane z dodatkiem owoców rokitnika, jarzębiny, pigwowca i aronii. W porównaniu z sokami oceny te również były niższe, przez co należy wnioskować, że negatywne wrażenie odbioru smaku zostało w tych produktach dodatkowo spotęgowane. Podsumowując, najwyżej ocenionymi przecierami były produkty mieszane z dodatkiem truskawek, czarnej porzeczki i malin.

Wyniki analizy sensorycznej przecierów jabłkowych i mieszanych przedstawiono w tabeli 20. Pierwszą cechą poddaną ocenie była barwa otrzymanych przecierów jabłkowych. W większości przypadków zmianę koloru poprzez wprowadzenie owoców o odmiennym zabarwieniu oceniający określili jako korzystną, gdyż noty były wyższe niż w odniesieniu do próbki kontrolnej, którą stanowił przecier jabłkowy. Najwyższą atrakcyjnością barwy odznaczały się przecier mieszane z dodatkiem czarnej porzeczki (5,0), aronii, a także rokitnika (4,7). Pomimo korzystnej zmiany parametrów barwy przecier mieszane z dodatkiem owoców jarzębiny (2,7) oraz głogu (3,5) wciąż pozostawały mniej atrakcyjne od innych.

Tabela 20

Table 20

Wyniki oceny organoleptycznej przecierów jabłkowych i przecierów mieszanych (wartości średnie)
The results of organoleptic examination of apple puree and mixed purées (mean values)

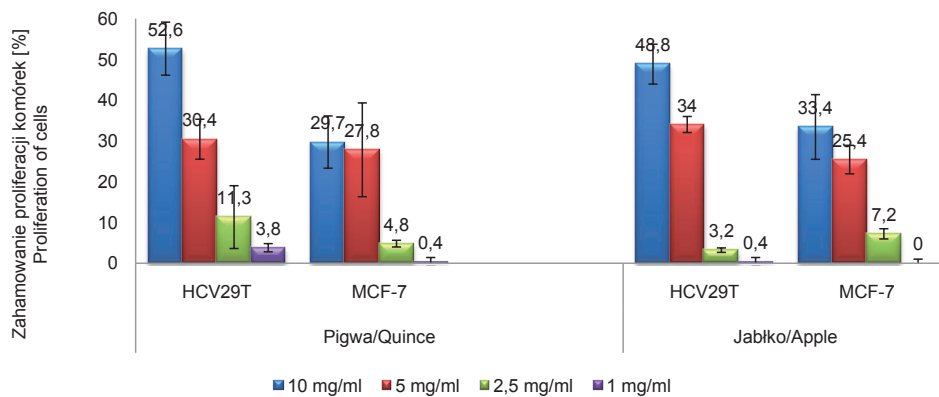
Przecier Purees	Cecha – Property				
	Barwa Colour	Smak Taste	Zapach Aroma	Konsystencja Consistency	Ocena ogólna Mean value
Jabłko – Apple	3,9	3,8	4,6	4,8	4,3
Jabłko + Pigwowiec – Apple+ Flowering quince	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Jabłko + Rokitnik – Apple + Sea buckthorn	4,7	4,3	4,1	4,7	4,5
Jabłko + Malina – Apple + Raspberry	4,3	4,6	5,0	4,5	4,6
Jabłko + Truskawka – Apple + Strawberry	4,3	5,0	5,0	4,6	4,7
Jabłko + Czarna porzeczka – Apple + Black currant	5,0	4,5	4,9	4,7	4,8
Jabłko + Aronia – Apple + Chokeberry	4,7	3,4	3,7	4,0	4,0
Jabłko + Jarzębina – Apple + Rowanberry	2,7	2,5	2,5	3,8	2,9
Jabłko + Głóg – Apple + Hawthorn	3,5	4,0	2,8	4,0	3,6

Zapach był drugą cechą poddaną ocenie organoleptycznej. Uzyskano tu znaczne zróżnicowanie ocen, gdyż najbardziej pożądanym był zapach przecierów mieszanych z dodatkiem malin i truskawek (5,0), czarnej porzeczki (4,9) oraz zapach jabłkowy przecieru bez dodatków. Zaobserwowano, iż noty te były powiązane z następną ocenianą cechą – smakiem. Wrażenia smakowe analizowanych przecierów rejestrowane były jako smak słodki, słony, kwaśny i gorzki. Ze względu na smak badanych przetworów najwyższe noty uzyskał przecier z dodatkiem owoców truskawki, maliny, czarnej porzeczki. Najniższe noty oceniający przyznali przecierom mieszanym z dodatkiem aronii i jarzębiny. W opinii oceniających produkty te kojarzyły się z nieakceptowanym smakiem cierpko-gorzkiem. Ostatnią cechą poddaną analizie sensorycznej była konsystencja, czynnik ten okazał się najbardziej różnicujący przecieiry pigwowe i jabłkowe. W porównaniu z przecierami z pigwy konsystencja otrzymanych przecierów jabłkowych i jabłkowych przecierów mieszanych była bardziej akceptowalna, przez co produkty te uzyskały wyższe noty. Różnica ta przedłożyła się także na noty pozostałych próbek, chociaż hierarchia akceptowalności przecierów z dodatkami pozostała w przypadku badanych przecierów mieszanych (pigwowych i jabłkowych) podobna.

4.3. Aktywność przeciwnowotworowa owoców pigwy pospolitej i jabłek

Celem niniejszej części pracy było zbadanie aktywności przeciwnowotworowej preparatów polifenolowych uzyskanych z owoców pigwy w stosunku do komórek nowotworowych. Do analizy aktywności biologicznej owoców pigwy i jabłek wybrano dwa typy nowotworów najczęściej spotykanych u kobiet (MCF-7) i u mężczyzn (HCV29T). Linia HCV29T to odpowiednik ludzkiego nowotworu pęcherza moczowego, natomiast linia MCF-7 to odpowiednik ludzkiego nowotworu gruczołu piersiowego. Procent zahamowania proliferacji komórek nowotworowych wyznaczono w zależności od stężenia preparatów (1; 2,5; 5; 10 mgml⁻¹) uzyskanych z owoców pigwy i jabłek w stosunku do próbki kontrolnej. Otrzymane wyniki zaprezentowano na rysunku 39.

Analizując powyższe dane, zaobserwowano, że wraz ze wzrostem dawki badanych preparatów polifenolowych z owoców pigwy i jabłek następował istotny wzrost zahamowania proliferacji badanych komórek nowotworowych. Komórki ludzkiego nowotworu pęcherza moczowego (HCV29T) były wrażliwsze na antyproliferacyjne działanie badanych preparatów niż komórki nowotworowe ludzkiego gruczołu piersiowego (MCF-7). Najwyższy procent zahamowania proliferacji komórek HCV29T wyniósł 52,6% przy badanej dawce 10 mgml⁻¹, co w stosunku do dawki 5; 2,5 i 1 mgml⁻¹ było wyższe o 22,2; 41,3 i 48,8%. Analogicznie w przypadku preparatu z jabłek najwyższy procent zahamowania proliferacji tych komórek wyniósł 48,8%, a najniższy 0,4%. Komórki linii MCF-7 były mniej wrażliwe na antyproliferacyjne działanie badanych preparatów polifenolowych z owoców pigwy i jabłek. Maksymalne zahamowanie proliferacji tych komórek wynosiło 29,7% w odniesieniu do preparatu z pigwy i 33,4% w przypadku preparatu z jabłek. Ponadto zaobserwowano, że procent zahamowania proliferacji pomiędzy badanym stężeniem 10 i 5 mgml⁻¹ w przypadku komórek MCF-7, niezależnie od typu preparatu, był nieznaczny.



Rys. 39. Wpływ ekstraktu polifenolowego z owoców pigwy i jabłek na zahamowanie proliferacji linii ludzkiego nowotworu pęcherza moczowego (HCV29T) oraz linii ludzkiego nowotworu gruczołu piersiowego (MCF-7)

Fig. 39. The influence of quince and apple polyphenol extract on inhibiting the proliferation of human bladder carcinoma line (HCV29T) and human breast cancer line (MCF-7)

5. Dyskusja nad wynikami

5.1. Skład chemiczny owoców pigwy pospolitej

W ramach prowadzonych badań ustalono istotne różnice jakościowe i ilościowe w zawartości **związków polifenolowych w owocach pigwy i jabłek**. Na podstawie przeprowadzonych analiz jakościowych i ilościowych stwierdzono, że związki polifenolowe owoców pigwy pospolitej są reprezentowane przez 3 klasy polifenoli: kwasy fenolowe, flawonole oraz flawanole. W porównaniu z jabłkami nie występują w tych owocach związki z grupy antocyjanów i dihydrochalconów.

Dominującymi związkami w owocach pigwy pospolitej były flawanole > kwasy fenolowe > flawonole. Kwasy fenolowe reprezentowane były przez pochodne kwasu chlorogenowego (kwas neochlorogenowy > chlorogenowy > 3,5-dichlorogenowy ≥ kryptochlorogenowy) oraz kwas *p*-kumarowy. Owoce jabłoni w odróżnieniu od owoców pigwy charakteryzowały się uboższym profilem tych związków. W jabłkach występuje głównie kwas chlorogenowy i *p*-kumarowy oraz śladowe ilości kwasu kryptochlorogenowego. Kolejną istotną różnicą w składzie owoców pigwy w odniesieniu do owoców jabłoni była zawartość związków z grupy flawonoli. W owocach pigwy występowały pochodne kemferolu i kwercetyny, natomiast w jabłkach były to tylko pochodne kwercetyny. Profil pochodnych flawonoli w owocach pigwy (rutynozyd, galaktozyd, glukozyd) był uboższy niż w jabłkach (rutynozyd, galaktozyd, glukozyd, arabinozyd, ksylozyd i ramnozyd).

W wyniku przeprowadzonych analiz chromatograficznych zidentyfikowano obecność monomerów (+)-katechiny i (-)-epikatechiny oraz po zastosowaniu metody florogluclinolizy stwierdzono obecność wysokopolimeryzowanych procyanidyn. Metoda ta wskazała, że w owocach pigwy dominowały pochodne (-)-epikatechinoflorogluclinolu nad (+)-katechinoflorogluclinolem. Ponadto, zawartość pochodnych (-)-epikatechiny była kilkakrotnie wyższa niż w jabłkach. Natomiast w odróżnieniu od owoców pigwy owoce jabłoni charakteryzowały się wyższą zawartością monomerów procyanidyn, tj. (+)-katechiny oraz (-)-epikatechiny niż ich form spolimeryzowanych.

Oznaczenie dimerów i trimerów procyanidyn bezpośrednio w owocach pigwy nie było możliwe ze względu na wysoki stopień polimeryzacji i obecność substancji towarzyszących, toteż sporządzono preparat, który poddano frakcjonowaniu. Stosując chromatografię kolumnową z wypełnieniem Toykopearl HW-40S, dokonano rozdziału na poszczególne frakcje związków polifenolowych. Jako eluent stosowano alkohol metylowy.

Alkohol ten jest polecany przez innych autorów ze względu na możliwość wymywania z kolumny monomerów i oligomerów oraz na ich wysoką czystość i wydajność [Appeldoorn i wsp. 2009, Renard i wsp. 2001].

We frakcjonowanym preparacie polifenolowym potwierdzono nie tylko obecność monomerów i dimerów (+)-katechiny oraz (-)-epikatechiny, ale także zidentyfikowano polimery procyanidyn. Obecność (+)-katechiny i (-)-epikatechiny wykazano we wcześniejszych badaniach z użyciem tej techniki identyfikacyjnej przez Fattouch i wsp. [2007], natomiast brak było informacji związanych z zawartością polimerów procyanidyn. Przeprowadzone analizy pozwoliły na stwierdzenie obecności dimerów, tetramerów i pentamerów procyanidyn, w których dominowały pochodne (-)-epikatechiny. W większości publikowanych prac związki te są pomijane z powodu trudności metodycznych związanych z ich oznaczaniem.

W owocach pigwy zidentyfikowano dwa dimery, procyanidynę B1 [(-)-epikatechina-(4 β →8)-(+)-katechina] i procyanidynę B2 [(-)-epikatechina-(4 β →8)-(-)-epikatechina]. Potwierdzeniem obecności tych związków był rozpad cząsteczki na fragment m/z 289, w wyniku rozczepienia wiązań międzyflawonoidowych, zgodnie z mechanizmem *quinone-methide* [QM] zaprezentowanym przez Karchesy i wsp. [1989]. W mechanizmie tym zachodzi fragmentacja struktury polimerów na poszczególne jednostki, tj. monomery i dimery. Mechanizm ten wyklucza cięcie i odłączanie pierścienia z jedną grupą OH, cząsteczki wody, co zachodzi zgodnie z mechanizmem *retro-Diels-Alder* (RDA) albo odcięcie pierścienia A z trzema grupami hydroksylowymi lub wolnej grupy -OH przy pierścieniu B (mechanizm *heterocyclic ring fission* (HRF)) [Gu i wsp. 2003]. Rozpad cząsteczki zgodnie z mechanizmem HFR związany jest niemalże wyłącznie z rozpadem procyanidyn typu A niż B [Appeldoorn i wsp. 2009]. Brak wartości masy cząsteczkowej (m/z) procyanidyny typu A wskazuje, iż owoce pigwy nie posiadają tego typu związków. Związki frakcji 6 (F6) charakteryzowały się wysoką masą cząsteczkową [M-H] z m/z 867 oraz m/z 1156 i 1442, co odpowiadało trzem i więcej jednostkom podstawowym monomerów (+)-katechiny lub (-)-epikatechiny. W porównaniu z danymi literaturowymi związanymi z identyfikacją prowadzoną dla jabłek [Shojio i wsp. 2009] oraz widmem należy przypuszczać, iż związek o masie cząsteczkowej m/z 867 to procyanidyna C1 [(-)-epikatechina-(4 β →8)-(-)-epikatechina-(4 β →8)-(-)-epikatechina]. Natomiast tetramer może mieć następującą strukturę: (-)-epikatechina-(4 β →8)-(-)-epikatechina-(4 β →8)-(-)-epikatechina-(4 β →8)-(-)-epikatechina. Na obecność cząsteczek (-)-epikatechiny stanowiących skład polimerów procyanidyn w owocach pigwy wskazywała także analiza wykonana metodą floroglucynolizy, którą stosuje się do ich wyznaczenia.

Przeprowadzone badania potwierdzają tendencję związaną z wyższą zawartością **związków polifenolowych w skórce niż w miąższu** prezentowaną przez Renard i wsp. [2007], Andrade i wsp. [1998]. Nie jest to tylko związane z obecnością flawonoli, które głównie zlokalizowane są w skórce owoców [McGhie i wsp. 2005].

Dominującymi związkami chemicznymi występującymi w owocach zarówno pigwy, jak i jabłek były flawanole, w tym polimery procyanidyn. Zawartość tych związków była znacząco wyższa zarówno w analizowanej skórce, jak i miąższu owoców pigwy w porównaniu z jabłkami. W przypadku jabłek zawartość oligomerów procyanidyn, według wyników opublikowanych we wcześniejszych pracach własnych [Wojdyło i wsp.

2008a] oraz innych autorów [Guyot i wsp. 2001, 2002, Vrhovsek i wsp. 2004] mieściła się w przedziale od 137,4 do 1985,0 mgkg⁻¹. Z porównania zawartości flawanoli w różnych częściach owocu wynikało, że związki te zlokalizowane były w większej mierze w miąższu owoców niż w skórce. Podobne wyniki prezentowali Pearson i wsp. [1999] oraz Gu i wsp. [2004]. Pearson i wsp. [1999] oznaczyli te związki w skórce i miąższu jabłek odmiany Red Delicious, odpowiednio 2075,6 i 352,8 mgkg⁻¹, w tym flawan-3-ole stanowiły 654,3 i 192,6 mgkg⁻¹. Według Gu i wsp. [2004] zawartość procyanidyn wynosiła od 69 do 141 mg100g⁻¹ śm (świeża masa) jabłkach i zależna była od odmiany. Ponadto, w celu porównania, autorzy ci poddali ekstrakcji jabłka całe i obrane, ustalając, że zawartość procyanidyn w jabłku całym była o 12–21% większa niż w obranym. Metodą chromatograficzną oznaczyli oni również poszczególne grupy flawan-3-oli i wykazali, że zawartość monomerów wynosiła 4,1–7,9 mg100g⁻¹, dimerów 9,4–15 mg100g⁻¹ i trimerów 5,8–9,3 mg100g⁻¹, pozostałą zawartość stanowiły oligomery.

Analizę **genów kodujących syntezę związków polifenolowych** powstających na drodze szlaku fenylpropanoidowego owoców pigwy przeprowadzono po raz pierwszy. Spośród czterech analizowanych enzymów kodujących kluczowe enzymy w szlaku biosyntezy polifenoli w owocach pigwy uczestniczą syntaza chalkonu (CHS) i reduktaza dihydroflawonolu (DFR). Brak sygnału dla enzymów izomerazy chalkonu (CHI) w owocach pigwy i glukozylotransferazy (UGT) w pigwie oraz w jabłkach związany był z nieobecnością związków z grupy dihydrochalkonów czy antocyjanów.

Syntaza chalkonu (CHS) to enzym odpowiedzialny za kondensację kumarylo-CoA z trzema cząsteczkami malonylo-CoA. CHS może katalizować także reakcję z kawoilo-CoA oraz feruilo-CoA [Andersen i Markham 2006]. Produktem reakcji katalizowanej przez CHS jest 4,2',4',6'-tetrahydroksychalkon [Tanaka i wsp. 1998, Holton i Cornish 1995]. CHS tworzy w błonie retikulum endoplazmatycznego kompleks z izomerazą chalkonu (CHI), tak więc chalkon nie opuszcza kompleksu enzymatycznego i staje się bezpośrednio substratem izomerazy chalkonu. Akumulacja chalkonów w tkankach roślinnych zdarza się sporadycznie, gdyż zazwyczaj ulegają one natychmiast przekształceniu do naringeniny w reakcji katalizowanej przez izomerazę chalkonu. Jedynie w przypadku zablokowania lub braku CHI w komórce następuje nadmierne gromadzenie się chalkonu [Holton i Cornish 1995].

Izomeraza chalkonu katalizuje stereo swoiste zamknięcie pierścienia, przekształcając chalkon do flawanonów. W przypadku nieobecności CHI chalkon może być samoczynnie przekształcany do naringeniny, aczkolwiek w wolniejszym tempie [Holton i Cornish 1995].

Stąd też można wskazać, dlaczego w owocach pigwy nie uzyskano odpowiedniego sygnału dla tego enzymu, jak to miało miejsce w przypadku jabłek. Należy sądzić, że chalkony w owocach pigwy nie powstają na drodze tej syntezy. Podobną przemianę zaobserwowano w pomidorach, gdzie dochodziło do natychmiastowej izomeryzacji chalkonów do flawanonów, które w konsekwencji były hydroksylowane w pozycji C-3 do formy dihydroflawonoli (dihydrokemferolu, a w konsekwencji do dihydrokwercetyny) [Holton i Cornish 1995].

Reduktaza dihydroflawonolu (DFR) katalizuje stereospecyficzną redukcję dihydroflawonoli do flawanów 3,4-diol (leukoantocyjanidyn) oraz do flawan-3-oli [Martens i wsp. 2002, Halbwirth i wsp. 2003, Schijlen i wsp. 2004, Kristiansen i Rohde 1991].

Bezbarwne i mało stabilne leukoantocyjanidyny są prekursorami (+)-katechiny i (-)-epikatechiny, proantocyjanidyn i antocyjanów [Harborne i wsp. 1992]. Ponadto DFR może uczestniczyć w redukcji flawanonów bezpośrednio do flawan-3-oli, co potwierdza niniejsze doświadczenie, gdyż brak pozytywnego sygnału w przypadku glukotransferazy, enzymu odpowiedzialnego za syntezę antocyjanów w obu badanych przypadkach. Jaakola i wsp. [2002] podali, że ekspresja genów odpowiedzialnych za syntezę procyjanidyn oraz antocyjanów jest już możliwa do zbadania nie tylko we wczesnym stadium rozwoju owoców, ale także w kwiatach i dojrzałych owocach. Tak więc brak sygnału dla UGT wyzolowanego z owoców RNA nie jest przypadkowy.

DFR jako enzym katalizuje redukcję dihydrokempferolu, dihydrokwercetyny, dihydromirycetyny odpowiednio do: pelargonidyny, cyjanidyny, delfinidyny. Stąd też istniałaby możliwość manipulacji szlaku w kierunku wprowadzenia antocyjanów do syntezy tych związków polifenolowych w badanych roślinach, gdyż kempferol i kwercetyna znajdowały się w owocach pigwy, a pochodne kwercetyny w jabłkach.

Jednak korzystając z metody modyfikacji genetycznej, nawet niewielka ilośćowo zmiana koncentracji niektórych bioaktywnych metabolitów może istotnie wpłynąć na wartość odżywczą i dietetyczną roślin stosowanych jako komponenty diety. Badania *in vitro* wykazały, że rośliny o podwyższonej zawartości flawonoidów są odporniejsze na stres oksydacyjny, osmotyczny, chłód, infekcję patogenną oraz promieniowanie UV [Stafford 1990, Sheahan i Cheong 1998]. Manipulacja syntezą flawonoidów umożliwia zatem uzyskanie odmian uprawnych o podwyższonych właściwościach użytkowych, odpornych na choroby i szkodniki, a także cennych dla człowieka jako źródło naturalnych antyoksydantów [Dixon 2005].

