

Aktywność antyoksydacyjna alkoholowych ekstraktów męczennicy jadalnej (*Passiflora edulis* Sims.) i hurmy wschodniej (*Diospyros kaki* L.)

Antioxidant activity of alcoholic extracts of passion fruit (*Passiflora edulis* Sims.) and mopan persimmon (*Diospyros kaki* L.)

ANNA NOWAK^{1/}, JOANNA ZIELONKA-BRZEZICKA^{1/}, ADAM KLIMOWICZ^{1/}, DARIA WIRA^{1/}, DARIA WYSOCKA^{2/}, KAROLINA GRZESIAK^{2/}, EWELINA RĘDZIKOWSKA^{2/}

^{1/} Katedra i Zakład Chemii Kosmetycznej i Farmaceutycznej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

^{2/} Absolwentka Kosmetologii, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Wprowadzenie. Stres oksydacyjny spowodowany brakiem równowagi reaktywnych form tlenu (reactive oxygen species – ROS), jest ważną przyczyną większości chorób cywilizacyjnych. Owoce hurmy wschodniej (*Diospyros kaki* L.) oraz męczennicy jadalnej (*Passiflora edulis* Sims.) zawierają związki mineralne oraz witaminy i polifenole, należące do naturalnych antyoksydantów.

Cel. Określenie aktywności antyoksydacyjnej oraz ogólnej zawartości polifenoli ekstraktów ze skórki i miąższu, pozyskanego z męczennicy jadalnej oraz hurmy wschodniej.

Materiały i metody. Aktywność antyoksydacyjną oznaczano technikami DPPH i FRAP, natomiast ogólną zawartość polifenoli metodą Folin-Ciocalteu'a. Zastosowano następujące rozpuszczalniki: 70% (v/v) i 96% (v/v) etanol oraz 99,8% (v/v) metanol. Wyciągi były przygotowywane z wykorzystaniem łaźni ultradźwiękowej w czasie 15, 30 i 60 min.

Wyniki. Działanie przeciwutleniające owoców męczennicy jadalnej, mierzone metodą DPPH, mieściło się w granicach od $0,36 \pm 0,13$ do $1,90 \pm 0,03$ mg troloksu/g surowca, natomiast hurmy wschodniej od $0,47 \pm 0,03$ do $1,99 \pm 0,05$ mg troloksu/g surowca. W przypadku metody FRAP, aktywność antyoksydacyjna wahała się od $1,07 \pm 0,01$ do $5,85 \pm 0,22$ mg FeSO_4 /g surowca (owoce męczennicy) oraz od $1,10 \pm 0,20$ do $3,26 \pm 0,16$ mg FeSO_4 /g surowca (owoce hurmy). Najwyższą ogólną zawartością polifenoli charakteryzował się miąższ męczennicy, ekstrahowany w 96% (v/v) alkoholu etylowym w czasie 60 min ($2,58 \pm 0,05$ mg kwasu galusowego/g surowca).

Wnioski. Wyciągi alkoholowe z analizowanych owoców charakteryzowały się wysokim potencjałem antyoksydacyjnym, co sugeruje możliwość ich wykorzystania, jako cennego źródła przeciwutleniaczy.

Słowa kluczowe: owoce egzotyczne, aktywność antyoksydacyjna, ogólna zawartość polifenoli, ekstrakty alkoholowe, hurma wschodnia (*Diospyros kaki* L.), męczennica jadalna (*Passiflora edulis* Sims.)

Introduction. Oxidative stress, caused by a reactive oxygen species (ROS) imbalance, is a major ethiological and pathogenic factor in most civilization diseases. The fruits of Mopan Persimmon (*Diospyros kaki* L.) and Passion Fruit (*Passiflora edulis* Sims.) contain mineral compounds as well as vitamins and polyphenols, which are natural antioxidants.

Aim. The aim of the study was to evaluate the antioxidant activity and total polyphenol content of alcoholic extracts from the skins and pulp of passion fruit and mopan persimmon.

Materials & methods. Antioxidant activity was determined using the DPPH and FRAP methods, while total polyphenol content was measured by the Folin-Ciocalteu method. The following solvents were used: 70% (v/v) and 96% (v/v) ethanol as well as 99.8% (v/v) methanol. The extracts were prepared using an ultrasound-assisted extraction bath for 15, 30 and 60 minutes.

Results. The antioxidant activity of passion fruit extracts, evaluated by means of the DPPH method, ranged from 0.36 ± 0.13 to 1.90 ± 0.03 mg of trolox per gram of raw material, while those of mopan persimmon ranged from 0.47 ± 0.03 to 1.99 ± 0.05 mg of trolox per gram of raw material. In the FRAP method results, activity ranged from 1.07 ± 0.01 to 5.85 ± 0.22 mg of FeSO_4 per gram of raw material (for passion fruit) and from 1.10 ± 0.20 to 3.26 ± 0.16 mg of FeSO_4 per gram of raw material (for mopan persimmon). The highest total polyphenol content was discovered in passion fruit pulp extracted with a 96% (v/v) ethanol solvent for 60 min (2.58 ± 0.05 mg of gallic acid per gram of raw material).

Conclusions. The alcoholic extracts of the studied fruits showed a high antioxidant potential, which suggests that they could be used as a valuable source of antioxidants.