Istnieje kilka niezależnych sposobów mających na celu podwyższenie poziomu flawonoidów w roślinie. Jednym z nich jest stabilizacja istniejącej w roślinie endogennej puli flawonoidów, poprzez nadekspresję transferazy glukozydowej, enzymu odpowiedzialnego za glikozylację flawonoidów [Lorenc-Kukuła i wsp. 2004]. Innym sposobem jest podwyższenie poziomu flawonoidów poprzez nadekspresję pojedynczego lub kilku genów zaangażowanych w szlak biosyntezy flawonoidów. Manipulując pojedynczym genem szlaku biosyntezy flawonoidów, kodującym izomerazę chalkonu, w roślinach pomidora uzyskano blisko 80-krotny wzrost zawartości ogólnej puli flawonoidów [Verhoeven i wsp. 2002], w tym także uzyskano rekombinant (LA1996) zawierający petunidynę 3-(*p*-kumarylo-rutinozyd)-5-glukozyd w ilości 96 mg100g⁻¹ śm (świeżej masy) po wprowadzeniu genu odpowiedzialnego za syntezę antocyjanów (*Afi*) [Jones i wsp. 2003]. Manipulacja pojedynczym genem odniosła pożądany skutek, objawiający się wzrostem zawartości antocyjanów także w przypadku roślin ziemniaka. Na podstawie analizy wpływu nadekspresji genów kodujących kluczowe enzymy ze szlaku biosyntezy flawonoidów (CHS, CHI i DFR) na poziom syntezy tych związków oraz na właściwości antyoksydacyjne roślin ziemniaka wykazano, że kluczowym enzymem regulującym poziom flawonoidów w ziemniakach jest reduktaza dihydroflawonolu [Łukaszewicz i wsp. 2004].

Z wcześniejszych badań oceniających zmiany zachodzące w składzie chemicznym podczas **wzrostu i dojrzewania owoców pigwy** wynika, iż są w podobnym zakresie jak dla jabłek. Renard i wsp. [2007] czy Oszmiański i Wojdyło [NPC, w druku] wykazali, iż ilość kwasów hydroksycynamonowych, dihydrochalkonów i flawanoli ulegała obniżeniu w miarę wzrostu i dojrzewania owoców, podczas gdy zawartość flawanoli i antocyjanów nieznacznie zwiększała się. W owocach pigwy podczas tego okresu także nastąpiły zmiany zawartości podstawowych składników chemicznych, w tym związków polifenolowych oraz aktywności przeciwutleniającej. Tendencja tych zmian jest zgodna z wynikami prezentowanymi przez Raffo i wsp. [2004] oraz Andersson i wsp. [2008] prowadzonymi nad owocami rokitnika podczas wzrostu.

Trudno jest jednoznacznie ocenić przyczyny zmian składników owoców w czasie ich wzrostu i dojrzewania. Prawdopodobnie nie tylko intensywność syntezy składników chemicznych zachodząca w owocach, ale także czynniki zewnętrzne decydują o zakresie i kształcie tych zmian. Warunki pogodowe, nasłonecznienie, ilości opadów to jedne z głównych determinantów zewnętrznych. Ponadto zmiany te uwarunkowane są również usytuowaniem owoców na drzewie i ich nasłonecznieniem, systemem uprawy czy stopniem wykształcenia owoców. Czynniki odmianowy także warunkuje skład chemiczny owoców, co potwierdzają liczne badania [Podsędek i wsp. 2000, Łata i wsp. 2005, Łata 2007, Silva i wsp. 2005, Khanizadeh i wsp. 2007, Lee i wsp. 2003b, McGhie i wsp. 2005]. Związki polifenolowe owoców pigwy w trakcie wzrostu i dojrzewania, podobnie jak pozostałe wyróżniki składu chemicznego, podlegały intensywnym przemianom. Największe zmiany tych związków zmierzono w obrębie flawanoli, zwłaszcza polimerów procyanidyn. Flawanole nadają gorzki i cierpki smak owocom, chroniąc przed spożyciem niedojrzałych owoców przez zwierzęta i ludzi. Nieznaczny wzrost zawartości flawanoli, pochodnych kwercetyny i kemferolu, w czasie dojrzewania owoców pigwy związany był ze wzrostem i grubieniem skórki. Związki te głównie zlokalizowane są w skórce owoców i chronią ją przed skutkami działania promieni UV [Macheix i wsp. 1990]. Oliveira i wsp. [2007] w badaniach nad liśćmi owoców pigwy zwiększenie się zawartości flawanoli tłumaczyli adaptacją rośliny do warunków pogodowych związanych z wysoką temperaturą w okresie letnim podczas ich wzrostu. Jednak w badaniach tych nie określono zawartości katechin i procyanidyn. Również Silva i wsp. [2005], charakteryzując zawartość związków polifenolowych w skórce i miększu, wykazali istotne różnice nie tylko pomiędzy latami zbioru, ale również pomiędzy owocami pigwy zebranymi z różnych regionów kraju.

Renard i wsp. [2007] w swoich badaniach prezentowali pogląd, że zawartość związków polifenolowych (flawan-3-oli, dihydrochalkonów i flawanoli) w odmianach jabłek deserowych i cydrowych ulegała zmniejszeniu podczas dojrzewania owoców. Gwałtowna zmiana nastąpiła pomiędzy 35 a 100 dniem po kwitnięciu. Potwierdzają to także badania prowadzone nad wzrostem jabłek przez Takos i wsp. [2006] oraz Jiang i wsp. [2006].

Zmieniająca się zawartość związków polifenolowych w trakcie wzrostu i dojrzewania owoców pigwy istotnie wpłynęła na aktywność przeciwutleniającą. Podobne relacje pomiędzy zawartością związków polifenolowych a aktywnością przeciwutleniającą wykazano we wcześniejszych badaniach prowadzonych przez Oszmiańskiego i Wojdyło

[NPC, w druku]. Analogiczną tendencję uzyskali w swoich badaniach Wang i Lin [2000], którzy określili zmiany w pojemności przeciwutleniającej owoców jagodowych (truskawek i jeżyn) ze wskazaniem, że wyższą aktywnością charakteryzowały się owoce niedojrzałe niż owoce będące w trakcie dojrzewania, lecz porównywalną do owoców dojrziałych. Zależność ta wynikała z gromadzenia się w owocach dojrziałych antocyjanów, które istotnie zaważyły na aktywności przeciwutleniającej.

W Polsce hodowla pigwy jako surowca do przetwórstwa nigdy nie miała większego znaczenia. Gatunek ten był jedynie wykorzystywany jako podkładka skarłająca pod inne drzewa owocowe (głównie z rodziny różowatych) bądź uprawiany amatorsko ze względu na piękne kwiaty i aromatyczne owoce. Obecnie w szkółkach drzewka pigwy są określane jako odmiany jabłkowe lub gruszkowe (podział ze względu na kształt owoców), brak jest drzew **pigwy odmianowej**. Niemniej jednak na świecie spotyka się kilka typowych odmian przeznaczonych do uprawy, takie jak węgierska 'Bereczki', serbskie 'Vranja' i 'Leskovač' oraz angielskie 'Champion' i 'Rea's Mammoth'. Polscy hodowcy pod kierownictwem prof. A. Rejmana z SGGW również wyhodowali pigwę z nasion pochodzących z Mołdawii o nazwie 'Ursynowska'. W ostatnich latach pojawiły się też opisywane jako bardzo wczesne odmiany, ukraińskie, takie jak 'Studentka', 'Darukon Onuku' i 'Uspiech', czy kilka odmian tureckich: 'Konstantynopol', 'Cicek dagi', 'Cubuk', 'Ekmeç', 'Esme', 'Kalecik', 'Kirli', 'Yerkoy'.

Prezentowane wyniki badań wskazują, iż to odmiana jest czynnikiem istotnie wpływającym na skład chemiczny, w tym zawartość związków biologicznie aktywnych owoców pigwy. Niewiele jest prac związanych z analizą składu chemicznego różnych odmian owoców pigwy. W porównaniu do nielicznych danych literaturowych opisujących skład chemiczny owoców pigwy wynika, że w stosunku do badanych w ramach niniejszej pracy ich odpowiedników odmiany pochodzące z byłej Jugosławii: 'Vranja' i 'Leskovač' charakteryzowały się wyższą zawartością suchej masy i kwasowością ogólną, a niższym ekstraktem. Również odmiany tureckie cechowały się wyższym ekstraktem (9,95–17,8 °Brix), przy podobnej kwasowości ogólnej (5,6 g kwasu jabłkowego 100g⁻¹) w porównaniu z badanymi odmianami. Rodriguez-Guisado i wsp. [2010] badali skład chemiczny pięciu hiszpańskich klonów pigwy na przestrzeni lat (2004–2006). Badane owoce charakteryzowały się wysoką zawartością suchej masy (21,54–26,89%), wyrównanym ekstraktem (11,57–14,70%) oraz kwasowością ogólną (4,71–7,95 g kwasu jabłkowego 100g⁻¹). Liczne prace badawcze dotyczące owoców pigwy prowadzono w ostatnich latach w Portugalii [Silva i wsp. 2002a, b, 2000]. Jednakże jako materiał badawczy wykorzystano owoce o nieznanym odmianie, posługując się w opisie tylko określeniem związanym z krajem pochodzenia.

Pigwa jako przedstawiciel różowatych pochodzi z tej samej rodziny co jabłoni, dlatego porównano skład chemiczny jej owoców do jabłek. Zawartość badanych składników w owocach różnych odmian pigwy była podobna, z wyjątkiem kwasu askorbinowego, którego niektóre odmiany jabłek zawierają więcej niż owoce pigwy [Podsędek i wsp. 2000, Łata i wsp. 2005, Łata 2007]. Silva i wsp. [2002a, b, 2000] podają, że owoce pigwy nie są zasobne w kwas askorbinowy, a maksymalna oznaczona zawartość tego składnika wynosiła 15 mg100g⁻¹. Jest to zgodne z danymi prezentowanymi w niniejszej pracy.

Karadeniz i wsp. [2005] donoszą, że zawartość polifenoli ogółem dla różnych odmian pigwy wyhodowanej w Turcji wynosiła od 282,3 do 430,6 mg100g⁻¹, natomiast Fatouch i wsp. [2007] w owocach pigwy z rejonów Tunezji oznaczyli zawartość polifenoli na poziomie 173,62 mg100g⁻¹. Wartości te są odmienne niż prezentowane w niniejszej pracy. Różnice te wynikają ze specyfiki metod, jakie zostały wykorzystane do wykonania tych analiz. W pierwszym przypadku analizę wykonano z użyciem spektrofotometru, stosując metodę Folina-Ciocalteu, natomiast w drugim przypadku, wykorzystując chromatografię cieczową, nie podjęto się oznaczenia jednej z głównych frakcji polifenolowej tych owoców, monomerów i dimerów flawan-3-oli, w tym także polimerów procyjanidyn. Po uwzględnieniu tych różnic zawartość związków polifenolowych w badanych odmianach była podobna do ilości podanych przez wymienionych autorów. Rozpatrując poszczególne klasy związków polifenolowych w owocach badanych odmian, stwierdzono, iż dominowały polimery procyjanidyn, które łącznie z monomerami i dimerami flawanoli stanowiły 52% ogólnej ilości związków polifenolowych, następnie kwasy fenolowe (43%) oraz flawonole (5%). Zawartość polimerów procyjanidyn była zróżnicowana wśród badanych odmian, wahała się od 233,45 do 709,03 mg100g⁻¹ owoców. Cierpki i gorzkawy smak owoców pigwy, którym się charakteryzują, związany jest z wysoką zawartością monomerów i polimerów procyjanidyn. Dlatego też owoce te zazwyczaj nie są spożywane na surowo, lecz po przetworzeniu [Silva i wsp. 2002b, 2005, 2006].

Wcześniejsze badania prowadzone nad składem związków polifenolowych różnych odmian jabłek (69 odmian) potwierdziły, że to odmiana jest głównym czynnikiem determinującym zawartość związków polifenolowych tych owoców [Wojdyło i wsp. 2008b]. W przypadku jabłek niezależnie od odmiany, podobnie jak dla owoców pigwy, występuje prawidłowość związana z zawartością tych związków, dominują flawanole (monomery, dimery i polimery procyjanidyn) > kwasy fenolowe > dihydrochalkony > flawonole ≥ antocyjany. W badaniach tych również zwrócono uwagę na odpowiednie dobieranie odmian do krzyżowania, gdyż nowe odmiany, które powstały na bazie starych odmian niejednokrotnie zawierały 2–3 razy więcej związków polifenolowych niż formy wyjściowe, przy czym zdarzały się przypadki odwrotne. We wszystkich odmianach owoców pigwy wystąpiły podobne zależności w zawartości poszczególnych grup związków, tj. kolejno flawanole (monomery, dimery i polimery procyjanidyn) > kwasy fenolowe > flawonole. W badanych odmianach nie stwierdzono związków z grupy dihydrochalkonów i antocyjanów, co wskazuje na typowy, odmienny układ polifenoli dla owoców pigwy i jabłek.

Związki polifenolowe owoców są substratami wielu **enzymów z grupy oksydo-reduktaz, w tym polifenolooksydazy (PPO)** uczestniczących w procesie utleniania. PPO (PPO; EC 1.14.18.1) jest enzymem, który w obecności tlenu katalizuje proces utleniania monofenoli do *o*-difenoli i utlenianie *o*-difenoli do odpowiednich *o*-chinonów, a następnie do brunatnych melanin, co w konsekwencji objawia się niepożądaną zmianą barwy tkanek roślinnych (brązową, czarną lub czerwoną) [Mayer i Harel 1979, Robards i wsp. 1999, Gonzalez i wsp. 1999]. Powstałe chinony w trakcie utleniania są odpowiedzialne za reakcje polimeryzacji i kondensacji białek z polifenolami, przez co również następuje niepożądana zmiana barwy. Owoce pigwy okazały się podatne na reakcje utleniania enzymatycznego, co obserwowano w czasie ich rozdrabniania. Badania wykazały,

że aktywność polifenolooksydazy sukcesywnie malała w trakcie wzrostu i dojrzewania owoców pigwy (3,11–0,38 $\Delta U \text{ gmin}^{-1}$). Również badane odmiany charakteryzowały się różną aktywnością polifenolooksydazy. Otrzymane wyniki porównano z dwiema odmianami jabłek: ‘Szara Reneta’ i ‘Szampion’. ‘Szara Reneta’ jest odmianą o wysokiej aktywności PPO, w przeciwieństwie do odmiany ‘Szampion’, która cechuje się niską aktywnością PPO. Oznaczona aktywność dla ‘Szarej Renety’ wynosiła 2,52 $\Delta U \text{ gmin}^{-1}$, podczas gdy dla odmiany ‘Szampion’ 0,31 $\Delta U \text{ gmin}^{-1}$. Aktywność polifenolooksydazy zmierzona dla odmiany ‘Szampion’ była niska, przez co odmiana ta jest ceniona i wykorzystywana w przetwórstwie. Korzyści związane z jej wykorzystaniem wykazano w pracach Oszmiański i Wojdyło [2006a, 2008b]. Natomiast badane owoce pigwy charakteryzowały się wysoką aktywnością PPO, podobną do jabłek odmiany ‘Szara Reneta’. Amiot i wsp. [1992] oraz Lea [1992] podają, że wysoka aktywność polifenolooksydazy uwarunkowana jest obecnością kwasu chlorogenowego oraz związkami z grupy flawan-3-oli. Natomiast flawonole czy dihydrochalkony w niewielkim stopniu podlegają tej reakcji. Uzyskane wyniki potwierdzają, iż to (-)-epikatechina oraz kwas chlorogenowy są głównymi substratami reakcji enzymatycznego brązowienia. Wskazują na to wysokie współczynniki korelacji pomiędzy oznaczoną zawartością poszczególnych związków polifenolowych a aktywnością polifenolooksydazy. Zależność tę wykazali wcześniej także Cheng i Cristo [1995], Jiang i wsp. [1995], Gonzalez i wsp. [1999], Cabanes i wsp. [2007]. Dodatkowo znana jest funkcja enzymu PPO jako mechanizmu obronnego w świecie roślin przed uszkodzeniem tkanek i atakiem patogenów [Cheng i Cristo 1995], gdyż związki polifenolowe po utlenieniu i polimeryzacji stanowią barierę ochronną owoców. Takie zjawisko nasilone występuje w niedojrzałych owocach pigwy. Natomiast wyznaczenie aktywności polifenolooksydazy jest istotne ze względu na określenie przydatności owoców do przetwórstwa. Przemysł poszukuje odmian o niskiej aktywności PPO ze względu na obróbkę technologiczną, związaną z rozdrabnianiem owoców, podczas której następuje rozerwanie tkanki. Uwolnione związki polifenolowe z komórki w obecności tlenu ulegają utlenieniu. Dlatego poszukuje się owoców charakteryzujących się niską aktywnością PPO [Podsędek i wsp. 2000]. W przypadku owoców o wysokiej aktywności enzymów utleniających i znaczącej zawartości substratów reakcji należy pamiętać o dobraniu i zastosowaniu substancji zapobiegającej tym zmianom.

5.2. Wartość technologiczna owoców pigwy pospolitej

Owoce pigwy to cenne źródło związków bioaktywnych. Potwierdzają to zarówno zaprezentowane tutaj badania, jak i badania Silva i wsp. [2000, 2004, 2006]. Owoce te stanowią bogate źródło związków polifenolowych, w tym polimerów procyjanidyn, kwasów hydroksycynamonowych oraz flawonoli. Dlatego warto wykorzystać ten surowiec do przygotowania produktów odżywczych, które łączyłyby w sobie wysokie walory prozdrowotne i sensoryczne. Operacje i procesy przetwórcze, które niestety znacząco obniżają wartość żywienia, skłaniają do poszukiwania surowców pozwalających na uzyskanie naturalnych produktów atrakcyjnych sensorycznie i żywieniowo. Wydaje się,

że cel ten mógłby zostać osiągnięty poprzez wykorzystanie owoców pigwy do produkcji soków i przecierów. Dodatkowo, opracowanie produktów mieszanych przyczyniłoby się do uatrakcyjnienia i poszerzenia dostępnego asortymentu sektora owocowo-warzywnego. Jednakże aby tego dokonać, należy wcześniej dokładnie poznać skład chemiczny i dobrać operacje technologiczne celem otrzymania produktów o wysokiej wartości prozdrowotnej.

Wadą owoców pigwy jest ich duża podatność na reakcje ciemnienia enzymatycznego [Orenes-Pinero i wsp. 2006]. Przyczyną tego zjawiska są związki polifenolowe podatne na reakcje utleniania (fenolokwasy i katechiny) oraz wysoka aktywność enzymu PPO. Pierwszym etapem rozwiązania problemu przydatności owoców pigwy do produkcji soków i przecierów było dobranie **efektywnego inhibitora enzymatycznych przemian utleniających**. Ze względu na odmienne surowce i różnice związane z aktywnością enzymów utleniających, w tym obecności i aktywności polifenoloksydazy oraz zawartości związków polifenolowych do badań, wybrano dwa odmienne inhibitory. Jako inhibitory porównano przydatność kwasu askorbinowego i naturalnego inhibitora PPO – soku z rabarbaru, w technologii produkcji przecierów.

Dodatek kwasu askorbinowego może pełnić także funkcję czynnika wzbogacającego produkt w witaminę C. Organizm ludzki nie syntetyzuje witaminy C, w związku z tym korzystne jest znalezienie inhibitora, który pozwalałby na zachowanie tego składnika w produktach [Bluck i wsp. 2005]. Podczas rozdrobnienia tkanki owoców następuje intensywne natlenienie miazgi, uwolnienie zawartości komórki roślinnej, w tym także enzymów odpowiedzialnych za przemiany utleniające. Zmiana barwy jest szczególnie niekorzystna w produkcji przecierów czy soków mętnych. Ponadto przeprowadzone badania wskazują, iż istotne jest natychmiastowe przeciwdziałanie procesowi utleniania enzymatycznego, gdyż podczas dalszego przetrzymywania miazgi dynamika zmian nie jest tak nasiloną. Podobną zależność wykazali w swoich badaniach Gasik i Horubała [1990] oraz Biegańska-Marecik i Czapski [2003]. Autorzy ci obserwowali dynamiczną zmianę barwy związaną z ciemnieniem miazgi tylko w początkowym okresie po rozdrobnieniu jabłek.

Zastosowany dodatek inhibitora podczas rozdrabniania przyczynił się do istotnego zahamowania procesu zarówno utleniania wywołanego przemianami enzymatycznymi związków polifenolowych, jak i zmiany barwy (jasności) przecierów. Stwierdzono także istotny wpływ nie tylko dawki i rodzaju inhibitora, ale również surowca, z którego przygotowano przeciery. W przypadku przecierów z owoców pigwy dodatek inhibitora w postaci soku z rabarbaru był korzystniejszy niż dodatek kwasu askorbinowego. Odwrotną zależność wykazano w odniesieniu do jabłek jako surowca do produkcji przecierów. Efektywność soku z rabarbaru oraz kwasu askorbinowego jako inhibitorów porównywano we wcześniejszych pracach prowadzonych przez Oszmiańskiego i wsp. [1995b], Rababaha i wsp. [2005], Kopera i Mitek [2006] oraz Oszmiańskiego i Wojdyło [2008a, b].