Key words: exotic fruits, antioxidant activity, total polyphenol content, alcoholic extracts, Mopan Persimmon (*Diospyros kaki* L.), Passion Fruit (*Passiflora edulis* Sims.)

© Probl Hig Epidemiol 2018, 99(4): 336-343

www.phie.pl

Nadesłano: 29.10.2018

Zakwalifikowano do druku: 20.11.2018

Adres do korespondencji / Address for correspondence

dr inż. n. rol. Anna Nowak
Katedra i Zakład Chemii Kosmetycznej i Farmaceutycznej
Pomorski Uniwersytet Medyczny
ul. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin
tel. 509 49 71 15, e-mail: anowak@pum.edu.pl

Wprowadzenie

Spożywane owoce są cennym źródłem składników niezbędnych w codziennej diecie. W piramidzie zdrowego odżywiania, owoce zajmują drugie miejsce zaraz po produktach zbożowych [1]. Prowadzone badania wykazują, iż już niewielkie modyfikacje w diecie, polegające na wprowadzeniu większej ilości owoców i warzyw, przy jednoczesnym zredukowaniu spożycia tłuszczów nasyconych, mogą znacząco wpływać na zmniejszenie częstości występowania chorób cywilizacyjnych [2-4]. Ponadto, spożywanie surowców naturalnych, w tym owoców zawierających antyoksydanty, odgrywa ważną rolę w walce ze stresem oksydacyjnym, prowadzącym do powstawania reaktywnych form tlenu (RFT; *reactive oxygen species* – ROS). Reaktywne formy tlenu mogą powodować utlenianie białek, tłuszczów oraz DNA, czego następstwem jest uszkodzenie komórek [5, 6]. Odpowiednia ilość dostarczanych antyoksydantów z zewnątrz może zmniejszyć ryzyko wielu chorób, m.in. sercowo-naczyniowych, nowotworowych, neurodegeneracyjnych, cukrzycy, a także osteoporozy [7-10].

W ostatnich latach obserwuje się większe zainteresowanie spożyciem owoców egzotycznych takich, jak kiwi, melony, arbuzy, ananasy, granaty, opuncje, papaje, jadalne kasztany czy figi [11]. Odsetek owoców południowych w konsumpcji owoców świeżych wzrósł z 22,8% w latach 1998-2002 do 30,41% w latach 2008-2012, natomiast spożywanie np. jabłek w tych latach, spadło z 48,69 do 36,99% [1]. Większe zainteresowanie owocami egzotycznymi spowodowane jest m.in. coraz łatwiejszym dostępem do nich na rynku krajowym, jak również poszukiwaniem przez konsumentów nowych, nieznanych dotychczas smaków, w celu urozmaicenia codziennej diety [12].

Męczennica jadalna, inaczej zwana marakuja (*Passiflora edulis Sims.*), należy do rodziny męczennicowatych i jest powszechnie uprawiana w krajach tropikalnych. Roślina ta pochodzi z Ameryki Południowej, głównie z Brazylii, Paragwaju i Argentyny. Stanowi krzew pnący, którego liście zostały przekształcone w wąsy czepne. Wysokość jej dochodzi do 15 m. Owocem są jajowate jagody o długości 4-10 cm, z licznymi nasionami, znajdującymi się w żółtej lub fioletowej skórce. Wykorzystywane są one często w przemyśle spożywczym ze względu na słodko-kwaśny, aromatyczny smak miąższu. Mogą być spożywane na surowo, jak również dodawane do soków, lodów, jogurtów. Świeże owoce charakteryzują się wysoką zawartością wit. C, β -karotenu, wapnia, potasu, żelaza oraz błonnika [13].

Hurma wschodnia, zwana potocznie owocem kaki, hebanowcem wschodnim, persymoną, chińską śliwką (*Diospyros kaki L.*) należy do rodziny hebanowatych (*Ebenaceae*) i jest drzewem występującym

w strefie międzyzwrotnikowej. Pochodzi z terenów Azji i Ameryki o tropikalnym i subtropikalnym klimacie. Jest to zimozielone drzewo, dorastające do 18 m wysokości, którego owocem jest mięsista, stożkowata lub spłaszczona jagoda o żółto-czerwonej skórce. Miąższ, po osiągnięciu dojrzałości konsumpcyjnej jest, ze względu na dużą zawartość cukrów, bardzo słodki. Ponadto owoce zawierają karoten, białka, witaminy z grupy B oraz związki fenolowe i mogą być spożywane na surowo albo w postaci przetworzonej [14, 15]. Zarówno męczennica jadalna, jak hurma wschodnia, ze względu na cenny skład, charakteryzują się wysokim działaniem przeciwutleniającym [15-17].

Cel

Ocena aktywności antyoksydacyjnej oraz ogólnej zawartości polifenoli wyciągów z miąższu i skórki dwóch owoców egzotycznych, tj. męczennicy jadalnej oraz hurmy wschodniej, z wykorzystaniem ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami w czasie 15, 30 i 60 min oraz dwóch rozpuszczalników: etanolu i metanolu.

Materiały i metody

2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl (DPPH), 2,4,6-tripirydylo-S-triazyna (TPTZ) oraz kwas 6-hydroksy-2,5,7,8-tetrametylochromano-2-karboksyłowy (troloks), pochodziły z firmy Sigma Aldrich, USA; kwas galusowy, odczynnik Folin-Ciocalteu, chlorek żelaza(III) heksahydrat i siarczan(VI) żelaza(II) heptahydrat – z firmy Merck, Darmstadt, Niemcy; lodowaty kwas octowy, kwas solny 36%, bezwodny octan sodu, alkohol metylowy, alkohol etylowy (wszystkie o czystości cz.d.a) pochodziły z firmy Chempur, Piaskary Śląskie.

Surowiec stanowiły skórka i miąższ pozyskane z męczennicy jadalnej i hurmy wschodniej. Owoce zostały zakupione w lokalnym hipermarkecie. Wyciągi przygotowano wykorzystując następujące rozpuszczalniki: 70 i 96% (v/v) etanol oraz stężony metanol. Badany surowiec po dodaniu jednego z podanych alkoholi, poddano działaniu ultradźwięków o częstotliwości 40 kHz w czasie 15, 30 i 60 min. Właściwości przeciwutleniające oceniono technikami DPPH oraz FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), natomiast ogólną zawartość polifenoli metodą Folin-Ciocalteu'a, jak opisano poprzednio [18-20]. Stosując metodę DPPH, jako wzorzec wykorzystano alkoholowy roztwór troloksu, przy czym aktywność przeciwrodnikową mierzono przy długości fali 517 nm. Dla poszczególnych ekstraktów obliczono równoważnik stężenia troloksu, jakim odpowiadały badane próby. Wyznaczono również procent zdolności do redukcji wolnych rodników RSA (*radical scavenging activity*), korzystając ze wzoru:

$$\%RSA = \frac{A_0 - A_{st}}{A_0} \times 100\%$$

gdzie A_p oznacza średnią absorbancję próbki badanej, A_0 – średnią absorbancję próbki kontrolnej.

W przypadku metody FRAP, analizowano zdolność badanych ekstraktów do redukcji jonów żelaza Fe^{3+} do Fe^{2+} , wykorzystując w tym przypadku kompleks żelazowo-2,4,6-tripirydylo-S-triazyny. Jako substancję wzorcową zastosowano roztwór siarczanu(VI) żelaza(II), zaś pomiarów dokonano przy długości fali 593 nm. Do oznaczenia ogólnej zawartości polifenoli wykorzystano odczynnik Folin-Ciocalteu, zmieniający w obecności polifenoli barwę na kolor niebieski, w wyniku odwrotnej reakcji redukcji molibdenu(VI) do molibdenu(V). W tej metodzie pomiaru, jako wzorzec zastosowano kwas galusowy (KG), natomiast oznaczeń dokonano przy długości fali 750 nm.

Analizy statystycznej wyników dokonano z wykorzystaniem programu Statistica 12. Wszystkie wyniki przedstawiono jako średnie arytmetyczne \pm odchylenie standardowe ($M \pm SD$). Wyznaczono współczynnik korelacji Pearsona pomiędzy wynikami uzyskanymi użytymi metodami pomiaru aktywności antyoksydacyjnej dla poszczególnych części surowca. W celu oceny różnic potencjału przeciwutleniającego wyciągów pomiędzy poszczególnymi rozpuszczalnikami zastosowanymi do ekstrakcji tego samego surowca, przeprowadzono również analizę statystyczną testem Wilcoxon.

Wyniki

Zarówno męczennica jadalna, jak i hurma wschodnia, charakteryzowały się znacznym potencjałem przeciwutleniającym. Wyższą aktywnością antyoksydacyjną w przypadku obydwu owoców charakteryzowała się skórka w porównaniu z miąższem, co można było zaobserwować przy zastosowaniu wszystkich metod pomiaru. Aktywność antyoksydacyjna oraz ogólna zawartość polifenoli męczennicy jadalnej była zróżnicowana w zależności, zarówno od zastosowanego rozpuszczalnika, jak i czasu ekstrakcji surowca. Stosując technikę DPPH, działanie przeciwutleniające tego owocu, mieściło się w granicach od $0,36 \pm 0,13$ dla miąższu ekstrahowanego w 70% alkoholu etylowym (30 min) do $1,90 \pm 0,03$ mg troloksu/g surowca w przypadku skórki, która była ekstrahowana w metanolu (60 min) (tab. I).

Wartości takie odpowiadały zdolności redukcji wolnych rodników odpowiednio $11,17 \pm 2,90$ oraz $42,85 \pm 0,63\%$ RSA. W przypadku hurmy wschodniej, aktywność antyoksydacyjna mierzona metodą DPPH wahała się od $0,47 \pm 0,03$ dla miąższu do $1,99 \pm 0,05$ mg troloksu/g surowca dla skórki – obie próbki ekstrahowano w 70% etanolu w czasie 60 min. Wartości te odpowiadały zdolności zmiatania wolnych

rodników odpowiednio $13,69 \pm 0,64$ i $47,97 \pm 1,26\%$ RSA (tab. II).