Kolejnym zagadnieniem rozpatrywanym w związku z doбором inhibitora przemian utleniających podczas przygotowywania produktów z owoców pigwy i jabłek było wyznaczenie wpływu rodzaju inhibitora na zachowanie związków biologicznie aktywnych. Przygotowane przeciery z owoców pigwy charakteryzowały się proporcjonalnie

wyższą zawartością związków polifenolowych niż przeciery sporządzone z jabłek. Dodatkowo, jak wskazują uzyskane wyniki, różnice te były kształtowane poprzez rodzaj i dawkę inhibitora przemian enzymatycznych (rys. 15). Ze względu na zawartość związków polifenolowych korzystniejsze okazało się zastosowanie w produkcji przecierów z owoców pigwy inhibitora w postaci soku z rabarbaru niż kwasu askorbinowego, odwrotnie niż dla jabłek.

Stwierdzono, że poprzez zastosowanie inhibitorów w próbkach przecierów wzrosła zawartość flawanoli, w tym polimerów procyanidyn i kwasów fenolowych, przy czym wzrost zawartości dihydrochalkonów (dla jabłek) i flawonoli był nieznaczny. Potwierdza to fakt, że związki z grupy flawonoli i dihydrochalkonów były mniej podatne na proces utleniania enzymatycznego. Efektywność soku z rabarbaru jako inhibitora przemian utleniających związki polifenolowe wykazano już we wcześniejszych badaniach prowadzonych przez Oszmiańskiego i wsp. [1995b], Sona i wsp. [2000 a, b], Oszmiańskiego i Wojdyło [2008]. Badania prowadzone przez Oszmiańskiego i Wojdyło [2008] nad stabilnością związków polifenolowych przecierów jabłkowych dowodzą o efektywności soku z rabarbaru jako inhibitora przemian utleniających, gdzie surowcem były owoce charakteryzujące się wysoką aktywnością PPO. Przeciery sporządzone z jabłek odmiany Idared z 5% dodatkiem inhibitora w postaci soku z rabarbaru cechowały się istotnym zachowaniem polimerów procyanidyn i innych polifenoli nie tylko w stosunku do próbki kontrolnej (o 85% więcej), ale i do przecierów sporządzonych z odmiany Szampion. Efekt ten wynika z wyższej aktywności PPO w jabłkach odmiany Idared niż Szampion [Podsędek i wsp. 2000], dlatego też odmiana ta w przetwórstwie wymaga zastosowania aktywnego inhibitora przemian utleniających. Kwas szczawiowy zawarty w rabarbarze inaktywuje enzymy utleniające i minimalizuje proces utleniania polifenoli [Son i wsp. 2000b]. Efektywne działanie kwasu szczawiowego jako inhibitora PPO jest oparte na wiązaniu jonów Cu^{2+} i tworzeniu nieaktywnego kompleksu, przez co tworzenie katecholu i chinonów jest hamowane. Natomiast kwas askorbinowy pełni funkcję czynnika redukującego produkty utleniania chinonów, co ogranicza powstanie niekorzystnych zmian barwy. Analizując otrzymane wyniki, należy stwierdzić, że redukcja chinonów w miążdże owoców pigwy przez kwas askorbinowy była niewystarczająca, czego efektem było częściowe utlenianie związków polifenolowych. Korzystniejszy był mechanizm związany z tworzeniem kompleksu kwasu szczawiowego z jonami Cu^{2+} enzymu polifenolooksydazy. Wskazują na to także badania prowadzone przez Sona i wsp. [2000b], gdzie polifenole jabłek z 1% dodatkiem kwasu askorbinowego sukcesywnie ulegały utlenianiu w przeciwieństwie do próbek z dodatkiem kwasu szczawiowego. Natomiast dodatek kwasu szczawiowego w dawce 0,05% był efektywnym inhibitorem procesów utleniających. Ze względu na szkodliwe działanie kwasu szczawiowego, w czystej formie nie jest on dopuszczony jako dodatek do żywności. Natomiast fakt, iż występuje w niektórych owocach (pomarańcze) oraz warzywach (rabarbar), dowodzi, iż może być on spożywany w formie naturalnej. Dodatkowo, aktywność inhibicyjna kwasu szczawiowego może być wzmocniona przez obniżenie pH soku [Guyot i wsp., 1995] kwasem cytrynowym czy kwasem askorbinowym.

W pracy wykazano także korzyści płynące z zastosowania inhibitora jako soku z rabarbaru podczas przechowywania badanych produktów. Po 6-miesięcznym okresie przechowywania związki polifenolowe, w tym flawanole odznaczały się wyższą

stabilnością w przecierach z dodatkiem soku z rabarbaru niż kwasu askorbinowego. Podobne wyniki w tym zakresie uzyskali Oszmiański i Wojdyło [2007] oraz Oszmiański i wsp. [2008a].

Korzystny efekt ochronny soku z rabarbaru wykazano także w stosunku do kwasu askorbinowego występującego natywnie w surowcu, z którego sporządzono produkty oraz zmierzono wyższą aktywność przeciwutleniającą. Według Rice-Evans i wsp. [1996] różnice w aktywności przeciwutleniającej owoców zależą od zawartości i typu kwasów fenolowych oraz flawonoidów i ich specyficznej budowy, w tym obecności grup hydroksylowych w pierścieniach. Dlatego też wyższa zawartość związków polifenolowych w próbkach z dodatkiem inhibitora, a tym samym zachowalność tych związków, w tym polimerów procyanidyn, była istotnie skorelowana z wysoką aktywnością przeciwutleniającą tych próbek. Zależność tę potwierdzili także w doświadczeniach Oszmiański i wsp. [2008b] oraz Oszmiański i Wojdyło [2008a]. Ich badania wykazały, że aktywność przeciwutleniająca próbek z dodatkiem inhibitora w postaci soku z rabarbaru była istotnie wyższa w porównaniu z próbkami kontrolnymi. Dodatkowo, zastosowana w badaniach metoda EPR [Oszmiański i wsp. 2008b] potwierdziła, że wysoką zdolność do wygaszania wolnych rodników posiadały polimery procyanidyn i pozostałe związki z grupy flawanoli oraz kwas chlorogenowy.

Kolejnym zagadnieniem związanym z wykorzystaniem owoców pigwy w przetwórstwie był **proces produkcji soków po enzymatycznej maceracji miazgi**. Pierwszym etapem produkcji soków jest rozdrabnianie owoców na miazgę, tak by można było poddać ją obróbce enzymatycznej, a następnie tłoczeniu. Upłynnienie enzymatyczne tkanki roślinnej, prowadzone z użyciem enzymów celulolitycznych, hemicelulolitycznych czy pektynolitycznych [Veerkamp 2006, Czapski 1999] ma na celu zwiększenie wydobycia soku i wzbogacenie go w składniki, które w tradycyjnym procesie tłoczenia przechodzą do fazy ciekłej w ograniczonym stopniu lub nie przechodzą w ogóle (związki polifenolowe, związki zapachowe, produkty hydrolizy pektyn i celulozy). Dlatego podjęto badania zmierzające do poznania efektów zastosowania preparatów enzymatycznych do obróbki miazgi z owoców pigwy na wydajność soku i zawartość związków polifenolowych w otrzymanym soku. Dobór preparatów enzymatycznych do maceracji miazgi z owoców pigwy w produkcji soku nie był przedmiotem wcześniejszych badań.

O wydajności procesu decyduje wiele czynników, m.in. rodzaj surowca, a nawet odmiana owoców, aktywność enzymatyczna preparatu, wielkość dawki czy warunki technologiczne procesu [Koponen i wsp. 2008a, b]. Poprzez proces obróbki enzymatycznej miazgi z owoców pigwy uzyskano korzystny wzrost wydajności procesu tłoczenia oraz zawartości związków polifenolowych, a przez to aktywności przeciwutleniającej. W porównaniu z analogicznymi badaniami przeprowadzonymi na jabłkach przez Oszmiańskiego i wsp. [2009c] wydajność otrzymanego soku po enzymatycznej maceracji miazgi wynosiła od 68,3 do 77,0%. Wartości te nie odbiegały od wydajności wyznaczonej w niniejszych badaniach dotyczących owoców pigwy.

Jedną z najistotniejszych zmian, jakie wynikały z zastosowania enzymów, było uwolnienie związków polifenolowych związanych z komórką roślinną i ich przejście do soku. Jak wykazały wcześniejsze badania [Oszmiański i wsp. 2009c, Oszmiański i Wojdyło 2007] i badania innych autorów [Bagger-Jørgensen i Meyer 2004, Buchert i wsp.

2005, Versari i wsp. 1997], zawartość polifenoli ogółem w soku w znaczącym stopniu uwarunkowana była rodzajem preparatów enzymatycznych zastosowanych do maceracji miazgi. Najwyższy wzrost ekstraktywności tych związków w stosunku do próbki kontrolnej uzyskano po zastosowaniu enzymów: Pectinex Ultra SP-L, Pectinex XXL oraz Pectinex Smash, wynosił on 18%. Poprzez zastosowanie procesu obróbki enzymatycznej stwierdzono istotny przyrost związków polifenolowych z grupy flawanoli, w tym tym polimerów procyjanidyn.

Polimery procyjanidyn, obok kwasów fenolowych, stanowiły dominującą grupę związków polifenolowych owoców pigwy, dlatego też zwrócono szczególną uwagę na ich zawartość w otrzymanych próbkach soku. Spośród różnych klas związków polifenolowych to procyjanidyny są zasocjowane z białkami i nierozpuszczalnymi wielocząsteczkowymi polisacharydami będącymi składnikami ścian komórkowych owoców [Renard i wsp. 2001], przez co w mniejszym stopniu przechodzą do fazy płynnej, jaką jest sok. Procyjanidyny tworzą mostki łączące rozpuszczalną frakcję pektyn z nierozpuszczalną protopektyną [Le Bourvellec i wsp. 2009]. Dlatego też zastosowanie enzymów o aktywności pektynolitycznej umożliwiło uwolnienie procyjanidyn i ich przejście do soku. Znaczący wzrost zawartości polimerów procyjanidyn zaobserwowano w sokach po zastosowaniu następujących enzymów: Pectinex Ultra SP-L oraz Pectinex XXL (nawet o 40%). Analogiczne zachowanie zmierzono w uzyskanych sokach jabłkowych [Oszmiański i wsp. 2009c], jednakże wzrost ten nie był tak znaczący.

Procyjanidyny, które występują w roślinach w formie oligomerów i polimerów, charakteryzują się różnym stopniem polimeryzacji [Kahle i wsp. 2005]. Od stopnia polimeryzacji zależą właściwości prozdrowotne procyjanidyn [Dixon i wsp. 2004]. Stopień polimeryzacji (DP) otrzymanych soków wyjściowych poprzez macerację miazgi różnymi enzymami wynosił od 4,0 do 4,9. Wartości stopnia polimeryzacji wyznaczone w otrzymanych sokach z pigwy były wyższe w odniesieniu do wartości wyznaczonych w sokach z jabłek (DP 3,1-3,8) [Oszmiański i wsp. 2009c]. Stopień polimeryzacji dla jabłek odmian deserowych wynosił od 3,2 do 28,7 [Wojdyło i wsp. 2008b, Guyot i wsp. 2002] oraz od 4,2 do 50,3 w jabłkach odmian cydrowych [Sanoner i wsp. 1999]. Im wyższy stopień polimeryzacji procyjanidyn danego surowca, tym otrzymane z nich soki charakteryzowały się wyższą zawartością procyjanidyn. Ponadto przy wysokim stopniu DP zarówno surowiec, jak i jego produkty są znacznie podatniejsze na utlenianie [Guyot i wsp. 2003, Renard i wsp. 2001].

Zmiany zachodzące w sokach podczas ich przechowywania prowadzą z reguły do obniżenia wartości odżywczej i handlowej soków [Spanos i wsp. 1990, Sieliwanowicz i wsp. 2005, Kłopotek i wsp. 2005]. Z przeprowadzonych badań własnych wynikało, że podczas 6-miesięcznego przechowywania próbek badanych soków zawartość polifenoli ogółem obniżyła się o 3–16%, z czego 5–32% przypadało na monomery, dimery i trimer procyjanidyn, natomiast zawartość polimerów procyjanidyn obniżyła się o 3–11%. Prawdopodobnie proces enzymatycznej maceracji miazgi, który w dość istotny sposób zmienia skład i zawartość polisacharydów w soku, a tym samym składników z nimi związanych, pozytywnie wpłynął na stabilność polimerów procyjanidyn podczas przechowywania. Pozostałe związki polifenolowe, w tych warunkach przechowywania, także były stabilne (rys. 18). Dodatkowo, niska temperatura

przechowywania hamuje proces hydrolizy glikozydów polifenoli do niestabilnych aglikonów. Wzmożone zjawisko hydrolizy glikozydów obserwowano w mętnych sokach truskawkowych, przecierowych i klarownych, przechowywanych w 30°C [Oszmiański i Wojdyło 2009b]. Przyczyną strat zawartości monomerów (+)-katechiny i (-)-epikatechiny w czasie przechowywania soków mogły być procesy chemicznego utleniania oraz związanej z tym polimeryzacją i kondensacją utlenionych związków. Potwierdzeniem tego jest wzrost zawartości tych związków w osadzie z soków powstałych po wytrąceniu alkoholem etylowym, w którym oznaczono zawartość polimerów procyanidyn wraz ze stopniem polimeryzacji (rys. 19). Proces przechowywania, podczas którego następuje obniżenie stężenia dimerów i polimerów procyanidyn sprawił, że obserwowano wzrost zawartości monomerów flawanoli w wytrąconym osadzie o 2–33% w stosunku do ilości początkowej.

Wzrost aktywności przeciwutleniającej badanych soków poprzez wyższą ekstraktywność związków polifenolowych, ze względu na zastosowaną obróbkę enzymatyczną, ma także znaczący wpływ na ich wartości prozdrowotne. Regularne spożywanie soków stanowi element profilaktyczny i terapeutyczny w leczeniu chorób cywilizacyjnych, w tym sercowo-naczyniowych i nowotworowych, jak również hamuje procesy związane ze starzeniem się organizmu [Chun i wsp. 2005, Szponar i Sekuła 1994]. Owoce, tak samo jak i ich przetwory, obniżają ryzyko astmy, cukrzycy i otyłości [Hollman i Katan, 1997b]. Badania prowadzone przez Bitsch i wsp. [2000] dowodzą, że spożycie 700 ml mętnego soku jabłkowego zwiększyło o 52% potencjał przeciwutleniający organizmu. Natomiast Person i wsp. [1999] stwierdzili, że spożycie jabłek i otrzymane z nich soki hamują utlenianie frakcji LDL cholesterolu katalizowanego jonami miedzi. Także Hertog i Feskens [1993] wykazali, że spożywanie 110 g jabłek dziennie zmniejszyło w 49% ryzyko zawału serca u mężczyzn, w porównaniu z osobami, które spożywały ich poniżej 18 g. W przeciwieństwie do jabłek, które mogą być spożywane w postaci świeżej i przetworzonej, owoce pigwy ze względu na swoje właściwości organoleptyczne (cierpki i twardej miąższ z komórkami kamiennymi) muszą zostać poddane obróbce technologicznej celem przygotowania ich do spożycia. Stąd też produkcja soków z tych owoców może stanowić dobrą alternatywę wzbogacenia diety w substancje biologicznie czynne.

Proces maceracji miazgi istotnie ($p < 0,05$) wpłynął także na pozostałe parametry fizykochemiczne otrzymanych soków, tj. na zawartość suchej masy, ekstrakt oraz kwasowość ogólną (tab. 10). Stwierdzony wzrost tych składników jest wynikiem ich ekstrakcji do soku. Czynnikiem zwiększenia zawartości suchej masy w soku, jako efektu obróbki enzymatycznej, mogła być hydroliza wysokocząsteczkowych polimerów tworzących strukturę tkankową do związków prostszych, rozpuszczalnych lub nierozpuszczalnych, przechodzących do fazy stanowiącej sok, na co wskazują badania Siliha [1995]. Zwiększenie zawartości suchej masy może być pozytywnie postrzegane przez konsumentów, dla producenta wydaje się również korzystne, gdyż jest równoznaczne ze zmniejszeniem masy wyłoków. Wzrost ekstraktu ogólnego, w badanych sokach, wynikał z hydrolizy nierozpuszczalnej pektyny i uwolnienia cukrów na drodze działania celulaz, hemiceluloz i pektynaz [Schobinger i wsp. 1981]. Natomiast wzrost kwasowości ogólnej, w sokach, związany jest z uwolnieniem kwasu galakturonowego podczas rozkładu pektyn oraz lepszej ekstraktywności pozostałych kwasów organicznych do soku, co wykazali Will i wsp.

[2000], a także Oszmiański i Wojdyło [2007]. Kwasowość ogólna jak i pH soków odgrywa istotną rolę przy tworzeniu smaku i zapachu soków [Acar i wsp. 1999]. W badanych sokach po obróbce enzymatycznej nastąpiło obniżenie lepkości. Efekt ten powiązany był z rozkładem pektyn i protopektyn zawartych w owocach pod wpływem enzymów macerujących, przez co proces tłoczenia soku stał się łatwiejszy i efektywniejszy. Zjawisko to jest znacznie bardziej pożądane w produkcji soków klarownych niż naturalnie mętnych, gdyż etap maceracji miazgi przyczynia się do niestabilności zmętnienia oraz wytrącania się osadów. Obniżenie lepkości soku po procesie enzymacji miazgi stwierdzono także dla soków otrzymanych z jabłek, jednakże spadek lepkości dla soków jabłkowych był większy, gdyż wynosił 82–90% [Oszmiański i wsp. 2009c]. Najprawdopodobniej różnica pomiędzy lepkością soków z jabłek a pigwy wynikała z faktu, iż ściany komórkowe owoców pigwy składają się w większym stopniu z pektyn nierozpuszczalnych [Forni i Polesello 1994], a jabłek – z pektyn rozpuszczalnych.

Soki stanowią doskonałe źródło wody oraz wielu cennych składników odżywczych występujących w owocach i warzywach. Zawierają witaminy, składniki mineralne oraz przeciwutleniacze. Soki owocowe dostarczają około 25% flawonoidów spożywanych przez człowieka [Ding i wsp. 2006]. Technologia produkcji soków wpływa istotnie na zawartość związków polifenolowych, co wykazał Spanos i wsp. [1990], Oszmiański i wsp. [2007] oraz Cliff i wsp. [1991]. Procesy technologiczne takie jak: depektynizacja, klarowanie i filtracja powodują, że w soku znajduje się tylko 5–10% związków polifenolowych z ilości zawartych w surowcu [Oszmiański i Wojdyło 2006b]. Bezpowrotnie tracone są procyjanidyny, które związane ze ścianą komórkową usuwane są podczas procesu klarowania, jak również pochodne kwercetyny, które występując w skórkach owoców pozostają w wytlókach w wyniku trudności ich wydobycia z twardej części owoców w procesie tłoczenia. Dodatkowo, produkty te pozbawione są niemal całkowicie pektyn oraz witaminy C. W obliczu tych strat nowym trendem w ostatnich latach stała się produkcja **soków naturalnie mętnych**. Soki te otrzymywane bez obróbki enzymatycznej, klarowania, filtracji zawierają znacznie więcej związków bioaktywnych niż soki klarowane czy soki odtwarzane. Jednakże technologia produkcji soków mętnych ma istotne wymagania w stosunku do jakości surowca oraz parametrów procesu technologicznego. Surowiec wykorzystywany do produkcji soków naturalnie mętnych powinien charakteryzować się nie tylko najwyższą jakością, właściwym stopniem dojrzałości, ale także odpowiednią odmianą. Jednym z istotniejszych czynników decydujących o jakości tych soków związanych z walorami prozdrowotnymi i wizualnymi jest kwestia zapobiegania przemianom enzymatycznym poprzez stosowanie inhibitorów przemian oksydacyjnych, jak i szybka pasteryzacja celem inaktywacji enzymów [Özoglu i Bayindirli, 2002]. Oszmiański [2009d] zaleca przy produkcji soków mętnych stosowanie inhibitora w dwóch dawkach, podczas rozdrabniania surowca i tuż przed rozlewem do opakowań. W technologii tej pomija się etap klarowania, więc wszystkie nieprawidłowości procesu technologicznego związane z aktywnością enzymów utleniających podczas obróbki wstępnej wpływają nie tylko na degradację związków polifenolowych, ale także na zmianę barwy.

Wydajność soków mętnych podczas procesu tłoczenia zależy od wielu czynników, m.in. dojrzałości surowca, odmiany, warunków tłoczenia, zawartości pektyn [Will i wsp. 2000, Mihalev i wsp. 2004, Beveridge 2002]. Wyniki badań własnych wskazują,

iz w produkcji soków mętnych o wydajności procesu decyduje siła nacisku i czas trwania procesu tłoczenia, stopień dojrzałości owoców i ich odmiana. Końcowa wydajność podczas otrzymywania soku mętnego z pigwy i jabłek wynosiła 84 i 86%, co wskazuje na przydatność owoców pigwy także do produkcji soków mętnych. Mihalev i wsp. [2004] podczas produkcji soku mętnego z jabłek otrzymali wydajność rzędu 78%.