Alkoholowe wyciągi z owoców wykazywały zdolność do redukcji jonów żelaza Fe^{3+} do Fe^{2+} , którą oznaczono techniką FRAP. Podobnie, jak w poprzedniej metodzie pomiaru, zdecydowanie wyższymi wartościami w przypadku obydwu analizowanych owoców, charakteryzowała się skórka. U męczennicy zaobserwowano najwyższe wartości dla skórki ekstrahowanej w 96% etanolu przez 30 min, następnie w 70% etanolu przez 60 min oraz w alkoholu metylowym przez 60 min. W przypadku hurmy, ekstrakty metanolowe, zarówno z miąższu, jak i skórki, charakteryzowały się znacznie wyższą zdolnością do redukcji jonów żelaza – średnio $3,26 \pm 0,13$ mg $FeSO_4$ /g surowca, w porównaniu z ekstraktami przygotowanymi w alkoholu etylowym – najniższa wynosiła $1,10 \pm 0,20$ mg $FeSO_4$ /g surowca (tab. III).

Ogólna zawartość polifenoli dla męczennicy wahała się w granicach od $0,16 \pm 0,12$ mg KG/g surowca dla miąższu ekstrahowanego w 96% etanolu, w czasie 30 min do $2,58 \pm 0,05$ mg KG/g surowca dla ekstraktów przygotowywanych ze skórki w stężonym etanolu, w czasie 60 min. Hurma charakteryzowała się znacznie niższą ogólną zawartością polifenoli, mieszczącą się w granicach od $0,06 \pm 0,04$ mg KG/g surowca dla miąższu ekstrahowanego przez 60 min w 70% etanolu do $0,64 \pm 0,09$ i $0,64 \pm 0,03$ mg KG/g surowca dla skórki ekstrahowanej kolejno w 70% i 96% etanolu, w czasie 60 min. Zarówno w przypadku miąższu, jak i skórki tego owocu, ogólna zawartość polifenoli nie przekraczała 1 mg KG/g surowca (tab. IV).

Rycina 1 przedstawia wybrane dodatnie korelacje pomiędzy wynikami otrzymanymi poszczególnymi metodami oceny aktywności antyoksydacyjnej oraz pomiędzy ogólną zawartością polifenoli dla miąższu i skórki badanych surowców. W obydwu owocach, w niektórych przypadkach, wykazano wysoce istotną zależność pomiędzy wynikami uzyskanymi badanymi technikami pomiaru, współczynnik korelacji wahał się od $r=0,716$ do $r=0,804$.

Wykazano również znamienne różnice pomiędzy poszczególnymi rozpuszczalnikami zastosowanymi do ekstrakcji. Stosując metodę DPPH, zaobserwowano istotną różnicę pomiędzy ekstraktami przygotowywanymi w 70% etanolu i metanolu oraz pomiędzy 96% etanolem a metanolem ($p=0,028$), zastosowanymi jako rozpuszczalniki dla męczennicy. Analizując technikę pomiaru FRAP, stwierdzono znaczące różnice pomiędzy wynikami dla ekstraktów z hurmy w 70% etanolu i stężonym metanolu ($p=0,046$). Natomiast w przypadku metody Folin-Ciocalteu'a – obserwowano istotnie statystyczne różnice w aktywności pomiędzy ekstraktami sporządzonymi w 70% etanolu i stężonym metanolu, zarówno dla męczennicy ($p=0,027$), jak i hurmy ($p=0,046$).

Tabela I. Aktywność antyoksydacyjna (M±SD) ekstraktów alkoholowych oznaczona metodą DPPH wyrażona w równoważnikach troloksu (mg troloksu/g surowca)

Table I. The antioxidant activity (M±SD) of the alcoholic extracts determined by the DPPH method expressed as trolox equivalents (mg of trolox/g of raw material)

Czas ekstrakcji /Extraction time [min]	Męczennica jadalna /Passion			Hurma wschodnia /Persimmon			
	Rozpuszczalnik /Solvent			Rozpuszczalnik /Solvent			
	70%(v/v) EtOH	96%(v/v) EtOH	99.8%(v/v) MeOH	70%(v/v) EtOH	96%(v/v) EtOH	99.8%(v/v) MeOH	
miąższ /pulp	15	0,41±0,03	0,39±0,04	0,57±0,05	0,57±0,05	0,71±0,07	0,63±0,02
	30	0,36±0,13	0,40±0,01	0,54±0,10	0,58±0,02	0,58±0,07	0,95±0,02
	60	0,42±0,05	0,58±0,07	1,03±0,08	0,47±0,03	0,86±0,07	0,84±0,01
skórka /skin	15	0,78±0,03	0,89±0,08	1,29±0,09	1,08±0,09	0,77±0,16	1,95±0,05
	30	1,28±0,07	1,45±0,04	1,62±0,08	1,77±0,03	1,01±0,16	1,82±0,02
	60	1,72±0,03	1,03±0,05	1,90±0,03	1,99±0,05	0,65±0,06	1,96±0,07

Tabela II. Aktywność antyoksydacyjna (M±SD) alkoholowych ekstraktów uzyskanych metodą ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami, wyrażona jako %RSA

Table II. The antioxidant activity (M±SD) of the alcoholic extracts obtained by means of ultrasound-assisted extraction, expressed as %RSA