Ekstraktywność związków polifenolowych w otrzymywaniu soków mętnych z owoców pigwy i jabłek bez stosowania enzymacji miazgi była także wysoka. Le Bourvellec i wsp. [2007] poddali rozważaniom teoretyczną i praktyczną ekstrakcyjność związków zasocjowanych ze ścianą komórkową owoców do soków. Autorzy wykazali, że w zależności od odmiany jabłek z owoców do soku przechodziło 7–50% procyanidyn, reszta pozostawała w wytlókach. W przypadku pozostałych związków ustalono, że ekstrakcyjność kwasów fenolowych do soku wynosiła 63–79%, a dihydrochalkonów 22–39%. Natomiast Gouyot i wsp. [2003] wskazali na niewielkie, bo tylko 30% przejście flawanoli do soku, podczas gdy reszta pozostała w wytlókach. Natomiast ilość dihydrochalkonów w otrzymanym soku określili na poziomie 80%. Różnice pomiędzy tymi badaniami związane były z odmianą, ale także z warunkami jakie zastosowano podczas procesu tłoczenia, w szczególności czasu. Z badań własnych wykonanych dla jabłek z zachowaniem podobnych warunków tłoczenia w przypadku surowca świeżego do soku przeszło niemal 25%, dla surowca przechowywanego 55%, a po enzymatycznej maceracji do soku przechodziło od 47 do 68% polimerów procyanidyn [Oszmiański i wsp. 2009c]. W odniesieniu do soków pigwowych wartości te były o 10% wyższe.

Zmiany jakościowe podczas przechowywania były przede wszystkim związane z degradacją flawanoli, w tym polimerów procyanidyn, gdyż pozostałe grupy związków (kwasy fenolowe, dihydrochalkony, jabłka i flawonole) były stabilne. Znacząca niestabilność tych związków w sokach, w porównaniu z analizowanymi wcześniej przecierami wynikała z charakteru tych produktów. Flawonole i ich polimery były mniej stabilne w sokach niż w przecierach. Najprawdopodobniej wynika to z faktu, iż w sokach są one pozbawione ochronnego działania ściany komórkowej. W przecierach składniki ściany komórkowej działają w stosunku do molekuł procyanidyn na zasadzie enkapsulacji, chroniąc te związki przed degradacją. Wynika to z powiązania pektyn z polisacharydami ściany komórkowej w sieć tworzącą swoiste hydrofobowe żelowe kieszonki, w których to właśnie zamknięte są procyanidyny. Dlatego też w produktach, jakimi są soki, procyanidyny niezasocjowane ze ścianą komórkową podlegają szybciej degradacji niż w przecierach. Zwrócili na to uwagę Le Bourvellec i wsp. [2004, 2005b, 2009], Le Bourvellec i Renard [2005a]. Taka hipoteza tłumaczy nie tylko różnice w zawartości związków z grupy flawanoli pomiędzy sokami a przecierami, ale także pomiędzy sokami z jabłek i pigwy. Dlatego też należy przypuszczać, że wyższa stabilność flawanoli w otrzymanych sokach z jabłek była wynikiem wyższego zmętnienia tych soków niż soków z pigwy, które charakteryzowały się nieznacznym stopniem zmętnienia.

Analizując zawartość polimerów procyanidyn, zaobserwowano, że wraz z degradacją tych związków w trakcie przechowywania następował wzrost ich ilości w wytrąconym osadzie. Efekt ten był większy dla soków pigwowych niż jabłkowych. Prawdopodobnie wynikało to z wyższej zawartości tych związków w sokach z pigwy. Dodatkowym czynnikiem determinującym ilość oznaczonych procyanidyn w osadzie był

dodatek inhibitora utlenienia enzymatycznego. Soki sporządzone bez dodatku inhibitora charakteryzowały się niższą zawartością polimerów procyjanidyn w osadach niż ich odpowiedniki przygotowane z dodatkiem inhibitora. Należy przypuszczać, że polimery, które pozostały w tych sokach, były na tyle stabilne, że nie podlegały już dodatkowemu i dalszemu, znaczącemu wytrąceniu.

W zależności od surowca z jakiego sporządzono soki, zawartość polimerów procyjanidyn w analizowanych frakcjach osadu rozpuszczalnego i nierozpuszczalnej była odmienna. Frakcja rozpuszczalnych polisacharydów w sokach mętnych z owoców pigwy odznaczała się wyższą zawartością polimerów procyjanidyn niż frakcja nierozpuszczalna, podczas gdy dla soków jabłkowych zaobserwowano tendencję odwrotną. Le Bourvellec i wsp. [2005a] oraz Le Bourvellec i Renard [2005b] podali, że decydujące znaczenie dla obecności tych związków w sokach ma skład i budowa ściany komórkowej owoców, z którymi powiązane są flawanole. Ściany komórkowe jabłek zbudowane są z wysokometylowanych pektyn [Le Bourvellec i wsp. 2005], gdy w przypadku pigwy są to protopektyny i pektyny niskometylowane [de Escalada Pla i wsp. 2010]. Dlatego też różnice związane z typem pektyn ściany komórkowej jabłek i pigwy istotnie wpłynęły na stopień uwalniania procyjanidyn z miazgi do soku oraz ich zdolność do wytrącania podczas przechowywania. Z biologicznego punktu widzenia obecność procyjanidyn w kompleksie z polisacharydami w soku jest bardzo pożądana. Polisacharydy nie tylko chronią procyjanidyny przed degradacją, ale jednocześnie poprawiają ich absorpcję w organizmie [Ferreira i Slade 2002]. W ostatnich badaniach wykazano także, że połączenie pektyn jabłkowych i związków polifenolowych obniżało dużo bardziej poziom cholesterolu i triglicerydów we krwi niż osobne działanie poszczególnych komponentów [Hertog i wsp. 1993].

O jakości naturalnie mętnych soków stanowi także stabilność i stopień ich zmętnienia. Soki mętne charakteryzują się obecnością naturalnych zawiesin oraz substancji o charakterze koloidalnym. Zawierają one zwiększoną ilość związków pektynowych i białkowych, które posiadają właściwości stabilizowania układów koloidalnych. O stabilności zmętnienia otrzymanych soków decyduje jakość surowca. Sok otrzymany z surowca o nieodpowiednim stopniu dojrzałości charakteryzuje się zdolnością do szybkiej sedymentacji osadów. Dlatego też mętne soki muszą być przygotowywane z surowca o jak najwyższej jakości, jak i optymalnym stopniu dojrzałości. Stopień zmętnienia soków z pigwy i jabłek był odmienny, odpowiednio wynosił 562 NTU i 2240 NTU. Zdaniem Dietrich i wsp. [1996] soki mętne są stabilne, jeśli spełniają warunki zmętnienia ≥ 250 NTU i trwałości $\geq 50\%$. Choć Will i wsp. [2008] sugerują, że już 28–35% stopień stabilności zmętnienia w tych sokach jest wystarczający. Ponadto autorzy wskazują także, że stopień zmętnienia zależy od odmiany użytej do produkcji soków. Dowodzą tego również niepublikowane badania prowadzone przez Oszmiańskiego [2009e] dla soków jabłkowych, który sugeruje, że stabilność zmętnienia może wahać się od 17% (Elstar) do 47% (Gold Star).

Aktywność przeciwutleniająca pigwy i jabłek związana była przede wszystkim z zawartością składników polifenolowych. Jak podał Tsao [2007], za potencjał przeciwutleniający jabłek w około 40–50% odpowiadają związki z grupy flawanoli, zaś pozostała aktywność przypada na flawony i kwasy fenolowe. W przypadku soków mętnych

z owoców pigwy za aktywność przeciwutleniającą odpowiedzialne były polimery procyanidyn oraz kwasy fenolowe, dwie dominujące grupy fenolowe tego surowca. Dla soków mętnych sporządzonych z jabłek współczynniki te były niższe, a aktywność zależała także od zawartości flawonoli i dihydrochalkonów, co dowodzi, że związki te także brały aktywny udział w neutralizowaniu wolnych rodników w przypadku tego surowca.

Poprzez **produkcję soków i przecierów mieszanych** z innym gatunkiem owoców uzyskano produkty o podwyższonej zawartości związków biologicznie aktywnych jak i aktywności przeciwutleniającej. Produkcja przecierów i soków mieszanych z owoców pigwy nie była wcześniej rozpatrywana, także produkty mieszane z jabłek w takim układzie doświadczalnym nie były analizowane.

Sporządzone przeciery mieszane charakteryzowały się blisko 60% wyższą zawartością związków polifenolowych niż ich odpowiedniki, tj. soki mieszane. Wynika to z odmiennej technologii otrzymywania tych produktów. W trakcie wytwarzania soków po procesie tłoczenia znacząca część związków polifenolowych pozostaje w wytlókach, produkcie odpadowym. W przypadku produkcji przecierów tylko nieznaczna część stanowiła odpad w formie wytlóków i były to najczęściej części niejadalne, natomiast całość po przetarciu przechodziła do produktu końcowego. Badania Lu i Yeap Foo [1997, 2000], Schieber i wsp. [2002], Hager i wsp. [2008], Garcia i wsp. [2009] czy Zhou i wsp. [2009] dowiodły, że produkty odpadowe jakimi są wytlóki otrzymane w trakcie procesu produkcji soków, stanowią cenny surowiec do produkcji związków biologicznie czynnych. Związki te, po poddaniu procesowi oczyszczania, stanowiły wartościowy surowiec stosowany m.in. w przemyśle kosmetycznym i farmaceutycznym z przeznaczeniem do produkcji nutraceutyków czy też suplementów diety.

Otrzymane soki i przeciery różniły się także zawartością flawonoli, tj. pochodnych kwercetyny, a dla produktów z pigwy – kwercetyny i kamferoli. Efekt ten związany jest najprawdopodobniej z poszczególnymi operacjami stosowanymi przy produkcji soków i przecierów. W przypadku przecierów stosowano etap rozparzania wraz z mechaniczną obróbką przetarcia przez sita, co sprawiło, że związki te w zdecydowanej mierze były uwalniane z twardej struktury skórki i przedostawały się do produktu finalnego – przecieru, przez co go wzbogaciły. Istotne podwyższenie zawartości pochodnych kwercetyny uzyskano dla przecierów z dodatkiem owoców pigwowca i rokitnika oraz przecierów pigwowych.

W zależności od dodatku owoców nastąpiła modyfikacja składu frakcji polifenolowej przecierów i soków, a tym samym otrzymano produkty o odmiennych cechach sensorycznych i dietetycznych. Znaczący wzrost zawartości związków polifenolowych uzyskano, stosując dodatek owoców czarnej porzeczki, pigwowca, jarzębiny, aronii. W układzie doświadczalnym z zastosowaniem inhibitora uzyskano dodatkowy wzrost zawartości tych związków. Wzrost ten zmierzono także w układzie z innymi owocami, tj. malinami, głogiem. W badaniach wykazano, iż stosując dodatek owoców aronii i czarnej porzeczki, uzyskano najwyższą zawartość związków polifenolowych, przy czym ilość ta była uzależniona od dodatku inhibitora. Z dodatkiem inhibitora sok mieszany pigwowo-aroniowy zawierał więcej polifenoli niż pigwowo-porzeczkowy. Natomiast bez dodatku inhibitora to sok pigwowo-porzeczkowy był zasobniejszy w te związki niż pigwowo-aroniowy. Owoce aronii to bogate źródło antocyjanów, proantocyjanidyn i kwasów

fenolowych [Oszmiański i Wojdyło 2005] podobnie jak owoce czarnej porzeczki [Anttonen i Karjalainen 2006]. Powstała różnica pomiędzy tymi produktami związana była z zawartością naturalnej witaminy C, która również wykazuje działanie przeciwutleniające i synergistyczne w stosunku do flawonoidów.

W przypadku owoców rokitnika zawartość związków polifenolowych zależała nie tylko od zawartości kwasu askorbinowego w owocach, ale także od ich zasobności w polifenole. W sokach i przecierach pigwowo-rokitnikowym oraz jabłkowo-rokitnikowym dodatek inhibitora pomimo naturalnie zawartej witaminy C w owocach był również korzystny. Najprawdopodobniej obecność naturalnej witaminy C w owocach nie była całkowicie wystarczająca do ochrony związków polifenolowych owoców pigwy przed ciemnieniem enzymatycznym, co nawiązuje do badań wcześniejszych związanych z doбором inhibitora przemian oksydacyjnych. Natomiast przy produktach mieszanych z owocami pigwowca zauważono niewielki wpływ dodatku inhibitora na zachowanie związków polifenolowych w produktach mieszanych. Zapewne wynikało to z natury tych owoców, gdyż charakteryzują się one wysoką kwasowością, która według Ros i wsp. [2004] wynosi 3,5%. Dlatego należy wnioskować, że niskie pH środowiska korzystnie działało na zachowanie związków polifenolowych, powodując ich istotną stabilizację, przez co dodatek inhibitora (soku z rabarbaru) nie miał już tak istotnego wpływu. Odmienne było w przypadku pozostałych owoców kolorowych, tj. malin, truskawek, gdzie powstrzymanie reakcji utleniania enzymatycznego poprzez dodatek soku z rabarbaru skutecznie stabilizowało barwniki antocyjanowe i chroniło je przed degradacją. Kolniak i wsp. [2009] wykorzystali owoce pigwowca do produkcji przecieru aroniowego (50:50). Niska kwasowość, jaką charakteryzują się te owoce, korzystnie wpłynęła na stabilność barwników antocyjanowych oraz trwałość kwasu askorbinowego. Efektu takiego nie uzyskano, stosując dodatek innych owoców, tj. śliwek, jabłek czy pigwy.

Korzystny efekt mieszania surowców uzyskano także przez wprowadzenie odmiennej grupy związków polifenolowych od występujących w owocach pigwy, antocyjanów. Efekt ten uzyskano w przypadku produktów z dodatkiem owoców jagodowych: malin, truskawek, czarnej porzeczki i aronii. Dodatkowo, poprzez zastosowanie inhibitora do miazgi podczas przygotowania soków zaobserwowano lepsze zachowanie antocyjanów. Najwyższe różnice pomiędzy próbkami stwierdzono dla soku mieszanego z udziałem owoców truskawki (82%) i aronii (38%). Dodatek inhibitora przyczynił się także do obniżenia kwasowości czynnej soków, przez co związki z grupy antocyjanów w tym środowisku podczas przygotowania były stabilniejsze i bardziej trwałe. Efekt ten obserwowali również w swoim doświadczeniu González-Molina i wsp. [2008, 2009] podczas mieszania koncentratu aroniowego czy soku z granatowca z sokiem cytrynowym. Autorzy ci wskazali na stabilność związków antocyjanowych w tym układzie także podczas przechowywania soków.

Temperatura i czas przechowywania miały istotny wpływ na zmiany zawartości antocyjanów oraz flawanoli, w tym polimerów procyanidyn w badanych sokach i przecierach. Nie stwierdzono znaczącego wpływu warunków przechowywania na zmiany związków z grupy flawanoli oraz kwasów fenolowych, co świadczy o dużej stabilności tych związków w badanych warunkach. Wysoką stabilnością podczas przechowywania odznaczały się związki z grupy dihydrochalkonów obecne w przetworach z jabłek. Przyczy-

na strat zawartości flawanoli, w tym polimerów procyanidyn w czasie przechowywania badanych produktów mogły być procesy chemicznego utleniania i związana z tym polimeryzacja i kondensacja tych oraz pozostałych związków polifenolowych. Obserwowane straty tych związków były podobne do tych, jakie podają źródła literaturowe [Spanos i wsp. 1990, Guyot i wsp. 2003].

Dla niektórych próbek przechowywanych w 4°C uzyskano wyższą zawartość pochodnych katechin przy jednoczesnym znaczącym ubytku polimerów procyanidyn. Najprawdopodobniej wynikało to z rozpadu polimerów procyanidyn do niskocząsteczkowych procyanidyn. Podobną zależność obserwowano w pracy Brownmiller i wsp. [2009] oraz Zhu i wsp. [2002]. Brownmiller i wsp. [2009] przedstawili znaczącą degradację procyanidyn zawartych w przecierach z borówki amerykańskiej, gdzie straty tych związków podczas przygotowania przecierów wynosiły 61%, natomiast po 6-miesięcznym przechowywaniu w 25°C – 93% w stosunku do owoców świeżych.

Degradacja związków z grupy flawanoli przebiega w różny sposób, m.in. poprzez kondensację z antocyjanami, przez co produkty tracą naturalną czerwoną barwę [Reed i wsp. 2005], poprzez działanie endogennych enzymów (POD i PPO) utleniających te związki [Garcia-Viguera i wsp. 1999], czy też poprzez wytrącanie w produktach makromolekuł z białkami i polisacharydami [Sang i wsp. 2004, Le Bourvellec i wsp. 2004]. Dlatego też bardzo istotne było poznanie przyczyn odpowiedzialnych za degradację tych związków. Oddziaływanie podwyższonej temperatury, jak i długi okres przechowywania artykułów spożywczych wywołuje wiele zmian wpływających na wartość odżywczą żywności. Wartość ta może ulec obniżeniu w wyniku zmniejszenia stopnia strawności danego produktu bądź też wskutek tworzenia się toksycznych lub mutagennych związków. Podczas termicznego przetwarzania żywności, a także podczas długotrwałego jej przechowywania zachodzi wiele przemian chemicznych inicjowanych bezpośrednimi reakcjami pomiędzy grupą karbonylową lub hemiacetalową cukrów redukujących a grupą aminową aminokwasów lub peptydów.

W produktach przechowywanych w podwyższonej temperaturze zmierzono znaczącą degradację antocyjanów. Dodatkowo zaobserwowano, iż obecność witaminy C w badanych przetworach także miała istotny wpływ na zachodzące procesy podczas przechowywania. Zawartość witaminy C jest pożądana ze względu na aktywność witaminową i przeciwutleniającą. Jednakże gdy stężenie kwasu askorbinowego jest wysokie, wówczas witamina C może wzmacniać degradację antocyjanów podczas przechowywania ze względu na powstały podczas przechowywania nadtlenek wodoru [Iversen 1999, Bradshaw i wsp. 2001, Abers i Wrolstad 1979]. Związki te ulegają degradacji także na drodze nieenzymatycznego utleniania, a kwas askorbinowy może dodatkowo intensyfikować ich rozkład [Gonzalez-Molina i wsp. 2008, Garzon i Wrolstad 2002, Skrede i wsp. 1999]. Dlatego też wyższy stopień degradacji antocyjanów w próbkach mieszanych z udziałem czarnej porzeczki i truskawek niż aronii mógł być przyczyną interakcji tych związków. Degradacja antocyjanów w pozostałych badanych próbkach z dodatkiem czerwonych owoców jagodowych, np. malin mogła wynikać z obecności i aktywności peroksydazy, gdyż w porównaniu z polifenolooksydazą enzym ten jest znacznie odporniejszy na inaktywację podczas ogrzewania [Hager i wsp. 2008], przez co aktywnie mógł działać podczas całego okresu przechowywania. Antocyjany są związkami labilnymi,

tempo i charakter ich zmian zależy zarówno od odmiany owoców, rodzaju związków autocyjanowych czy obecności innych składników, pH środowiska oraz temperatury [Fang i wsp. 2006, Kidoń i Czapski 2009, Gonzalez-Molina i wsp. 2008, 2009, Skrede i wsp. 1999, Wang i Lin 2000, Garcia-Viguera i wsp. 1999].

Zwiększenie potencjału przeciwutleniającego oraz wartości żywieniowej produktów mieszanych sporządzonych z owoców pigwy i jabłek wzbogacanych innymi owocami związane było bez wątpienia z zawartością witaminy C. Soki i przecier z owoców pigwy czy jabłek zawierały niewielkie ilości tego składnika ($\sim 5 \text{ mg}/100\text{ml}^{-1}$), a w zależności od zastosowanego dodatku owoców zawartość kwasu askorbinowego wynosiła do $363,70 \text{ mgL}^{-1}$. Najwyższą zawartość kwasu askorbinowego oznaczono w próbkach mieszanych sporządzonych z dodatkiem owoców rokitnika i czarnej porzeczki, przy czym dodatek inhibitora także istotnie wpłynął na zachowanie tego składnika. Analizując otrzymane wyniki, należy wnioskować, iż w produktach bez dodatku inhibitora – to występująca naturalnie witamina C w surowcach pełniła rolę inhibitora przemian oksydacyjnych zapoczątkowanych podczas rozdrabniania owoców. Dlatego też istotne było zastosowanie konkurencyjnego i skuteczniejszego inhibitora, powodującego blokowanie miedzi w centrum aktywnym enzymu niż redukcji chinonów powstających w procesie utleniania związków polifenolowych. Możliwość takie daje sok z rabarbaru. Potwierdzeniem tego także była otrzymana wysoka zawartość kwasu askorbinowego w sokach mieszanych z udziałem owoców czarnej porzeczki oraz rokitnika, gdzie soki te z dodatkiem inhibitora zawierały o 67 i 95% więcej kwasu askorbinowego niż ich odpowiedniki bez inhibitora. Owoce rokitnika to cenne źródło nie tylko witaminy C ($\sim 500 \text{ mgkg}^{-1}$), ale również karotenoidów ($\sim 150\text{--}430 \text{ mgkg}^{-1}$), tokoferoli ($\sim 1600 \text{ mgkg}^{-1}$) oraz kwasów tłuszczowych i steroli [Tiitinen i wsp. 2005, Andersson i wsp. 2008]. Zawartość kwasu askorbinowego w owocach rokitnika jest wyższa niż w większości owoców roślin sadowniczych i jagodowych. Dodatkowo, brak aktywnego enzymu askorbinoooksydazy zwiększa trwałość witaminy C w owocach świeżych i ich przetworach [Nesterowicz i wsp. 1999]. Dlatego dodatek owoców rokitnika pospolitego do soków i przecierów z pigwy czy jabłek wzbogacił je nie tylko w witaminę C, ale i w pozostałe składniki odżywcze, co podnosiło zarówno ich wartość dietetyczną, jak i żywieniową, np. karotenoidy ($\sim 201,06 \text{ }\mu\text{g}/100\text{ml}^{-1}$ soku) [Wojdyło 2010, dane nieprezentowane]. Lipowski i wsp. [2009] wykorzystali owoce rokitnika do produkcji owocowych i warzywno-owocowych soków przecierowych. Niewielki dodatek przecieru z rokitnika (16%) pozwolił na wzbogacenie soków przecierowych w związki polifenolowe, kwas askorbinowy i karotenoidy. Natomiast Nawirska-Olszańska i wsp. [2009] stwierdzili, że spośród owoców pigwowca, derenia i jabłek do otrzymania dyniowych produktów mieszanych tylko dodatek owoców pigwowca (10–30%) pozwolił na wzbogacenie produktu finalnego w kwas askorbinowy od 16 do 31%.

González-Molina i wsp. [2009] sugerują, że stabilność kwasu askorbinowego zależy od ochronnej roli flawanoli, pochodnych (+)-katechiny i (-)-epikatechiny. Sporządzone produkty mieszane (pigwowo-pigwocowe i jabłkowo-pigwocowe) w tym układzie charakteryzowały się wysoką zawartością tych związków, wobec czego należy przypuszczać o ewentualnym efekcie synergizmu pomiędzy tymi składnikami. Dlatego też ważne było poznanie jakie składniki, a tym samym owoce do produkcji soków i innych przetworów mieszanych, można łączyć z owocami pigwy, gdyż dzięki

interakcjom pomiędzy poszczególnymi składnikami owoców można skutecznie hamować niepożądane reakcje degradacji związków biologicznie aktywnych. Jest to tym bardziej istotne ze względu na fakt, że związki polifenolowe odgrywają ogromną rolę w kształtowaniu potencjału przeciwutleniającego [Oszmiański i wsp. 2007], w tym charakteru prozdrowotnego żywności.

Barwa produktów obok właściwości organoleptycznych żywności jest czynnikiem decydującym o akceptacji produktów przez konsumentów [Falade i wsp. 2007, Walkowiak-Tomczak i Czapski 2007, Czapski i Walkowiak-Tomczak 2008]. Jednakże zastosowanie różnych operacji technologicznych czy przechowywanie powoduje zmiany jakości produktów objawiające się zmianą barwy. Sporządzając produkty mieszane, stosując dodatek innego gatunku owoców jak i inhibitora, uzyskano produkty charakteryzujące się większym udziałem barwy żółtej (dodatek owoców rokitnika, pigwowca) oraz barwy czerwonej (dodatek owoców malin, truskawek, czarnej porzeczki, aronii). Szczególnie korzystny wpływ inhibitora zaobserwowano dla soków mieszanych z dodatkiem truskawek, których czerwone barwniki antocyjanowe są niestabilne i wymagają zapewnienia odpowiedniego pH [Jakobek i wsp. 2007, Kim i Padilla-Zakour 2004].

W przypadku barwników antocyjanowych ich barwa w roztworze zależy od kwasowości środowiska, np. przy niskim pH większość antocyjanów daje barwę czerwoną o dużej intensywności. Wraz ze wzrostem pH barwa zmienia się w kierunku niebieskiej, a jej natężenie bardzo mocno się obniża [Oszmiański i Sożyński 1989]. Wpływ dodatku soku z rabarbaru na parametry barwy dżemów truskawkowych określono w pracy Wojdyło i wsp. [2008a]. Dżemy z dodatkiem soku z rabarbaru cechowała jaśniejsza barwa od ich odpowiedników kontrolnych, przy czym zwiększył się znacząco udział barwy czerwonej (a^*) i zmniejszył udział barwy żółtej (b^*). Także Gonzales-Molina i wsp. [2008, 2009] monitorowali zmianę barwy soków mieszanych (aroniowo-cytrynowych i cytrynowo-granatowych). Wykazali oni, że nawet niewielki dodatek (5%) soku z aronii czy granatowca do soku cytrynowego istotnie zmienił parametry barwy, tj. jasność (L^*), udział barwy czerwonej (a^*) oraz barwy żółtej (b^*). Również niniejsze wyniki wskazują na intensyfikację parametrów barwy, w szczególności w próbkach z inhibitorem.

Zmiany barwy związane były z warunkami przechowywania badanych produktów mieszanych. Do najważniejszych czynników wpływających na stabilność barwy należą: obecność tlenu, temperatura, odczyn pH, obecność jonów metali, dostęp światła, działanie enzymów oksydoredukcyjnych. W czasie przechowywania produktów ich barwa ulega zmianie z powodu dwóch procesów: rozpadu barwników oraz powstawania nowych barwników, często również ze związków bezbarwnych. W przypadku antocyjanów wskutek ich degradacji powstają brązowe barwniki [Sokół-Łętowska i wsp. 1991a, b].

Zakres zmierzonych zmian barwy w niniejszych badaniach jest zgodny z danymi literaturowymi [Wicklund i wsp. 2005, Marti i wsp. 2001, Mazza i Miniami 1993, Gonzales-Molina i wsp. 2008, 2009]. Wpływ temperatury przechowywania na barwę soków z aronii badali Oszmiański i Sożyński [1989]. Autorzy zaobserwowali, że w czasie przechowywania intensywność barwy soków malała (następował zanik barwy czerwonej, a wzrost udziału barwy żółtej), a zmiany te w temperaturze 10°C były znacznie mniejsze niż w temperaturze 30°C. Również Gonzales-Molina i wsp. [2008] zaobserwowali,

że w badanych sokach cytrynowo-aroniowych w proporcji 95:5 podczas przechowywania w 20°C zwiększyła się jasność soków, natomiast udział barwy czerwonej zmalał.

Odmienne było z żółtą barwą produktów pigwowo-rokitnikowych czy jabłkowo-rokitnikowych. Żółta barwa owoców rokitnika, która związana jest z występowaniem karotenoidów [Zadernowski i wsp. 2005], w obecności witaminy C jak i inhibitora była stabilna, gdyż zmiana odcienia barwy żółtej tych soków była nieznaczna (do 4%).

Produkcja produktów mieszanych związana była także ze zmianą podstawowych właściwości chemicznych, tj. ekstrakt, kwasowość ogólna czy parametrów fizycznych (lepkość i zmętnienie). Zmiany wartości ekstraktu czy kwasowości istotnie zależały od gatunku owoców, jaki użyto do przygotowania produktów mieszanych oraz dodatku inhibitora. Uzyskane wartości są zgodne z danymi literaturowymi prezentowanymi przez Sokół-Lętowską i wsp. [1991a, b] gdzie zwiększenie ekstraktu uzyskano poprzez mieszanie soków o różnych ekstraktach (tj. soku z aronii z sokiem z czarnej porzeczki). Wysoka kwasowość produktów mieszanych z dodatkiem owoców pigwowca związana była z tym, że owoce te charakteryzują się niskim odczynem pH, który wg Ros i wsp. [2004] ma źródło w wysokiej kwasowości tych owoców (powyżej 3% w przeliczeniu na kwas cytrynowy). Dla porównania, kwasowość grejpfrutów wynosi 1,5–5% (w przeliczeniu na kwas cytrynowy), a cytryn 5,0–9,0%. Również dodatek soku aroniowego oraz z granatowca sprawił istotne podwyższenie kwasowości ogólnej i ekstraktu mieszanych soków cytrynowych [Gonzales-Molina i wsp. 2008, 2009].

Badania składu chemicznego dowodzą, że owoce pigwy jak i ich produkty w porównaniu z jabłkami, pod względem zawartości składników biologicznie czynnych, stanowią cenny surowiec do ich przygotowania o charakterze prozdrowotnym. Jednakże, o jakości produktu nie decydują tylko prozdrowotne wartości, ale także cechy organoleptyczne. Ocena organoleptyczna i podstawowe wyróżniki tej oceny, tj. barwa, smak, zapach są parametrami, które kształtują pierwsze wrażenie i często decydują o wrażeniu ogólnym i dyskwalifikacji danego produktu bez poznania jego innych cech. Wszystkie one są efektem odbierania przez nasze zmysły różnych bodźców zewnętrznych i bezpośrednio lub pośrednio wiążą się z określonymi substancjami [Gawęcki i Baryłko-Pikielna 2007].

Produkty z jabłek charakteryzowały się nieznacznie wyższą akceptowalnością wśród oceniających niż z owoców pigwy. Różnice w barwie produktów mieszanych wywołane dodatkiem innych gatunków owoców sprawiły, iż oceniający w odmienny sposób odbierali produkty z jabłek a pigwy. W opinii oceniających połączenie pigwy czy jabłek z owocami pigwowca, rokitnika lub jarzębiny, ze względu na ich specyficzny smak, zapach i goryczkę, nie były akceptowane. Jednakże pomimo niskiej oceny produkcja tych soków nie powinna zostać zaniechana. Rozwiązaniem mogłoby być sporządzenie produktów wielkoskładnikowych z użyciem innych owoców, tj. truskawek czy czarnych porzeczek, które poprawiłyby takie cechy organoleptyczne jak smak i zapach. Innym rozwiązaniem uwzględnionym podczas produkcji mógłby być mniejszy niż 20% udział owoców rokitnika lub jarzębiny w mieszaniu w stosunku do owoców bazowych czy ewentualny dodatek cukru. Natomiast wysoką akceptowalnością charakteryzowały się pozostałe produkty mieszane, co oznacza że mogłyby być wprowadzone na rynek konsumencki i spotkać się z wysoką akceptowalnością.

5.3. Właściwości prozdrowotne owoców pigwy pospolitej ze szczególnym uwzględnieniem właściwości przeciwnowotworowych

Związki polifenolowe owoców i warzyw działają kardioprotekcyjnie, przeciwzapalnie (antybiotycznie), przeciwwirusowo, przeciwbakteryjnie i przeciwgrzybicznie, a także przeciwalergicznie i przeciwzakrzepowo. Z danych literaturowych wynika, że owoce pigwy wykazują działanie przeciwbakteryjne w stosunku do bakterii Gram-dodatnich *S. aureus* i Gram-ujemnych *P. aeruginosa*, słabszą w stosunku do *E. coli* i *C. albicans* [Fattouch i wsp. 2007, 2008]. Natomiast zakres badań związanych z wyznaczeniem aktywności przeciwnowotworowej tych owoców jest wciąż znikomy i nieznaczny. Badania Costa i wsp. [2009] dowiodły, że związki polifenolowe wyizolowane z liści pigwy charakteryzowały się wysoką aktywnością w stosunku do hemolizy ludzkich erytrocytów. Alesiani i wsp. [2010] także wykazali, że wyizolowane związki z grupy terpenoidów (np. kwas ursolowy) ze skórki pigwy charakteryzowały się właściwościami protekcyjnymi w stosunku do komórek czerniaka (B16-F1) u mysz. Natomiast najnowsze badania prowadzone przez Carvalho i wsp. [2010a] potwierdzają właściwości przeciwnowotworowe owoców i liści pigwy pospolitej w stosunku do ludzkich komórek nowotworowych jelita grubego (Caco-2), przy czym efektu tego nie obserwowano dla gruczolu nowotworowego nerki (A-498 i 769-P).

Uzyskane wyniki w niniejszej pracy wskazują na proliferacyjne działanie badanych ekstraktów z owoców pigwy i jabłek. Badania wykazały iż działanie antyproliferacyjne preparatów polifenolowych było zależne od dawki i rodzaju badanej linii komórkowej. W stosunku do linii MCF-7 zahamowanie proliferacji komórek tego nowotworu przy dawkach najniższych (1 i 2,5 mgml⁻¹) było nieznaczne. Różnice w zahamowaniu proliferacji komórek nowotworowych dla pigwy i jabłek mogły być powiązane ze stężeniem i typem związków polifenolowych badanych preparatów. Zawartość polifenoli w ekstrakcie z pigwy i jabłek wynosiła odpowiednio 1025 i 875 mg100g⁻¹.

Związek pomiędzy badaną dawką ekstraktów (31,25; 62,5; 125; 250; 500 µgml⁻¹) a typem komórek nowotworowych (jelita grubego i komórek gruczolaka nerki) wykazali w swoich badaniach Carvalho i wsp. [2010a, b]. Badane linie komórkowe charakteryzowały się odmienną wrażliwością na działanie prewencyjne ekstraktów z owoców i liści. Linia nowotworu jelita grubego w przeciwieństwie do linii komórkowej gruczolaka nerki była bardziej wrażliwa na wysokie dawki preparatów z pigwy [Carvalho i wsp. 2010a]. Zahamowanie proliferacji nowotworów zależało także od rodzaju preparatu (preparat sporządzony z liści, skórki, mięszu lub nasion). Przy komórkach Caco-2 inhibicja proliferacji dla najwyższej badanej dawki (500 µlml⁻¹) ekstraktu z liści wynosiła 119%, dla mięszu – 88%, dla skórki – 92%, dla nasion – 105%. W przypadku nowotworu nerki linii 769P wartości te wynosiły odpowiednio: 100, 81, 82 i 17%. Autorzy odwołują się do różnego składu frakcji polifenolowej badanych ekstraktów, które specyficznie działają w stosunku do komórek nowotworowych.

Apigenina, luteolina i inne pochodne z grupy flawonoli dominują w liściach pigwy, podczas gdy nasiona zawierają saponiny, o wysokiej aktywności, także przeciw-

nowotworowej [Magalhaes i wsp. 2009]. Potwierdzeniem tej zależności były wyniki prezentowane przez Carvalho i wsp. [2010b] dla preparatów z liści, łupin i owoców orzecha włoskiego. Natomiast według Alesiani i wsp. [2010] pochodne kwasu chlorogenowego, kwercetyny i rutyny zlokalizowane w skórce owoców pigwy były skutecznym inhibitorem zmian nowotworowych u myszy (myszy czerniaka komórek B16/F1).

Badania ostatnich lat [Kandaswami i wsp. 2005, Patel i wsp. 2007, Murakami i wsp. 2008, Granado-Serrano i wsp. 2006, Seelinger i wsp. 2008] dowodzą, że to właśnie polifenole zawarte w owocach, przede wszystkim kwercetyna, kwas chlorogenowy, katechiny odznaczają się silnymi właściwościami przeciwnowotworowymi, a więc związki które zawarte są w owocach pigwy oraz jabłkach. Również Olson i wsp. [2004] wykazali, iż w zależności od dawki preparatu zahamowanie proliferacji ekstraktu otrzymanego ze skórek z jabłek wynosiło od 50 do 110% dla linii MCF-7 oraz od 40 do 83% dla linii HT29. W badaniach tych ekstrakt ten charakteryzował się niższą aktywnością przeciwnowotworową od badanych ekstraktów z owoców róży, aronii, wiśni i malin, a wyższą od rokitnika, czarnej porzeczki, borówki amerykańskiej i brusznicy oraz śliwek.

6. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Przeprowadzone badania pozwalają na podsumowanie i sformułowanie następujących wniosków:

1. Owoce pigwy w porównaniu z jabłkami różniły się składem związków polifenolowych zarówno pod względem jakościowym, jak i ilościowym. W owocach pigwy pospolitej stwierdzono obecność flawanoli, kwasów fenolowych i flawonoli, podczas gdy w jabłkach oprócz flawanoli, kwasów fenolowych i flawonoli występowały także dihydrochalkony. Pod względem ilościowym w owocach pigwy dominowały polimery procyjanidyn.

2. We frakcji proantocyjanidynowej owoców pigwy stwierdzono obecność dimerów, tetramerów oraz pentamerów o masie cząsteczkowej $[M-H]^-$ m/z 577-1442, składających się z jednostek (-)-epikatechiny oraz (+)-katechiny, natomiast owoce jabłoni charakteryzowały się wyższą zawartością monomerów i dimerów procyjanidyn, tj. (+)-katechiny oraz (-)-epikatechiny niż ich form spolimeryzowanych.

3. Geny kodujące enzymy bezpośrednio zaangażowane w biosyntezę poszczególnych grup flawonoidów odznaczały się zróżnicowaną aktywnością w badanych owocach. Badania nie wykazały obecności izomerazy chalkonu (CHI) odpowiedzialnej za syntezę dihydrochalkonów w owocach pigwy oraz glukotransferazy (UGT) odpowiedzialnych za syntezę antocyjanów w owocach pigwy i jabłek. Natomiast intensywny sygnał, charakterystyczny dla enzymu dihydroflawonolu (DFR), potwierdził bardziej wzmożoną syntezę proantocyjanidyn w owocach pigwy niż w jabłkach.

4. Wraz ze wzrostem i dojrzewaniem owoców pigwy w warunkach wegetacyjnych następowało sukcesywne obniżenie zawartości związków polifenolowych, aktywności przeciwutleniającej oraz aktywności polifenolooksydazy.

5. Stwierdzono, że owoce badanych odmian pigwy pospolitej charakteryzowały się zróżnicowaną zawartością związków polifenolowych, przy czym owoce odmian 'Studentka', 'Vranja', 'Lescovać' i 'Bereczki' zawierały więcej związków biologicznie aktywnych oraz wykazywały większą aktywność przeciwutleniającą niż owoce odmiany 'Cydora Robusta', 'Darukon Onuku', 'Uspiech'.

6. Owoce pigwy w porównaniu z jabłkami charakteryzowały się większą podatnością na reakcję brunatnienia enzymatycznego, wynikającą z wyższej aktywności enzymu utleniającego związku polifenolowe, tj. polifenolooksydazy oraz większą zawartością substratów tego enzymu takich jak: kwas chlorogenowy i neochlorogenowy, a także pochodne (+)-katechiny i (-)-epikatechiny. W związku z tym owoce pigwy wymagały intensywnej ochrony przed procesami utleniania enzymatycznego podczas obróbki technologicznej.

7. Dodatek inhibitora przemian utleniających w formie soku z rabarbaru w ilości 2,5 i 5% podczas otrzymywania produktów z owoców pigwy sprawił, że reakcje brunatnienia enzymatycznego w znacznie większym stopniu zostały zahamowane niż po zastosowaniu kwasu askorbinowego w dawce 0,5 i 1,0 gkg⁻¹. W przypadku jabłek oba inhibitory skutecznie hamowały niekorzystne przemiany związane z degradacją związków biologicznie aktywnych, ciemnieniem produktów oraz obniżeniem aktywności przeciwutleniającej.

8. Zastosowanie preparatów enzymatycznych do maceracji miazgi w produkcji soków z owoców pigwy istotnie wpłynęło na zwiększenie wydajności procesu, ekstraktywności związków polifenolowych do soku, w tym polimerów procyjanidyn, oraz wzrost aktywności przeciwutleniającej w stosunku do próbki kontrolnej. Najwyższą wydajność soku podczas tłoczenia owoców pigwy uzyskano po zastosowaniu enzymu Pectinex Ultra SP-L, a największą zawartość związków polifenolowych, a przez to i najwyższą aktywność przeciwutleniającą – po zastosowaniu enzymów: Pectinex Smash XXL > Pectinex XXL > Pectinex Ultra SP-L.

9. Owoce pigwy mogą być wykorzystane do produkcji soków, w tym soków mętnych. Nie stwierdzono istotnych różnic w wydajności procesu tłoczenia podczas otrzymywania soków mętnych pomiędzy owocami pigwy a jabłkami. Soki z owoców pigwy charakteryzowały się wysoką zawartością związków polifenolowych i aktywnością przeciwutleniającą, jedynie nie uzyskano wymaganego stopnia zmętnienia dla tego typu produktów (≥ 250 NTU) i trwałości stopnia zmętnienia ($\geq 50\%$), jak w przypadku mętnych soków jabłkowych.

W trakcie przechowywania tych produktów (przez 6 miesięcy w temperaturze 4 i 30°C) związki polifenolowe, w tym frakcja proantocyjanidyn, były stabilniejsze w sokach z owoców pigwy niż jabłek, co znalazło swoje odzwierciedlenie w wyższej aktywności przeciwutleniającej. Zmiana barwy podczas przechowywania soków zależała od dodatku inhibitora podczas ich przygotowywania (wartości parametru L* dla próbek z dodatkiem soku z rabarbaru były większe niż dla próbek bez jego dodatku) oraz od warunków przechowywania, przy czym w wyższej temperaturze zmiany te były intensywniejsze.

10. Podczas otrzymywania soków i przecierów mieszanych najkorzystniejsze połączenie owoców pigwy z innymi owocami w stosunku 80:20 pod względem zawartości związków biologicznie aktywnych (polifenole i witaminy C) uzyskano w mieszaninie z czarną porzeczką, aronią, rokitnikiem i pigwowcem. Dodatek tych owoców bez inhibitora reakcji utleniania enzymatycznego przyczynił się zarówno do wzbogacenia mieszanych produktów w inne związki polifenolowe (np. antocyjany), jak i do ochrony przed utlenianiem związków zawartych w owocach pigwy. Znaczne zwiększenie zawartości związków biologicznie aktywnych w mieszanych produktach z owocami pigwy uzyskano po zastosowaniu dodatku inhibitora reakcji utleniania enzymatycznego.

11. Produkty otrzymane z owoców pigwy charakteryzowały się podobną akceptowalnością wybranych wyróżników jakościowych (barwa, zapach, smak, wygląd, konsystencja) w porównaniu z przetworami otrzymanymi z jabłek. Zastosowany dodatek innego gatunku owoców miał decydujące znaczenie w akceptowalności produktu mieszanego.