Czas ekstrakcji /Extraction time [min]	Męczennica jadalna /Passion			Hurma wschodnia /Persimmon			
	Rozpuszczalnik /Solvent			Rozpuszczalnik /Solvent			
	70%(v/v) EtOH	96%(v/v) EtOH	99.8%(v/v) MeOH	70%(v/v) EtOH	96%(v/v) EtOH	99.8%(v/v) MeOH	
miąższ /pulp	15	12,14±0,79	11,86±0,83	12,86±1,08	15,81±1,16	19,07±1,65	14,28±1,09
	30	11,17±2,90	12,11±0,11	12,29±2,18	16,02±0,55	16,14±1,66	21,48±0,44
	60	12,53±1,06	16,18±1,50	23,16±1,91	13,69±0,65	22,40±1,54	18,86±1,48
skórka /skin	15	20,68±0,62	23,21±1,77	29,15±1,95	27,45±2,00	20,45±3,60	43,95±0,45
	30	31,87±1,68	35,67±0,90	36,45±1,90	42,93±0,69	25,67±1,34	41,03±0,28
	60	41,70±0,68	26,28±1,20	42,89±0,63	47,98±1,40	17,74±1,62	44,32±1,26

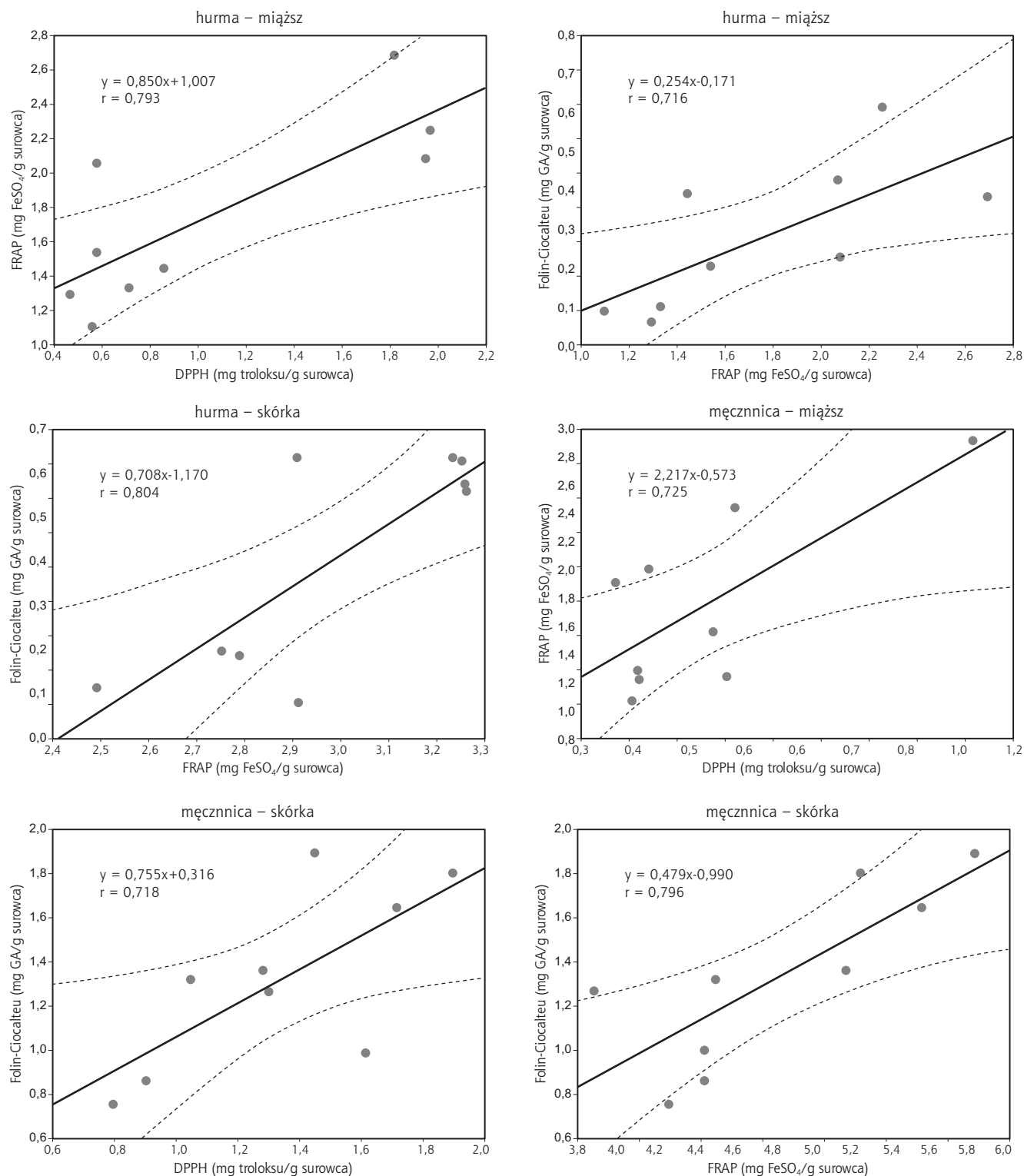
Tabela III. Zdolność do redukcji jonów żelaza(III) alkoholowych ekstraktów oznaczona metodą FRAP, wyrażona w mg FeSO₄/g surowca (M±SD)Table III. The ability to reduce iron(III) ions of alcoholic extracts determined by the FRAP method, expressed as mg FeSO₄/g of raw material (M±SD)

Czas ekstrakcji /Extraction time [min]	Męczennica jadalna /Passion			Hurma wschodnia /Persimmon			
	Rozpuszczalnik /Solvent			Rozpuszczalnik /Solvent			
	70%(v/v) EtOH	96%(v/v) EtOH	99.8%(v/v) MeOH	70%(v/v) EtOH	96%(v/v) EtOH	99.8%(v/v) MeOH	
miąższ /pulp	15	1,22±0,04	1,07±0,01	1,24±0,12	1,10±0,20	1,33±0,04	2,08±0,04
	30	1,91±0,07	1,28±0,03	1,55±0,04	1,54±0,13	2,06±0,15	2,68±0,16
	60	2,01±0,15	2,44±0,10	2,91±0,04	1,30±0,02	1,44±0,13	2,25±0,28
skórka /skin	15	4,26±0,21	4,46±0,21	3,88±0,09	2,76±0,10	2,50±0,10	3,26±0,16
	30	5,18±0,03	5,85±0,22	4,45±0,18	2,91±0,06	2,79±0,03	3,26±0,08
	60	5,58±0,49	4,50±0,08	5,26±0,16	3,23±0,07	2,91±0,04	3,25±0,15

Tabela IV. Ogólna zawartość polifenoli (M±SD) w ekstraktach alkoholowych oznaczona metodą Folin-Ciocalteu i wyrażona w mg kwasu galusowego/g surowca

Table IV. The total of polyphenols content (M±SD) of alcoholic extracts determined by the Folin-Ciocalteu method and expressed as mg gallic acid/g of raw material

Czas ekstrakcji /Extraction time [min]	Męczennica jadalna /Passion			Hurma wschodnia /Persimmon			
	Rozpuszczalnik /Solvent			Rozpuszczalnik /Solvent			
	70%(v/v) EtOH	96%(v/v) EtOH	99.8%(v/v) MeOH	70%(v/v) EtOH	96%(v/v) EtOH	99.8%(v/v) MeOH	
miąższ /pulp	15	0,76±0,09	0,87±0,09	0,17±0,09	0,09±0,01	0,09±0,01	0,22±0,03
	30	0,89±0,17	0,16±0,12	0,24±0,15	0,20±0,05	0,43±0,04	0,38±0,08
	60	1,63±0,13	1,32±0,11	1,48±0,12	0,06±0,04	0,39±0,07	0,61±0,05
skórka /skin	15	1,89±0,14	1,87±0,18	1,27±0,23	0,20±0,11	0,12±0,06	0,58±0,08
	30	1,36±0,06	1,89±0,08	1,00±0,20	0,09±0,01	0,19±0,05	0,56±0,03
	60	2,35 ±0,16	2,58±0,05	1,79±0,23	0,64±0,09	0,64±0,03	0,63±0,03



Ryc. 1. Korelacje pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną poszczególnych części owocu oznaczoną różnymi metodami

Fig. 1. Correlation between the antioxidant activity of particular parts of the fruit evaluated by means of various methods

Dyskusja

W Polsce w ostatnich latach, zauważa się wzrost zainteresowania spożyciem owoców egzotycznych, które są coraz łatwiej dostępne na naszym rynku [1]. Konsumenty poszukują nieznanych dotychczas smaków w celu urozmaicenia codziennej diety. Niektóre owoce egzotyczne są skarbnicą cennych składników biolo-

gicznie czynnych. Substancje takie odgrywają ważną rolę w hamowaniu wolnych rodników tlenowych, spowalniają procesy starzenia oraz rozwój chorób neurodegeneracyjnych, jednocześnie polepszając jakość życia [12]. Liczne badania potwierdziły działanie przeciwutleniające owoców egzotycznych takich, jak męczennica [13, 21-24], hurma [7, 15, 17, 25, 26],

liczi [27], acerola [12], granat [28-30], aktinidia chińska [31], ananas [32], mango czy gujawa [33].

W badaniach własnych wykazano aktywność antyoksydacyjną męczennicy jadalnej oraz hurmy wschodniej. Owoce te zawierają m.in. witaminy, związki mineralne czy β -karoten [12]. Bardzo cennymi składnikami są związki fenolowe, mające wpływ na właściwości przeciwutleniające tych owoców [15, 34]. Uzyskane przez nas wyniki dowodzą, iż owoce zarówno męczennicy, jak i hurmy, charakteryzują się wysokim potencjałem przeciwutleniającym, mierzonym metodą DPPH. Aktywność ta dla obydwu owoców, utrzymywała się na podobnym poziomie. W przypadku męczennicy była najwyższa dla skórki ekstrahowanej w metanolu w czasie 60 min (1,90 mg troloksu/g surowca), przy jednoczesnej zdolności do eliminacji wolnych rodników na poziomie 42,8% RSA. W przypadku hurmy, najwyższe wartości zaobserwowano również dla skórki, jednak przygotowywanej w 70% etanolu, w czasie 60 min (1,99±0,05 mg troloksu/g), co odpowiadało zdolności zmiatania wolnych rodników 48,0% RSA. Działanie przeciwutleniające skórki hurmy wykazali również Fukai i wsp. stosując metodę DPPH, którzy oznaczyli zdolność do zmiatania wolnych rodników w granicach od 9,8 do 99,8%, w zależności od zastosowanego rozpuszczalnika [36]. Z kolei Chen i wsp. badając owoce tej rośliny wykazali zdolność przeciwutleniającą wynoszącą 22,60 μ mol troloksu/g świeżego owocu [16], natomiast Vasco i wsp. – 0,5±0,3 μ mol troloksu/g świeżego owocu [35].