12. Preparaty polifenolowe z owoców pigwy i jabłek wykazywały aktywność przeciwnowotworową w stosunku do komórek linii ludzkiego nowotworu pęcherza moczowego (HCV29T) oraz linii ludzkiego nowotworu gruczołu piersiowego (MCF-7), przy czym aktywność ta była zależna od stężenia preparatów i typu linii komórkowej. Ponadto stwierdzono, że w stosunku do linii HCV29T preparat z owoców pigwy charakteryzował się wyższą aktywnością przeciwnowotworową niż preparat z jabłek.

13. Owoce pigwy rozszerzają bazę surowcową dla przetwórstwa, a charakteryzując się dużą zawartością związków polifenolowych i wysoką aktywnością przeciwutleniającą, mogą być polecane jako składnik przetworów, których spożywanie ma duże znaczenie w prewencji chorób nowotworowych.

7. LITERATURA

- Abers J.E., Wrolstad R.E.: 1979. Causative factors of color deterioration in strawberry preserves during processing and storage. *J. Food Sci.*, 44, 75–81.
- Acar J., Alper N., Estruk O.: 1999. The production of cloud apple nectar using total liquefaction enzymes. *Fruit Process.*, 8, 314–317.
- Ader P., Blöck M., Pietzsch S., Wolfram S.: 2000. Interaction of quercetin glucosides with the intestinal sodium/glucose co-transporter (SGLT-1). *Cancer Lett.*, 162, 175–177.
- Aherne S.A., O'Brien N.M.: 2002. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition* 18, 75–81.
- Alasalvar C., Grigor J.M., Zhang D., Quantick P.C., Shahidi F.: 2001. Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidants vitamins, and sensory quality of different carrot varieties. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 1410–1416.
- Alesiani D., Canini A., D'abrosca B., Greca M.D., Fiorentino A., Mastellone C., Monaco P., Pacifico S.: 2010. Antioxidant and antiproliferative activities of phytochemicals from Quince (*Cydonia vulgaris*) peels. *Food Chem.*, 118, 199–207.
- Alhasan S.A., Aranha O., Sarkar F.H.: 2001. Genistein elicits pleiotropic molecular effects on head and neck cancer cells. *Clin. Cancer Res.*, 7, 4174–4181.
- Amiot M.J., Tacchini M., Aubert S., Nicolas J.: 1992. Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. *J. Food Sci.*, 57, 958–962.
- Andersen, Ø.M., Markham K.R.: 2006. *Flavonoids. Chemistry, Biochemistry and Applications.* Taylor & Francis Group, CRC Press Taylor & Francis Group.
- Andersson S.C., Rumpunen K., Johansson E., Olsson M.E.: 2008. Tocopherols and tocotrienols in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) berries during ripening. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 6701–6706.
- Andrade P.B., Carvalho A.R.F., Seabra R.M., Ferreira M.A.: 1998. A previous study of phenolic profiles of quince, pear, and apple puree by HPLC diode array detection for the evaluation of quince puree genuineness. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 968–972.
- Anttonen M.J., Karjalainen R.O.: 2006. High-performance liquid chromatography analysis of black currant (*Ribes nigrum* L.) fruit phenolics grown either conventionally or organically. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 7530–7538.
- Appeldoorn M.M., Sanders M., Vincken J., Cheyner V., Le Guernevé C., Hollman P.C.H., Gruppen H.: 2009. Efficient isolation of major procyanidin A-type

- dimers from peanut skins and B-type dimers from grape seeds. *Food Chemistry* 117, 713–720.
- Azevedo H., Lino-Neto T., Tavares R.M.: 2003. An improved method for high-quality RNA isolation from needles of adult maritime pine trees. *Plant Mol. Biol. Rep.*, 21, 333–338.
- Bagger-Jørgensen R, Meyer A.S.: 2004. Effects of different enzymatic pre-press maceration treatments on release of phenols into blackcurrant juice. *Eur. Food Res. Technol.*, 219, 620–629.
- Bast A., Haenen G.R.M.M.: 2002. The toxicity of antioxidants and their metabolites. *Environ Toxicol. Pharmacol.*, 11, 251–258.
- Bazzano L.A., He J., Ogden L.G., Loria C.M., Vupputuri S., Myers L., Whelton P.K.: 2002. Fruit and vegetable intake and risk of cardiovascular disease in US adults: the first National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 76, 93–99.
- Benzie I.F.F., Strain J.J.: 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 239, 70–76.
- Beveridge T.: 2002. Opalescent and cloudy fruit juices: formation and particulate stability. *Critical Reviews in Food Sci. Nutr.*, 42, 317–337.
- Biegańska-Marecik R., Czapski J.: 2003. Porównanie przydatności odmian jabłek do produkcji plastrów o małym stopniu przetworzenia. *Acta Sci. Polonorum: Technologia Alimentaria*, 2, 115–127.
- Biernat J.: *Żywnienie, żywność a zdrowie*. Astrum, Wrocław 2001.
- Bitsch I., Netzel M., Strass G., Janssen M., Kesenheimer B., Herbst M., Carle E., Böhm V., Harwat M., Rechner A., Dietrich H., Bitsch R.: 2000. High-quality fruit juices from special apple varieties: their contribution to a healthy diet according to the 'five-a-day' campaign. *Ernaehrungs Umschau*, 47, 428–431.
- Bluck L.J., Jones K.S., Coward W.A., Bates C.J.: 2005. The 'anomalous' absorption of labelled and unlabelled vitamin C in man. *Br. J. Nutr.*, 93, 627–632.
- Borowska J.: 2003a. Owoce i warzywa jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy (1). *Przem. Ferm.*, 5, 11–12.
- Borowska J.: 2003b. Owoce i warzywa jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy (2). *Przem. Ferm.*, 6, 29–30.
- Boyer J., Liu R.H.: 2004. Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutr. J.*, 3, 5.
- Bradshaw M.P., Prenzler P.D., Scollary G.R.: 2001. Ascorbic acid – induced browning of (+)-catechin in a model wine system. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 934–939.
- Brownmiller C., Howard L.R., Prior R.L.: 2009. Processing and storage effects on pro-cyanidin composition and concentration of processed blueberry products. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 1896–1902.
- Buchert J., Koponen J.M., Suutarinen M., Mustranta A., Lille M., Törrönen R., Poutanen K.: 2005. Effect of enzyme-aided pressing on anthocyanin yield and profiles in bilberry and blackcurrant juices. *J. Sci. Food Agric.*, 85, 2548–2556.
- Cabanes J., Escribano J., Gandía-Herrero F., García-Carmona F., Jiménez-Atiénzar M.: 2007. Partial purification of latent polyphenol oxidase from peach (*Prunus persica*

- L. cv. Catherina). Molecular properties and kinetic characterization of soluble and membrane-bound forms. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 10446–10451.
- Carvalho M., Ferreira P.J., Mendes V.S., Silva R., Pereira J.A., Jeronimo C., Silva B.M.: 2010b. Human cancer cell antiproliferative and antioxidant activities of *Juglans regia* L. *Food Chem. Toxicology*, 48, 441–447.
- Carvalho M., Silva B.M., Silva R., Valentao P., Andrade P.B., Bastos M.L.: 2010a. First report on *Cydonia oblonga* Miller anticancer potential: differential antiproliferative effect against human kidney and colon cancer cells. *J. Agric. Food Chem.*, 58, 3366–3370.
- Cassidy A., Hanley B., Lamuela-Raventos R.M.: 2000. Isoflavones, lignans and stilbenes –origins, metabolism and potential importance to human health. *J. Sci. Food Agric.*, 80, 1044–1062.
- Cheng G.W.W., Cristo C.H.: 1995. Browning potential, phenolic composition, and polyphenoloxidase activity of buffet extracts of peach and nectarine skin tissue. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 120, 835–838.
- Chun O.K., Kim D.-O., Smith N., Schroeder D., Han J.T., Lee C.Y.: 2005. Daily consumption of phenolic and total antioxidant capacity from fruit and vegetables in the American diet. *J. Sci. Food Agric.*, 85, 1715–1724.
- Cliff M., Dever M.C., Gayton R.: 1991. Juice extraction process and apple cultivar influence on juice properties. *J. Food Sci.*, 56, 1614–1617.
- Costa R.M., Magalhães A.S., Pereira J.A., Andrade P.B., Valentão P., Carvalho M., Silva B.M.: 2009. Evaluation of free radical-scavenging and antihemolytic activities of quince (*Cydonia oblonga*) leaf: a comparative study with green tea (*Camellia sinensis*). *Food Chem. Toxicol.*, 47, 860–865.
- Czapski J., Walkowiak-Tomczak D.: 2008. Kinetics of anthocyanin colour changes during heating solutions of chokeberry, enocyanin and elderberry pigments. *Acta Agrophys.* 12, 625–635.
- Czapski J.: 1999. Wpływ technologii na jakość soków owocowych i warzywnych. *Przem. Ferm. Owocowo-Warzywny*, 43, 33–37.
- Czczot H.: 2000. Flawonoidy – naturalne antyoksydanty w naszej diecie. *Żyw. Człow. Metab.*, 27, 4, 372–382.
- de Escalada Pla M.F., Uribe M., Fissore E.N., Gerschenson L.N., Rojas A.M.: 2010. Influence of the isolation procedure on the characteristics of fiber-rich products obtained from quince waste. *J. Food Engineering* 96, 239–248.
- Dietrich H., Gierschner K., Pecoroni S., Zimmer E., Will F.: 1996. Neue Erkenntnisse zu dem Phänomen der Trübungsstabilität erste Ergebnisse aus einem laufenden Forschungsprogramm. *Flüss. Obst.*, 63, 7–10.
- Ding Ch., Chachin K., Ueda Y., Wang Ch.: 2002. Inhibition of lock out enzymatic browning by sulfhydryl compounds. *Food Chem.*, 76, 213–218.
- Ding E.L., Hutfless S.M., Xin Ding.: 2006. Chocolate and prevention of cardiovascular disease: a systematic review. *Nutr. Metab.*, 3, 1–12.
- Dixon R.A., Xie D.-Y., Sharma S.B.: 2004. Proanthocyanidins – final frontier in flavonoid research? *New Phytologist*, 165, 9–28.

- Dixon R.A.: 2005. Engineering of plant natural product pathways. *Curr. Opin. Plant Biol.* 8, 329–336.
- Falade K.O., Igbeka J.C., Ayanwuyi F.A.: 2007. Kinetics of mass transfer, and colour changes during osmotic dehydration of watermelon. *J. Food Eng.* 80, 979–985.
- Fang Z., Zhang M., Sun Y., Sun J.: 2006. How to improve bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) juice color quality: effect of juice processing on bayberry anthocyanins and polyphenolics. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 99–106.
- Fattouch S., Caboni P., Coroneo V., Tuberoso C., Angioni A., Dessi S., Marzouki N., Cabras P.: 2007. Antimicrobial activity of Tunisian quince (*Cydonia oblonga* Mill.) pulp and peel polyphenolic extracts. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 963–969.
- Fattouch S., Caboni P., Coroneo V., Tuberoso C., Angioni A., Dessi S., Marzouki N., Cabras P.: 2008. Comparative analysis of polyphenolic profiles and antioxidant and antimicrobial activities of tunisian pome fruit pulp and peel aqueous acetone extracts. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 1084–1090.
- Ferguson L.R.: 2001. Role of plant polyphenoles in genomic stability. *Mutation Res.*, 475, 89–111.
- Ferreira D., Slade D.: 2002. Oligomeric proanthocyanidins: naturally occurring O-heterocycles. *Nat. Prod. Rep.*, 19, 517–541.
- Forni P.M., Polesello A.: 1994. A preliminary characterization of some pectins from quince fruit (*Cydonia oblonga* Mill.) and pickly pear (*Opuntia ficus indica*) peel. *Carbohydrate Polymers*, 23, 231–234.
- García Y.D., Valles B.S., Lobo A.P.: 2009. Phenolic and antioxidant composition of by-products from the cider industry: apple pomace. *Food Chem.*, 117, 731–738.
- García-Viguera C., Zafrilla P., Abellan P., Artes F., Tomas-Barberan F.A.: 1999. Color stability of storage jam as affected by cultivar and storage temperature. *J. Food Sci.* 64, 243–247.
- Garzon G.A., Wrolstad R.E.: 2002. Comparison of the stability of pelargonidin-based anthocyanins in strawberry juice and concentrate. *J. Food Sci.*, 67, 1288–1299.
- Gasik A., Horubała A.: 1990. Aktywność enzymów oksydoredukcyjnych (PPO i PO) oraz zawartość związków polifenolowych a podatność na brunatnienie miazgi jabłkowej. *Przem. Spoż.*, 8, 185–191.
- Gawęcki J., Baryłko-Pikielna N.: 2007. Zmysły a jakość żywności i żywienia. Wydawnictwo Akademii Rolniczej w Poznaniu. Praca pod redakcją Gawęcki i Baryłko-Pikielna.
- Gonzalez C.A.: 2006. The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Public Health Nutr.*, 9, 124–6.
- Gonzalez E., de Ancos B., Cano M.P.: 1999. Partial characterization of polyphenol oxidase activity in raspberry fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 4068–4072.
- González-Molina E., Moreno D.A., García-Viguera C.: 2008. Aronia –enriched lemon juice: a new highly antioxidant beverage. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 11327–11333.
- González-Molina E., Moreno D.A., García-Viguera C.: 2009. A new drink rich in healthy bioactives of lemon and pomegranate juices. *Food Chem.*, 115, 1364–1372.

- Grajek W.: 2004. Rola przeciwutleniaczy w zmniejszeniu ryzyka wystąpienia nowotworów i chorób układu krążenia. *Żywność*, 11, 3–11.
- Gramza A., Korczak J.: 2005. Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in lipid systems. *Trends Food Sci. Technol.*, 16, 8, 351–358.
- Granado-Serrano A.B., Martin M.A., Bravo L., Goya L., Ramos S.: 2006. Quercetin induces apoptosis via caspase activation, regulation of Bcl-2, and inhibition of PI-3-kinase/Akt and ERK pathways in a human hepatoma cell line (HepG2). *J. Nutr.*, 136, 2715–2721.
- Gu L., Kelm M.A., Hammerstone J.F., Beecher G., Holden J., Haytowitz D., Prior R.L.: 2003. Screening of foods containing proanthocyanidins and their structural characterization using LC-MS/MS and thiolytic degradation. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 7513–7521.
- Gu L., Kelm M.A., Hammerstone J.F., Beecher G., Holden J., Haytowitz D., Gebhardt S., Prior R.L.: 2004. Concentrations of Proanthocyanidins in Common Foods and Estimations of Normal Consumption. *J. Nutr.*, 134, 613–617.
- Gumowska I.: 1986. *Owoce z lasów i pól*. Wydawnictwo Warta. Warszawa.
- Guyot S., Bourvellec C., Marnet N., Drilleau J.F.: 2002. Procyanidins are the most abundant polyphenols in dessert apples at maturity. *Lebensm.-Wiss. Technol.*, 35, 289–291.
- Guyot S., Chenier V., Souquet J.-M., Moutounet M.: 1995. Influence of pH on the enzymatic oxidation of (+)-catechin in model systems. *J. Agric. Food Chem.*, 43, 2458–2462.
- Guyot S., Marnet N., Laraba D., Sanoner P., Drilleau J.F.: 1998. Reversed-phase HPLC following thiolysis for quantitative estimation and characterization of the four main classes of phenolic compounds in different tissue zones of a French cider apple variety (*Malus domestica* Var. Kermerrien). *J. Agric. Food Chem.*, 46, 1698–1705.
- Guyot S., Marnet N., Sanoner P., Drilleau J.F.: 2001. Direct thiolysis on crude apple materials for HPLC characterization and quantification of polyphenols in cider apple tissues and juices. *Methods Enzymol.*, 335, 57–64.
- Guyot S., Marnet N., Sanoner P., Drilleau J.-F.: 2003. Variability of the polyphenolic composition of cider apple (*Malus domestica*) fruits and juices. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 6240–6247.
- Hager T.J., Howard L.R., Prior R.L.: 2008. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric colour, and antioxidant capacity of processed blackberry products. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 689–695.
- Halbwirth H., Martens S., Wienand U., Forkmann G., Stich K.: 2003. Biochemical formation of anthocyanins in silk tissue of *Zea mays*. *Plant Sci.*, 164, 489–495.
- Harborne J., Williams C.: *Advances in flavonoid research Since 1992*. *Phytochemistry*, 55, 481–504.
- Havsteen B.H.: 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Ther.*, 96, 67–202.
- Hertog M.G.L., Feskens E.J.M.: 1993. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease the Zutphen elderly study. *Lancet*, 342, 1007–1011.

- Hollman P.C.H.: 1997a. Bioavailability of the dietary antioxidant flavonol quercetin in man. *Cancer Lett.*, 114, 139–140.
- Hollman P.C.H., Katan M.B.: 1997b. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in Man. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 51, 305–310.
- Hollman P.C.H., Tijburg L.B.M., Yang C.S.: 1997c. Bioavailability of flavonoids from tea. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 37, 719–738.
- Holt R.R., Lazarus S.A., Sullards M.C., Zhu Q.Y., Schramm D.D., Hammerstone J.F., Fraga C.G., Schmitz H.H., Keen C.L.: 2002. Procyanidin dimer B2 (epicatechin-4 β -epicatechin) in human plasma after the consumption of a flavanol-rich cocoa. *Am. J. Clin. Nutr.*, 76, 798–804.
- Holton T.A., Cornish E.C.: 1995. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. *Plant Cell*, 7, 1071–1083.
- Horn-Ross P.L., Hoggatt K.J., Lee M.M.: 2002. Phytoestrogens and thyroid cancer risk: the San Francisco Bay Area thyroid cancer study. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 11, 43–49.
- Hsu S.: 2005. Review. Green tea and the skin. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 52, 1049–1059.
- Hung H.C., Joshipura K.J., Jiang R., Hu F.B., Hunter D., Smith-Warner S.A., Colditz G.A., Rosner B., Spiegelman D., Willett W.C.: 2004. Fruit and vegetable intake and risk of major chronic disease. *J. Natl. Cancer. Inst.*, 96, 1577–1584.
- Jaakola L., Maatta K., Pirttila M., Torronen R., Karenlampi S., Hohtola A.: 2002. *Plany Physiology*, 130, 729–739.
- Jakobek L., Seruga M., Medvidovic-Kosanovic M., Novak I.: 2007. Anthocyanin content and antioxidant activity of various red fruit juices. *Dtsch. Lebensm.-Rundsch.*, 103, 58–64.
- Janda B., Stochmal A., Montoro P., Piacente S., Oleszek W.: 2009. Phenolics in aerial parts of Persian clover *Trifolium resupinatum*. *Nat. Prod. Commun.*, 4, 1661–1664.
- Janecko Z.: 2004. Polifenole roślinne w terapii schorzeń układu krążenia. *Panacea*, 3, 22–26.
- Jaroslawska A., Sokół-Łętowska A., Oszmiański J.: 2003. Próba zastosowania naturalnych polifenoli do oleju słonecznikowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2 (35), 77–86.
- Jędrusek-Golińska A., Heś M.: 2000. Konsumenci a przeciwutleniacze w żywności. *Przem. Spoż.*, 56, 51.
- Jiang H., Ji B., Liang J., Zhou F., Yang Z., Zhang G.: 2006. Changes of contents and antioxidant activities of polyphenols during fruit development of four apple cultivars. *Eur. Food Res. Technol.*, 223, 743–748.
- Jiang Y.M., Liu S.X., Zhang D.L., Chang F., Li Y.B.: 1995. Studies on antibrowning of coco nut (*Cocos nucifera* L.) fruit. *Tmropical Agric.*, 72, 254–257.
- Jones C.M., Mes P., Meyers J.R.: 2003. Characterization and inheritance of the anthocyanin fruit (*Aft*) tomato. *J. Heredity*, 94, 449–456.
- Joshipura K.J., Hu F.B., Manson J.E., Stampfer M.J., Rimm E.B., Speizer F.E., Colditz G., Ascherio A., Rosner B., Spiegelman D., Willett W.C.: 2001. The effect of fruit and vegetable intake on risk for coronary heart disease. *Ann. Intern. Med.*, 134, 1106–1114.