Często badanymi surowcami, pozyskanymi z męczennicy bądź hurmy były miąższ, a także skórka [7, 16, 25, 26, 35, 36]. Cennym surowcem, o wysokim potencjale antyoksydacyjnym, pochodzącym z obydwu owoców, mogą być również nasiona [7, 13]. Nasiona męczennicy charakteryzują się znaczną zawartością oleju (30%) o wysokiej zawartości niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych NNKT (87%), w tym głównie kwasu linolowego (73%) i oleinowego (13%), ponadto tokoferolu (499 mg/kg) oraz związków fenolowych (1,31 mg KG/kg). Malacrida i Jorge podają, iż zdolność nasion męczennicy do zmiatania wolnych rodników wynosi ok. 48% [13].

W badaniach własnych wykazano, iż zarówno skórka, jak i miąższ, charakteryzują się zdolnością do redukcji jonów żelaza Fe^{3+} do Fe^{2+} , mierzoną przy pomocy metody FRAP. Wartości te były zdecydowanie wyższe dla skórki pochodzącej z męczennicy w przypadku wszystkich zastosowanych rozpuszczalników, jak i czasów ekstrakcji. Aktywność antyoksydacyjna mierzona tą techniką wahała się w przypadku męczennicy w granicach od 1,07 mg $FeSO_4$ /g surowca dla miąższu przygotowywanego w 70% etanolu (15 min) do 5,85 mg $FeSO_4$ /g surowca dla skórki ekstrahowanej w stężonym etanolu (30 min). Natomiast hurma wy-

kazywała zdolności redukcyjne wynoszące od 1,10 mg $FeSO_4$ /g surowca dla miąższu ekstrahowanego w 70% etanolu (15 min) do 3,26 mg $FeSO_4$ /g surowca dla skórki ekstrahowanej w metanolu w ciągu 15 i 30 min. Saravanan i Parimelazhagan wykazali zdolność redukcyjną miąższu owoców *Passiflora ligularis* Juss. na poziomie od 20,51 mmol $Fe(II)$ /mg ekstraktu dla wyciągów ekstrahowanych w eterze naftowym do 43,06 mmol $Fe(II)$ /mg ekstraktu dla wyciągów acetonowych. Stwierdzili oni również, iż ekstrakty pozyskane z miąższu męczennicy wykazują wysoką zdolność chelatowania metali, wynoszącą nawet 134,53 mg kwasu wersenowego/g ekstraktu [23].

Związki fenolowe należą do fitoskładników o silnych właściwościach antyoksydacyjnych. Wielu badaczy odnotowało ścisłą zależność pomiędzy zawartością tych związków a aktywnością antyoksydacyjną w owocach egzotycznych [16, 25, 33, 35]. Potwierdzają to badania własne, w których wykazano wysoką korelację pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną a ogólną zawartością polifenoli, jak również wysoce istotną zależność pomiędzy metodami pomiaru DPPH i FRAP.

Aktywność przeciwutleniająca związków fenolowych związana jest z ich zdolnością do wychwytywania wolnych rodników, przeniesienia atomów wodoru, elektronów oraz chelatowania kationów metali [23]. Butt i wsp. sugerują, iż właśnie takie substancje, jak taniny i flawonoidy zawarte w owocach, są skutecznymi środkami zapobiegającymi różnym zaburzeniom spowodowanym niezdrowym stylem życia, powodującym w przyszłości wiele schorzeń degeneracyjnych związanych ze stresem oksydacyjnym [14]. W badaniach własnych najwyższą ogólną zawartość polifenoli wykazano w ekstrakcie z miąższu męczennicy, natomiast w przypadku hurmy – w skórce. W odniesieniu do męczennicy parametr ten był najwyższy w ekstraktach w stężonym etanolu w czasie 60 minut (2,58 mg KG/g surowca), natomiast u hurmy – w skórce ekstrahowanej w 70% i 96% etanolu w czasie 60 min (0,64 mg KG/g surowca). Vasco i wsp. oznaczyli ogólną zawartość polifenoli w owocach męczennicy na poziomie 60 mg KG/g świeżego owocu. Ponadto owoce te charakteryzowały się wysoką zawartością wit. C (30-40 mg/100 g świeżego owocu) [35]. Natomiast Saravanan i Parimelazhagan wykazali ogólną zawartość polifenoli w miąższu owoców *Passiflora ligularis* na poziomie od 102,40 mg KG/g ekstraktu w wyciągach przygotowanych w eterze naftowym do 640,70 mg KG/g ekstraktu w ekstraktach acetonowych. Autorzy ci wykazali również wysoką zawartość takich związków, jak taniny (38,60-234,30 mg KG/g ekstraktu) czy flawonoidów (178,00-387,33 mg rutyny/g ekstraktu) [23]. Gorinstein i wsp. porównywali natomiast zawartość polifenoli w różnych owocach egzotycznych, zakupionych w lokalnym markecie w Tajlandii: ananasie (*Ananas comosus*