- Kahle K., Kraus M., Richling E.: 2005. Polyphenol profiles of apple juices. *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 797–806.
- Kandaswami C., Lee L.T., Lee P.P., Hwang J.J., Ke F.C., Huang Y.T., Lee M.T.: 2005. The antitumor activities of flavonoids. *In Vivo*, 19, 895–909.
- Karadeniz F., Burdurlu H.S., Koca N., Soyer Y.: 2005. Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. *Turk. J. Agric. For.*, 29, 297–303.
- Karchesy J.J., Foo L.Y., Barofsky E., Arbogast B., Barofsky D.F.: 1989. Negative-ion fast-atom-bombardment mass spektrometry of procyanidin oligomers. *J. Wood Chem. Technol.*, 9, 313–331.
- Kennedy J.A., Jones G.P.: 2001. Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 1740–1746.
- Khanizadeh S., Tsao R., Rekika D., Yang R., DeEll J.: 2007. Phenolic composition and antioxidant activity of selected apple genotypes. *J. Food Agric. Environment*, 5, 61–66.
- Kidoń M., Czapski J.: 2009. Ocena zmian zawartości składników bioaktywnych oraz zdolności antyoksydacyjnej soków z marchwi purpurowej podczas przechowywania. *Bromat. Chem. Toksykol.* 3, 848–853.
- Kim D.O., Padilla-Zakour O.I.: 2004. Jam processing effect on phenolics and antioxidant capacity in anthocyanin-rich fruits: cherry, plum, and raspberry. *J. Food Sci.*, 69, S395–S400.
- King A., Young G.: 1999. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J. Am. Diet. Assoc.* 99, 2, 213–218.
- Klopotek Y., Otto K., Böhm V.: 2005. Processing strawberries to different products alters contents of vitamin C, total phenolics, total anthocyanins, and antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 5640–5646.
- Kolniak J., Augustyniok A., Oszmiański J.: 2009. Wpływ dodatku owoców i warzyw do przecieru aroniowego na zawartość związków polifenolowych i jakość. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 10, 13–17.
- Kopera M., Mitek M.: 2006. Wpływ dodatku kwasu L-askorbinowego do miazgi owocowej na zawartość polifenoli w sokach gruszkowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, 2, Supl., 116–123.
- Koponen J.M., Buchert J., Poutanen K.S., Torronen A.R.: 2008a. Effect of pectinolytic juice production on the extractability and fate of bilberry and black currant anthocyanins. *Eur. Food Res. Technol.*, 227, 485–494.
- Koponen J.M., Hopponen A.M., Auriola S., Kontkanen H., Buchert J., Poutanen K.S., Torronen A.R.: 2008b. Characterization and fate of black currant and bilberry flavonols in enzyme-aided processing. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 3136–3144.
- Kristiansen K.N., Rohde W.: 1991. Structure of the *Hordeum vulgare* gene encoding dihydroflavonol-4-reductase and molecular analysis of ANT18 mutants blocked in flavonoid synthesis. *Mol. Gen. Genet.* 230, 49–59.
- Lańska D.: 1992. *Leksykon przyrody „Jadalne rośliny dziko rosnące”*. Wydawnictwo Delta. Warszawa.

- Le Bourvellec C., Renard C.M.G.C.: 2005a. Non-covalent interaction between procyanidins and apple cell Wall material. Part II: Quantification and impact of cell wall drying. *BBA*, 1725, 1–9.
- Le Bourvellec C., Bouchet B., Renard C.M.G.C.: 2005b. Non-covalent interaction between procyanidins and apple cell wall material. Part III: Study on model polysaccharides. *BBA*, 1725, 10–18.
- Le Bourvellec C., Guyot S., Renard C.M.G.C.: 2004. Non-covalent interaction between procyanidins and apple cell Wall material. Part I: Effect of some environment all parameters. *BBA*, 1672, 192–202.
- Le Bourvellec C., Guyot S., Renard C.M.G.C.: 2009. Interactions between apple (*Malus x domestica* Borkh.) polyphenols and cell walls modulate the extractability of polysaccharides. *Carbohydr. Polym.*, 75, 251–261.
- Le Bourvellec C., Le Quere J.-M., Renard C.M.G.C.: 2007. Impact of noncovalent interactions between apple condensed tannins and cell walls on their transfer from fruit to juice: studies in model suspensions and application. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 7896–7904.
- Lea A.G.H.: 1992. Flavor, color and stability in fruit products: the effects of polyphenols. [in:] R.W. Hemingway, & P.E. Laks (Eds.), *Plant polyphenols: Synthesis properties, significance*. New York: Plenum Press, 827–848.
- Lee J.Y., Park H.J., Lee C.Y., Choi W.Y.: 2003a. Extending shelf-life of minimalny processed apple with edible coatings and antibrowning agents. *LWT*, 36, 323–329.
- Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J., Lee C.Y.: 2003b. Major phenolic in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 6516–6520.
- Lee M.M., Gomez S.L., Chang J.S., Wey M., Wang R.T., Hsing A.W.: 2003c. Soy and isoflavone consumption in relation to prostate cancer risk in China. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 12, 665–668.
- Lewko J., Wojdyło A.: 2009. Pigwa znana i nieznaną. Monografia: Czynniki wpływające na plonowanie i jakość owoców roślin sadowniczych, SGGW, 2009, 9, 35–43.
- Lipowski J., Marszałek K., Skąpska S.: 2009. Sea buckthorn – an innovative raw material for the fruit and vegetable processing industry. *J. Fruit Ornamental Plant Res.*, 17(2), 121–126.
- Lock K., Pomerleau J., Causer L., Altmann D.R., McKee M.: 2005. The global burden of disease attributable to low consumption of fruit and vegetables: implications for the global strategy on diet. *Bulletin of the World Health Organization*, 83(2), 100–108.
- Logemann J., Schell J., Willmitzer L.: 1987. Improved method for the isolation of RNA from plant tissues. *Analytical Biochem.*, 163, 16–20.
- Lorenc-Kukuła K., Korobczak A., Aksamit-Stachurska A., Kostyń K., Łukaszewicz M., Szopa J.: 2004. Glucosyltransferase: the gene arrangement and enzyme function. *CMBL* 9, 935–946.
- Lu Y., Yeap Foo L.: 1997. Identification and quantification of major polyphenols in apple pomace. *Food Chem.*, 59, 187–194.
- Lu Y., Yeap Foo L.: 2000. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chem.*, 68, 81–85.

- Łata B., Przeradzka M., Bińkowska M.: 2005. Great differences in antioxidant properties exist between 56 apple cultivars and vegetation seasons. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 8970–8978.
- Łata B.: 2007. Relationship between apple peel and the whole fruit antioxidant content: year and cultivar variation. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 663–671.
- Łukaszewicz M., Matysiak-Kata I., Skała J., Fecka I., Cisowski W., Szopa J.: 2004. Antioxidant capacity manipulation in transgenic potato tuber by changes in phenolic compounds content. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 1526–33.
- Macheix J., Fleuriet A., Billot J.: 1990. Importance and roles of phenolic compounds in fruits. *Fruits Phenolics*. CRC Press, Inc.: Boca Raton, FL, 246.
- Magalhaes A.S., Silva B.M., Pereira J.A., Andrade P.B., Valenta O.P., Carvalho M.: 2009. Protective effect of quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit against oxidative hemolysis of human erythrocytes. *Food Chem. Toxicol.*, 47, 1372–1377.
- Manach C., Regeat F., Texier O.: 1996. Bioavailability, metabolism and physiological impact of 4-oxoflavonoids. *Nutr. Res.*, 16, 517–544.
- Manach C., Texier O., Morand C., Crespy V., Regeat F., Demigne C., Remesy C.: 1999. Comparison of the bioavailability of quercetin and catechin in rats – a new dimension in electrochemical analysis. *Free Rad. Biol. Med.*, 27, 1259–1266.
- Maniatis T., Sambrook J., Fritsch E.F.: 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd edition. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Martens S., Teeri T., Forkman G.: 2002. Heterologous expression of dihydroflavonol-4-reductase from various plants. *FEBS Lett.*, 531, 453–458.
- Marti N., Perez-Vicente A., Garcia-Viguera C.: 2001. Influence of storage and ascorbic acid addition on pomegranate juice. *J. Sci. Food Agric.*, 82, 217–221.
- Martinez M.V., Whitaker J.R.: 1995. The biochemistry and control of enzymatic browning. *Trends in Food Sci. Technol.*, 6, 195–200.
- Mayer A.M., Harel E.: 1979. Polyphenol oxidase in plants. *Phytochem.*, 18, 193–215.
- Mazza G., Miniami E.: 1993. Anthocyanins in fruits, vegetables and grains. CRC Press: Boca Raton, FL, 1–23 i 85–118.
- McGhie T.K., Hunt M., Barnett L.E.: 2005. Cultivar and growing region determine the antioxidant phenolic concentration and composition of apples grown in New Zealand. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 3065–3070.
- Mehrländer K., Dietrich H., Sembries S., Dongowski G., Will F.: 2002. Structural characterization of oligosaccharides and polysaccharides from apple juices produced by enzymatic pomace liquefaction. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 1230–1236.
- Messina M., Bennink M.: 1998. Soyfoods, isoflavones and risk of colonic cancer: a review of the *in vitro* and *in vivo* data. *Baillieres Clin. Endocrinol. Metab.*, 12, 707–728.
- Meyers K.J., Watkins C.B., Pritts M.P., Liu R.H.: 2003. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 6887–6892.
- Mihalev K., Schieber, A., Mollov P., Carle R.: 2004. Effect of mash maceration on the polyphenolic content and visual quality attributes of cloudy apple juice. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 7306–7310.

- Miller N.J., Rice-Evans C.A.: 1997. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. *Food Chem.* 60, 331–337.
- Mitek M., Gasik A.: 2009. Polifenole w żywności. Wpływ na cechy organoleptyczne. *Przem. Spoż.*, 5, 34–39.
- Moshfgh A.J.: 1998. Importance and consumption patterns of fruits and vegetables. *Quality and Safety. Maryland*, 75–81.
- Murakami A., Ashida H., Terao J.: 2008. Multitargeted cancer prevention by quercetin. *Cancer Lett.*, 269, 315–325.
- Murota K., Terao J.: 2005. Quercetin appears in the lymph of unsaturated rats at its phase II metabolites after administered into the stomach. *FEBS Lett.*, 579, 5343–5346.
- Nagata C., Takatsuka N., Kawakami N., Shimizu H.: 2002. A prospective cohort study of soy product intake and stomach cancer death. *Br. J. Cancer*, 87, 31–36.
- Nawirska-Olszańska A., Kucharska A.Z., Sokół-Łętowska A., Biesiada A.: 2009. Pumpkin puree enriched with japanese quince, cornelian cherry, strawberry and apple. *Monografia: Food Technology Operations New Vista*. 241–251.
- Ness A.R., Powles J.W.: 1996. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. *Int. J. Epidemiol.*, 26, 1–13.
- Nesterowicz J., Zadernowski R., Markiewicz K., Szalkiewicz M.: 1999. Characterization of fruit of selected sea-buckthorn varieties. *Natural Sci.*, 3, 235–244.
- Ohshima H., Yoshie Y., Auriol S., Gilbert I.: 1998. Antioxidant and prooxidant actions of flavonoids: effects on DNA damage induced by nitric oxide, peroxynitrite and nitroxyl anion. *Free Radical Biol. Med.*, 25, 1057–1065.
- Oliveira A.P., Pereira J.A., Andrade P.B., Valentão P., Seabra R.M., Silva B.M.: 2007. Phenolic profile of *Cydonia oblonga* Miller leaves. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 7926–7930.
- Olson M.E., Gustavsson K-E., Andersson S., Nilsson A., Duan R-D.: 2004. Inhibition of cancer cell proliferation in vitro by fruits and berry extracts and correlations with antioxidant levels. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 7264–7271.
- Orenes-Pinero E., Garcia-Carmona F., Sanchez-Ferrer A. 2006. Latent polyphenol oxidase from quince fruit pulp (*Cydonia oblonga*): purification, activation and some properties. *J. Sci. Food Agric.*, 86, 2172–2178.
- Oszmiański J.: 2009d. Materiały konferencyjne: Żywność wzbogacona i nutraceutyki. 76–90.
- Oszmiański J.: 2009e. Badania własne. Dane nie publikowane.
- Oszmiański, J; Bourzeix M.: 1995a. Preparation of catechin and procyanidin standards from hawthorn (*Crataegusa azarolus* L.) and pine (*Pinus mesogeensis fleschi*) barks. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 4/45 (2), 89–96.
- Oszmiański J., Sokół-Łętowska A., Kuczyński A.: 1995b. Effect of rhubarb juice on phenolics and colour of unclarified apple juice. *Fruit Processing* 6, 179–182.
- Oszmiański J., Sożyński J.: 1989. Wpływ warunków otrzymywania oraz przechowywania soku z aronii na związki fenolowe i barwę. *Zesz. Nauk. AR Wroc.*, 184, 89–100.
- Oszmiański J., Wojdyło A.: 2005. *Aronia melanocarpa* phenolics and their antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol.*, 221, 809–813.

- Oszmiański J., Wojdyło A.: 2006. Effect of pectolytic enzyme preparations on the phenolic composition and antioxidant activity of apple juice. *Fruit Processing* 5, 322–329.
- Oszmiański J., Wojdyło A.: 2006. Soki naturalnie mętne – dobry kierunek w przetwórstwie jabłek. *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.*, 2, 20–22.
- Oszmiański J., Wojdyło A.: 2008a. Effect of rhubarb juice and peeling on phenolics and antioxidant activity of apple purées. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 43, 501–509.
- Oszmiański J., Wojdyło A.: 2009a. Effects of blackcurrant and apple pulp blended on phenolics, antioxidant capacity and colour of juices. *J. Czech Food Technol.*, 27(5), 338–351.
- Oszmiański J., Wojdyło A.: 2009b. Comparative study of phenolic content and antioxidant activity of strawberry puree, clear, and cloudy juices. *Eur. Food Res. Technol.*, 228, 623–639.
- Oszmiański J., Wojdyło A.: Changes of polyphenol contents in apple and leaves during fruit development and ripening. *NPC* (w druku).
- Oszmiański J., Wojdyło A., Kolniak J.: 2009c. Effect of enzymatic mash treatment on phenolic composition, antioxidant activity, and turbidity of cloudy apple juice. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 7078–7085.
- Oszmiański J., Wolniak M., Wojdyło A., Wawer I.: 2007. Comparative study of polyphenolic content and antiradical activity of cloudy and clear apple juices. *J. Sci. Food Agric.*, 87, 573–579.
- Oszmiański J., Wolniak M., Wojdyło A., Wawer I.: 2008b. Influence of apple purée preparation and processing on polyphenols content and antioxidant activity. *Food Chem.*, 4, 1473–1484.
- Özöglü H., Bayındırlı A.: 2002. Inhibition of enzymatic browning in Cloud apple juice with selected antibrowning agents. *Food Control*, 13, 213–221.
- Patel D., Shukla S., Gupta S.: 2007. Apigenin and cancer chemoprevention: Progress, potential and promise (Review). *Int. J. Oncol.*, 30, 233–245.
- Pearson D.A., Tan C.H., German J.B., Davis P.A., Gershwin M.E.: 1999. Apple juice inhibits human low density lipoprotein oxidation. *Life Sci.*, 64, 1913–1920.
- Peeters P.H., Keinan-Boker L., van der Schouw Y.T., Grobbee D.E.: 2002. Phytoestrogens and breast cancer risk: review of the epidemiological evidence. *IARC Sci. Publ.*, 156, 331–336.
- Peeters P.H., Keinan-Boker L., van der Schouw Y.T., Grobbee D.E.: 2003. Phytoestrogens and breast cancer risk. Review of the epidemiological evidence. *Breast Cancer Res. Treat.*, 77, 171–183.
- Perez-Lopez A., Beltran F., Serrano- Megias M., Saura Lopez D., Carbonell- Barrachina A.A.: 2006. Changes in orange juice color by addition of mandarin juice. *Eur. Food Res. Technol.*, 222, 516–520.
- Pietta P.G.: 2000. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.*, 63, 1035–1042.
- PN-90/A-75101/02. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Ekstrakt ogólny.
- PN-90/A-75101/03. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Sucha masa.

- PN-90/A-75101/04. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Kwasowość ogólna.
- PN-90/A-75101/07 (Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Zawartość pektyn.
- Podsędek A., Wilska-Jeszka J., Anders B., Markowski J.: 2000. Compositional and characterization of some apple varieties. *Eur. Food Res. Technol.*, 210, 268–272.
- Rababah T.M., Ereifej K.I., Howard L.: 2005. Effect of ascorbic acid and dehydration on concentrations of total phenolics, antioxidant capacity, anthocyanins, and colour in fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 4444–4447.
- Raffo A., Paoletti F., Antonelli M.: 2004. Changes in sugar, organic acid, flavonol and carotenoid composition during ripening of berries of tree seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) cultivars. *Eur. Food Res. Technol.*, 219, 360–368.
- Rasmussen S.E., Frederiksen H., Struntez K.K., Paulsen L.: 2005. Dietary proanthocyanidins: occurrence, diet ary intake, bioavailability, and protection against cardiovascular disease. *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 159–174.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical & Biology and Medicine*, 26(9/10), 1231–1237.
- Reed J.D, Krueger C.G., Vestling M.M.: 2005. MALDI-TOF mass spectrometry of oligomeric food polyphenols. *Phytochemistry*, 66, 2248–2263.
- Rejman A.: 1994. POMOLOGIA odmianoznawstwo roślin sadowniczych. Praca zbiorowa pod redakcją Rejmana. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne. Warszawa.
- Renard C.M.G.C., Baron A., Guyot S., Drilleau J.F.: 2001. Interactions between apple cell walls and native apple polyphenols: quantification and some consequences. *International Journal of Biological Macromolecules*, 29, 115–125.
- Renard C.M.G.C., Dupont N., Guillermin P.: 2007. Concentrations and characteristics of procyanidins and other phenolics in apples during fruit growth. *Phytochem.*, 68, 1128–1138.
- Rice-Evans C.: 2004. Flavonoids and isoflavones: absorption, metabolism, and bioactivity. *Free Radic. Biol. Med.*, 36, 827–828.
- Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G.: 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.*, 20, 933–956.
- Robak J., Gryglewski R.J.: 1996. Bioactivity of flavonoids. *Pol. J. Pharmacol.*, 48, 555–564.
- Robards K., Prenzler P.D., Tucker G., Swatsitang P., Glover W.: 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem.*, 66, 4010–436.
- Rodriguez-Guisado I., Hernandez F., Melgarejo P., Legua P., Martinez R., Martinez J.J.: 2010. Chemical, morphological and organoleptical characterisation of five Spanish quince clones (*Cydonia oblonga* Miller). *Sci. Hort.*, 122, 491–496.
- Ros J.M., Laencina J., Hellin P., Jordan M.J., Vila R., Rumpunen K.: 2004. Characterization of juice in fruit of different Chaenomeles species. *Lebensmittel- Wissenschaft und- Technologie*, 37, 301–307.
- Rosicka-Kaczmarek J.: 2004. Polifenole jako naturalne antyoksydanty w żywności. *Przegl. Piekar. Cukiern.*, 6, 12–16.

- Ross J.A., Kasum C.M.: 2002. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Ann. Rev. Nutr.*, 22, 19.
- Rynek owoców i warzyw. 2010. Stan i perspektywy, 37.
- Sang S., Yang C.S., Ho C.T.: 2004. Peroxidase-mediated oxidation of catechins. *Phytochem. Rev.*, 3, 229–241.
- Sanoner P., Guyot S., Marnet N., Molle D., Drilleau J.F.: 1999. Polyphenol profiles of French cider apple varieties (*Malus domestica* sp.). *J. Agric. Food Chem.*, 47, 4847–4853.
- Schieber A., Hill P., Conrad J., Beifuss U., Carie R.: 2002. Elution order of quercetin glycosides from apple pomace extracts on a new stationary phase with hydrophilic endcapping. *J. Separation Sci.*, 25, 361–364.
- Schijlen E.G.W.M., de Vos C.H.R., van Tunen A.J., Bovy A.G.: 2004. Modification of flavonoid biosynthesis in crop plants. *Phytochem.*, 65, 2631–2648.
- Schindler M., Solar S., Sontag G.: 2005. Phenolic compounds in tomatoes. Natural variations and effect of gamma-irradiation. *Eur. Food Res. Technol.*, 221, 439–445.
- Schobinger U., Durr P., Akesson A.: 1981. Technologische und analytische daten zur enzymatischen verflüssigung von apfeln und biren. *Alimenta*, 20, 37–42.
- Seelinger G., Merfort I., Wolffe U., Schempp C.M.: 2008. Anticarcinogenic effects of the flavonoid luteolin. *Molecules* 2008, 13, 2628–2651.
- Seeram N.P., Adams L.S., Zhang Y., Lee R., Sand D., Scheuller H.S., Heber D.: 2006. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 9329–9339.
- Sękowski B.: 1993. *Pomologia systematyczna*. Tom II. PWN, Warszawa.
- Sheahan J.J., Cheong H.: 1998. The Colorless Flavonoids of *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae). II. Flavonoid 3' Hydroxylation and Lipid Peroxidation. *Am. J. Bot.*, 4, 476–480.
- Shojio T., Masumoto S., Moriichi N., Kanda T., Ohtake Y.: 2009. Apple (*Malus pumila*) procyanidins fractionated according to the degree of polymerization using normal-phase chromatography and characterized by HPLC-ESI/MS and MALDI-TOF/MS. *J. Chrom. A*, 1102, 206–213.
- Shur Y-J.: 1999. Molecular mechanisms of chemo-preventive effects of selected dietary and medicinal phenolic substances. *Mutation Res.*, 428, 305–327.
- Sieliwanowicz B., Hałasińska A.G., Trzcńska M., Jakubowski A., Lipowski J., Skąpska S.: 2005. Zmiany zawartości związków fenolowych, parametrów barwy i aktywności przeciwutleniającej w czasie przechowywania soków z wybranych odmian jabłek. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 4, 83–91.
- Siliha H.: 1995. Effect of enzymatic treatment of carrot puree. *Fruit Process.*, 10, 318–322.
- Silva B.M. Andrade B., Mendes G.C., Seabra R.M., Ferreira M.A.: 2002b. Study of the organic acids composition of quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit and jam. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 4615–4618.

- Silva B.M., Andrade P.B., Ferreres F., Domingues A.L., Seabra R.M., Ferreira M.A.: 2002a. Phenolic profile of quince fruit (*Cydonia oblonga* Miller) (pulp and peel). *J. Agric. Food Chem.*, 50, 4615–4618.
- Silva B.M., Andrade P.B., Martins R.C., Seabra R.M., Ferreira M.A.: 2006. Principal component analysis as tool of characterization of quince (*Cydonia oblonga* Miller) jam. *Food Chem.*, 94, 504–512.
- Silva B.M., Andrade P.B., Martins R.C., Valentao P., Ferreres F., Seabra R.M., Ferreira M.: 2005. Quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit characterization using principal components analysis. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 111–122.
- Silva B.M., Andrade P.B., Mendes G.C., Valentao P., Seabra R.M., Ferreira M.A.: 2000. Analysis of phenolic compounds in the evaluation of commercial quince jam authenticity. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2853–2857.
- Silva B.M., Andrade P.B., Valentao P., Ferreres F., Seabra R.M., Ferreira M.A.: 2004. Quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruits (pulp, peel, and seed) and jam: antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 4705–4712.
- Skehan P., Storenc R., Scudiero D.: 1990. New colorimetric cytotoxicity assay for anti-cancer-drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.*, 82, 1107–1112.
- Skrede G., Wrolstad R.E., Lea P., Enersen G.: 1999. Colour stability of strawberry and black currant syrups. *J. Food Sci.*, 57, 172.
- Sokół-Łętowska A., Oszmiański J., Sożyński J.: 1991a. Stabilność związków fenolowych i barwy w mieszanych sokach z jabłek, aronii i owoców róży. *Zesz. Nauk. AR Wroc.*, 215, 155–163.
- Sokół-Łętowska A., Oszmiański J., Sożyński J.: 1991b. Wpływ dodatku aronii na stabilność związków fenolowych i barwę soku z czarnej porzeczki. *Zesz. Nauk. AR Wroc.*, 215, 165–175.
- Son S.M., Moon K.D., Lee C.Y.: 2000a. Kinetic study of oxalic acid inhibition on enzymatic browning. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2071–2074.
- Son S.M., Moon K.D., Lee C.Y.: 2000b. Rhubarb juice as a natural antibrowning agent. *J. Food Sci.*, 65, 1288–1289.
- Spanos G.A., Wrolstad R.E., Hestherbell D.A.: 1990. Influence of processing and storage on the phenolic composition of apple juice. *J. Agric. Food Chem.*, 38, 1572–1579.
- Spencer J.P.E., Chaudry F., Pannala A.S., Srail S.K., Debnam E., Rice-Evans C.: 2000. Decomposition of cocoa procyanidins in the gastric milieu. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 272, 236–241.
- Stafford H.A.: 1990. *Flavonoid Metabolism*. (Boca Raton, FL: CRC Press).
- Sudha M. L., Baskaran V., Leelavathi K.: 2007. Apple pomace as a source of dietary fiber and polyphenols and its effects on rheological characteristics and cake making. *Food Chem.*, 104, 686–692.
- Sugihara N., Arakawa T., Ohnishi M., Furuno K.: 1999. Anti- and pro-oxidative effects of flavonoids on metal-induced lipid hydroperoxide-dependent lipid peroxidation in cultured hepatocytes loaded with alpha-linolenic acid. *Free Radical Biol. Med.*, 27, 1313–1323.

- Szponar L., Sekuła W.: 1994. Owoce, warzywa i ich przetwory w zapobieganiu i zwalczaniu chorób na tle wadliwego żywienia. *Żyw. Człow. Met.*, 1, 64–78.
- Takos A.M., Ubi B.E., Robinson S.P., Walkee A.R.: 2006. Condensed tannin biosynthesis genes are regulated separately from other flavonoid biosynthesis genes in apple fruit skin. *Plant Sci.*, 170, 487–499.
- Tanaka Y., Tsuda S., Kusumi T.: 1998. Metabolic engineering to modify flower color. *Plant Cell. Physiol.* 39, 1119–1126.
- Terao J.: 1999. Dietary flavonoids as antioxidants *in vivo*: conjugated metabolites of (–)-epicatechin and quercetin participate in antioxidative defense in blood plasma. *J. Med. Invest.*, 46, 159–168.
- Theobald H., Bygren L.O., Carstensen J., Engfeldt P.: 2000. A moderate intake of wine is associated with reduced total mortality and reduced mortality from cardiovascular disease. *J. Stud. Alcohol.*, 61, 652–656.
- Tiitinen K.M., Hakala M.A., Kallio H.P.: 2005. Quality components of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) varieties. *J. Agric. Food Chem.* 53, 1692–1699.
- Troszyńska A., Honke J., Kozłowska H.: 2002. Naturalne substancje nieodżywcze (NSN) pochodzenia roślinnego jako składniki żywności funkcjonalnej. *Post. Fitoter.*, 2, 1–4.
- Tsao R.: 2007. Parameter extraction, separation, detection, and antioxidant activity of apple polyphenols. *Antioxidant measurement and application*, 20, 302–324.
- Tsao R., Yang R., Young C., Zhu H.: 2003. Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). *J. Agric. Food Chem.*, 51, 6347–6353.
- Van der Sluis A.A., Dekker M., de Jager A., Jongen W.: 2001. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 3606–3613.
- Veerkamp H.: 2006. Enzym special. *Fruit Processing*, 3–4, 3–14.
- Verhoeven D.T., Assen N., Goldbohm R.A., Dorant E., Van 't Veer P., Sturmans F., Hermus R.J., Van Den Brandt P.A.: 1997. Vitamins C and E, retinol, beta-carotene and dietary fibre in relation to breast cancer risk: a prospective cohort study. *Br. J. Cancer.*, 75, 149–155.
- Verhoeven M.E., Bovy A., Collins G., Muir S., Robinson S., de Vos C.H.R., Colliver S.: 2002. Increasing antioxidant levels in tomatoes through modification of the flavonoid biosynthetic pathway. *J. Exp. Bot.*, 377, 2099–2106.
- Versari A., Biesenbruch S., Barbanti D., Farnell P.J., Galassi S.: 1997. Effect of pectolic enzymes on selected phenolic compounds in strawberry and raspberry juices. *Food Res. Int.*, 30, 811–817.
- Vinson J., Su X., Zubik L., Bose P.: 2001. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 5315–5321.
- Visioli F., Borsani L., Galli C.: 2000. Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals. *Cardiovasc. Res.*, 47, 419–425.
- Vrhovsek U., Rigo A., Tonon D., Mattivi F.: 2004. Quantitation of polyphenols in different apple varieties. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 6532–6538.

- Vrieling A., Verhage B.A., van Duijnhoven F.J., Jenab M., Overvad K., Tjønneland A., Olsen A., Clavel-Chapelon F., Boutron-Ruault M.C., Kaaks R., Rohrmann S., Boeing H., Nöthlings U., Trichopoulou A., John T., Dimosthenes Z., Palli D., Sieri S., Mattiello A., Tumino R., Vineis P., van Gils C.H., Peeters P.H., Engeset D., Lund E., Rodríguez Suárez L., Jakszyn P., Larrañaga N., Sánchez M.J., Chirilaque M.D., Ardanaz E., Manjer J., Lindkvist B., Hallmans G., Ye W., Bingham S., Khaw K.T., Roddam A., Key T., Boffetta P., Duell E.J., Michaud D.S., Riboli E., Bueno-de-Mesquita H.B.: 2009. Fruit and vegetable consumption and pancreatic cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int. J. Cancer*, 124, 1926–1934.
- Walkowiak-Tomczak D., Czapski J.: 2007. Colour changes of a preparation from red cabbage during storage in a model system. *Food Chem.* 104, 709–714.
- Wang S.Y., Lin H.S.: 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 140–146.
- Whitaker J.R.: 1995. *Food enzymes: Structure and function*. Pod red. D.Wong. Chapman & Hall, London: 284–320.
- WHO 2003. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a joint WHO/FAO expert consultation, TRS 916. WHO, Geneva.
- Wicklund T., Rosenfeld H.J., Martinsen B.K., Sundfjör M.W., Lea P., Bruun T., Blomhoff R., Haffner K.: 2005. Antioxidant capacity and colour of strawberry jam as influenced by cultivar and storage conditions. *LWT – Food Sci. Technol.*, 38, 387–391.
- Will F., Bauckhage K., Dietrich H.: 2000. Apple pomace liquefaction with pectinases and cellulases: analytical data of the corresponding juices. *Eur. Food Res. Technol.*, 211, 291–297.
- Will F., Roth M., Olk M., Ludwig M., Dietrich H.: 2008. Processing and analytical characterization of pulp-enriched cloud apple juices. *LWT – Food Sci. Technol.*, 41, 2057–2063.
- Wojdyło A.: 2009. Badania własne. Dane nie publikowane.
- Wojdyło A., Oszmiański J.: 2007a. Influence of polyphenols isolated from *Scutellaria baicalensis* Georgi and *Crataegus oxyacantha* on the oxidative stability of cholesterol in butter stored in various conditions. *Eur. Food Res. Tech.*, 224, 635–642.
- Wojdyło A., Oszmiański J., Bober I. 2008a. The effect of addition of chokeberry, flowering quince fruits and rhubarb juice to strawberry jams on their polyphenols content, antioxidant activity and colour. *Eur. Food Res. Technol.*, 227, 1043–1051.
- Wojdyło A., Oszmiański J., Laskowski P.: 2008b. Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 6520–6530.
- Wojdyło A., Oszmiański J., Sokół-Lętowska A.: 2007b. Comparison of antioxidative and synergistic effects of skullcap (*Scutellaria baicalensis* Georgi) in sunflower oil-in-water emulsion during storage. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*.
- Wolfe K., Wu X., Liu R.H.: 2003. Antioxidant activity of apple peels. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 609–614.

- Wolski T., Karwat I.D., Najda A.: 2005. Kontaminacja i suplementacja żywności a zdrowie. *Postępy Fitoterapii*, 1–2, 35–41.
- Wu X.K., Cao G., Prior R.L.: 2002. Absorption and metabolism of anthocyanins in elderly woman after consumption of elderberry or blueberry. *J. Nutr.*, 132, 1865–1871.
- Wu Q.K., Koponen J.M., Mykkänen H.M., Törrönen A.R.: 2007. Berry phenolic extracts modulate the expression of p21^{WAF1} and Bax but not Bcl-2 in HT-29 colon cancer cells. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 1156–1163.
- Yao L.H., Jiang Y.M., Shi J., Tomas-Barberan F.A., Datta N., Singanusong R., Chen S.S.: 2004. Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 59, 113–122.
- Yen G.C., Chen H.Y.: 1996. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 43, 27–32.
- Zadernowski R., Szałkiwewicz M., Czaplicki S.: 2005. Skład chemiczny i wartość odżywcza owoców rokitnika (*Hippophae rhamnoides* L.). *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.*, 8–9, 56–58.
- Zhou S-H., Fang Z-X., Lü Y., Chen J-C., Liu D-H., Ye X-G.: 2009. Phenolics and antioxidant properties of bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) Pomace. *Food Chem.* 112, 394–399.
- Zhu Q.Y., Holt R.R., Lazarus S.A., Ensunsa J.L., Hammerstone J.F., Schmitz H.H., Keen C.L.: 2002. Stability of the flavan-3-ols epicatechin and catechin and related dimeric procyanidins derived from cocoa. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 1700–1705.
- Żegarska Z., Amarowicz R., Karamać M., Rafałowski R.: 1996. Antioxidative effect of rosemary ethanolic extract on butter. *Milchwissenschaft*, 51, 195–198.

The evaluation of quince fruit use in the production of preserves with high polyphenol content and antioxidant activity

S u m m a r y

Due to high biological activity and wide prevalence in the plant world, polyphenols are a highly valuable everyday ingredient of a diet. Growing interest of doctors and producers of food rich in biologically active compounds is a reflection of epidemiological research results conducted over last years that point to a close relation between consuming the food rich in polyphenols and other vitamin ingredients and preventing civilization diseases including cancer. As an effect, the market of pro-health products is one of the most active and energetically developing sectors of food industry. At the same time new resources rich in highly biologically active compounds are intensively searched for.

Fruit of quince (*Cydonia oblonga* Miller) whose widespread cultivation is possible in Polish climate conditions seems to be an answer for this demand. However, to introduce quince to fruit-growing cultivation aiming at production of highly pro-health food rich in polyphenols, the detailed research is necessary to evaluate the usefulness of quince fruit for this purpose.

Therefore, the aim of this paper is to evaluate the usefulness of quince fruit (*Cydonia oblonga* Miller) being a raw material for production of preserves containing high levels of polyphenols taking into account biological activity and chemical content as compared to apples.

Quince fruits were different from apples with regard to polyphenol compounds content both qualitatively and quantitatively. The following compounds have been found in quince: flavanols, phenolic acid and flavonols; whereas in apples apart from flavanols, phenolic acid and flavonols also dihydrochalcones and anthocyanins have been found.

The dominant polyphenol fraction of quince fruit are proanthocyanidins with high molecular weight that consist of (-)-epicatechin and (+)-catechin. Apples on the other hand have higher content of proanthocyanidin momers and dimers, i.e. (+)-catechin and (-)-epicatechin rather than their polymerised forms. Quince fruits are more prone to enzymic browning reaction than apples, due to higher activity of enzyme oxidating polyphenol compounds, i.e. polyphenoloxidase (PPO), and higher content of substrates of this enzyme, such as chlorogenic and neochlorogenic acid and the derivatives (+)-catechin and (-)-epicatechin. For this reason, quince fruits require intense protection against enzymic oxidation processes during technological processing. By adding the inhibitor of oxidation changes in the form of rhubarb juice in the amount of 2,5% and 5% during the

process of quince preserves production, the enzymic browning reaction was significantly more limited than after ascorbic acid had been used in the amount of 0,5 and 1,0 gkg⁻¹. In case of apples, both inhibitors reduced unfavourable changes connected with degradation of biologically active compounds, darkening of products and lowering of antioxidant activity.

Quince fruits may be used for juice production including cloudy juices as no significant differences in the efficiency of pressing process have been found for quince and apple cloudy juices. Quince juices had high content of polyphenolic compounds and high antioxidant activity; however, the required level of cloudiness for such products (≥ 250 NTU) and the endurance of cloudiness ($\geq 50\%$) have not been achieved, unlike for cloudy apple juices.

During the production of juices and mixed mashes the most favourable combination of quince fruits with other fruits (in the proportion of 80:20) taking into account biologically active compounds (polyphenols and vitamin C) was achieved in the mixture of quince and black currant, chokeberry, sea buckthorn and flowering quince. The addition of those fruits without the inhibitor of enzymatic oxidation reaction enriched the mixture in other phenol compounds (eg. anthocyanins) as well as protected the compounds present in quince fruits against oxidation. However, the significant increase in the content of biologically active compounds in the mixed products was obtained after the addition of enzymatic oxidation inhibitor was used. While storing those products (for 6 months at 4°C and 30°C), polyphenol compounds including proanthocyanins were more stable in quince products than apples what have been reflected in the higher antioxidant activity. The change of colour during juice and mash storage depended on the addition of inhibitor during its preparation (the value of L* parametre for samples with the addition of rhubarb juice was higher than for samples without it) and on storage conditions (the higher storage temperature the more intense the changes). From the customers point of view the products obtained from quince fruits had similar acceptability level of chosen quality markers (colour, aroma, taste, appearance, consistency) as apple products.

Polyphenol preparation obtained from quince fruits and apples were highly active to the chosen cancerous cells, human bladder carcinoma cell lines (HCV29T) and human breast cancer cell lines (MCF-7). This preparation in comparison to apples had higher anti-cancer activity.

Quince fruits can be an alternative resource to apples in the production of preserves with high polyphenol compounds content and high antioxidant activity and therefore can also be recommended as an ingredient of products the consumption of which has a great importance in the prevention of cancer.

Key words: quince, apples, polyphenols, proanthocyanins, antioxidant activity, anti-cancer activity, juices, purees

Ocena możliwości zastosowania owoców pigwy pospolitej w produkcji przetworów o wysokiej zawartości polifenoli i aktywności przeciwutleniającej

Streszczenie

Polifenole ze względu na wysoką aktywność biologiczną oraz duże rozpowszechnienie w świecie roślinnym stanowią cenny składnik codziennej diety. Rosnące zainteresowanie lekarzy i przetwórców żywnością o właściwościach prozdrowotnych jest odzwierciedleniem wyników badań epidemiologicznych z ostatnich lat, wskazujących na ścisły związek pomiędzy dietą a chorobami cywilizacyjnym, w tym o podłożu nowotworowym. W efekcie, rynek produktów o cechach prozdrowotnych jest jednym z najprężniej działających i rozwijających się sektorów gospodarki żywnościowej, jednocześnie intensywnie poszukującym nowych surowców o wysokiej aktywności biologicznej. Odpowiedzią na to zapotrzebowanie wydają się być owoce pigwy pospolitej (*Cydonia oblonga* Miller), której uprawa na szeroką skalę w warunkach klimatycznych Polski jest możliwa. Jednakże, aby wprowadzić pigwę do wielkotowarowej uprawy sadowniczej z przeznaczeniem na produkcję żywności o wysokich walorach prozdrowotnych, należy przeprowadzić szczegółowe badania oceniające przydatność tych owoców jako surowca do otrzymywania wyrobów o wysokiej zawartości związków polifenolowych.

W pracy przedstawiono wyniki związane z oceną przydatności owoców pigwy do produkcji przetworów owocowych, charakteryzujących się wysoką zawartością związków biologicznie aktywnych. Aktywność biologiczną owoców pigwy i otrzymanych z nich przetworów określono, badając związki polifenolowe i witaminę C. Wartość przetwórczą i odżywczą owoców pigwy oceniano poprzez porównanie z produktami otrzymanymi w tych samych warunkach z jabłek.

W badaniach wykazano, iż owoce pigwy w porównaniu z jabłkami różniły się składem związków polifenolowych zarówno pod względem jakościowym, jak i ilościowym. W owocach pigwy pospolitej stwierdzono obecność flawanoli, kwasów fenolowych i flawonoli, podczas gdy w jabłkach oprócz flawanoli, kwasów fenolowych i flawonoli występowały także dihydrochalkony. We frakcji proantocyjanidynowej owoców pigwy stwierdzono obecność dimerów, tetramerów i pentamerów o masie cząsteczkowej [M-H]⁻ m/z 577-1442, składających się z jednostek (-)epikatechiny oraz (+)katechiny, natomiast owoce jabłoni charakteryzowały się wyższą zawartością monomerów i dimerów procyanidyn tj. (+)katechiny oraz (-)epikatechiny niż ich form spolimeryzowanych. Obecność związków polifenolowych badanych owoców potwierdzono poprzez analizę

genów kodujących enzymy bezpośrednio zaangażowane w biosyntezę poszczególnych grup flawonoidów.

W pracy wykazano, iż owoce pigwy w porównaniu z jabłkami charakteryzowały się większą podatnością na reakcje brunatnienia enzymatycznego, wynikającą z wysokiej aktywności i zawartości polifenoloksydazy oraz wysoką zawartością substratów reakcji utleniania, tj. kwasu chlorogenowego i neochlorogenowego oraz pochodnych katechin. Przeprowadzone badania wykazały, iż dodatek inhibitora przemian utleniających w formie soku z rabarbaru w ilości 2,5 i 5% był skuteczniejszy niż dodatek kwasu askorbinyowego w dawce 0,5 i 1,0 gkg⁻¹, odmiennie niż dla jabłek.

Zastosowanie preparatów enzymatycznych do maceracji miazgi w produkcji soków z owoców pigwy istotnie wpłynęło na zwiększenie wydajności procesu, ekstraktywności związków polifenolowych do soku, w tym polimerów procyjanidyn, oraz wzrost aktywności przeciwutleniającej w stosunku do próbki kontrolnej. Przeprowadzone doświadczenia wykazały, iż z owoce pigwy mogą być wykorzystane do produkcji soków podobnie jak jabłka, jednakże w przypadku produkcji soków mętnych nie uzyskano wymaganego stopnia zmętnienia (≥ 250 NTU) dla tego typu produktów i trwałości stopnia zmętnienia ($\geq 50\%$), w odróżnieniu dla mętnych soków jabłkowych. Stwierdzono, iż najkorzystniejsze połączenie owoców pigwy z owocami innego gatunku w stosunku 80:20 ze względu na zawartość związków biologicznie aktywnych (polifenoli i witaminy C) uzyskano w mieszaninie z czarną porzeczką, aronią, rokitnikiem i pigwowcem. Dodatek tych owoców nie tylko wpłynął na wzrost zawartości polifenoli czy wprowadzenia odmiennej grupy związków (antocyjanów), ale także w wariancie bez dodatku soku z rabarbaru (0%R) działał jako inhibitor. Stwierdzono, iż niezależnie od przygotowanych produktów mieszanych soki i przeciery sporządzone z owoców pigwy charakteryzowały się wyższą zawartością polifenoli w stosunku do analogicznych przetworów z jabłek. W ocenie organoleptycznej produkty te charakteryzowały się podobną akceptowalnością wybranych wyróżników jakościowych (barwa, zapach, smak, wygląd, konsystencja) w porównaniu z przetworami z jabłek.

Wykazano, iż preparaty polifenolowe z owoców pigwy wykazywały aktywność przeciwnowotworową w stosunku do komórek linii ludzkiego nowotworu pęcherza moczowego (HCV29T) oraz gruczołu piersiowego (MCF-7) wyższą niż z jabłek, przy czym aktywność ta była zależna od badanego stężenia i typu linii komórkowej.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż badane owoce pigwy pospolitej uatrakcyjniają bazę surowcową dla przetwórstwa, a charakteryzując się dużą zawartością związków polifenolowych i wysoką aktywnością przeciwutleniającą, mogą być polecane jako składnik w produkcji żywności o właściwościach prozdrowotnych.

Słowa kluczowe: pigwa, jabłka, związki polifenolowe, proantocyjanidyny, aktywność przeciwutleniająca, aktywność przeciwnowotworowa, soki, przeciery