Merr.), jabłku woskowym (*Eugenia* spp.), jagodzianie rambutan (*Nephelium lappaceum* L.), liczi chińskim (*Litchi chinensis* Sonn.), gujawie (*Psidium guajava* L.), mango (*Mangifera indica* L.) oraz hurmie wschodniej (*Diospyros kaki* L.). W przypadku tych analiz, średnia ogólna zawartość polifenoli w hurmie wynosiła 1,45 mg KG/100 g świeżej masy, natomiast pozostałe badane owoce posiadały je na poziomie od 1,34 dla ananasa do 6,25 mg KG/100 g świeżej masy dla mango [37]. Vasco i wsp. analizując 17 różnych owoców, często spożywanych w Ekwadorze, wyróżnili 3 najbardziej wartościowe, posiadające najwyższą aktywność antyoksydacyjną oraz ogólną zawartość polifenoli: czarna jeżyna (*Rubus glaucus* Berth.), czarna wiśnia (*Prunus salicina* Lindl.) oraz męczennica bananowa (*Passiflora mollissima* L.), których potencjał przeciwutleniający wynosił kolejno 41, 76 i 70 μ mol troloksu/g świeżej masy ekstraktu, natomiast ogólna zawartość polifenoli, odpowiednio 2167, 1494 i 1010 mg KG/100 g świeżego ekstraktu [35]. Zawartość polifenoli może być zróżnicowana w zależności od odmiany czy stanowiska wzrostu roślin. Zhang i wsp. zbadali ogólną zawartość polifenoli w owocach 13 odmian liczi chińskiego (*Litchi chinensis* Sonn.), przy czym ich zawartość była rozbieżna i mieściła się w granicach 101,5-259,2 mg KG/100 g surowca. Zróżnicowana była również w tych owocach zawartość flawonoidów (39,4-129,9 mg katechiny/100 g surowca) [27]. Natomiast Suzuki i wsp. donoszą, iż w 5 analizowanych odmianach hurmy wschodniej, ogólna zawartość polifenoli mieściła się w granicach 14,8-84,6 mg katechiny/100 g suchej masy owocu [26].

Zastosowany rozpuszczalnik może mieć również istotne znaczenie przy ekstrakcji substancji czynnych z surowca roślinnego. Bardzo ważną rolę odgrywa tutaj jego polarność, która może decydować o aktywności antyoksydacyjnej wyciągów [38, 39]. W badaniach własnych zastosowano dwa niskocząsteczkowe alkohole: etanol i metanol. Uzyskane wyniki nie pozwalają jednoznacznie wskazać przewagi któregoś z zastosowanych rozpuszczalników. Porównując obydwa alkohole, można jedynie zaobserwować nieco lepsze wyniki w przypadku metanolu, przede wszystkim dla metody FRAP, po zastosowaniu której ekstrakty z hurmy, przygotowane w tym alkoholu, wykazują zdecydowanie wyższe wartości. Fukai i wsp. wykazali

najwyższą aktywność antyoksydacyjną skórki hurmy po ekstrakowaniu jej metanolem. Autorzy ci stwierdzili, iż korzystniejsze jest zastosowanie metanolu z wodą (1:1) niż samego alkoholu, bowiem w przypadku roztworów w tym rozpuszczalniku procent zmiatania wolnego rodnika wynosił 99,2%, natomiast w stężonym metanolu 89,8% [36]. Odmienne wyniki uzyskali Jang i wsp., którzy nie stwierdzili różnic po zastosowaniu metanolu i etanolu jako rozpuszczalnika przy ocenie ogólnej zawartości polifenoli z pestek i miąższu hurmy, natomiast w przypadku analizy aktywności antyoksydacyjnej, zdecydowanie lepsze okazały się wyciągi etanolowe [7]. Saravanan i Parimelazhagan sugerują, iż najlepszym rozpuszczalnikiem do ekstrakcji owoców męczennicy jest zdecydowanie aceton, którego wyciągi wykazywały nawet 5-krotnie wyższą ogólną zawartość polifenoli w porównaniu z innymi rozpuszczalnikami, jak: eter naftowy, chloroform czy metanol. Wyciągi takie charakteryzowały się również wyższą zdolnością redukcyjną, mierzoną metodą FRAP [23].

Wnioski

1. Zarówno ekstrakty alkoholowe z męczennicy jadalnej, jak i z hurmy wschodniej, charakteryzowały się aktywnością antyoksydacyjną. W przypadku obydwu badanych owoców, bardziej wartościowa okazała się skórka w porównaniu z miąższem.
2. Czas ekstrakcji wywiera wpływ na potencjał antyoksydacyjny ekstraktów; najwyższe działanie przeciwutleniające wykazywały wyciągi z owoców ekstrahowanych przez 60 min.
3. Wykazano w większości przypadków istotną zależność pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną a ogólną zawartością polifenoli.
4. Nie można wskazać jednoznacznie przewagi któregoś z zastosowanych rozpuszczalników, jednakże dla hurmy wschodniej stwierdzono zdecydowanie wyższe zdolności redukcyjne dla ekstraktów metanolowych, oznaczonych metodą FRAP.

Źródło finansowania: Praca nie jest finansowana z żadnego źródła.

Konflikt interesów: Autorzy deklarują brak konfliktu interesów.

Piśmiennictwo / References

1. Jąder K. Zmiany w konsumpcji owoców i ich przetworów w Polsce w latach 1998-2012. *Rocz Nauk Ekon Rol Rozw Obsz Wiej* 2014, 101(3): 98-106.
2. Magrone T, Perez de Heredia F, Jirillo E, et al. Functional foods and nutraceuticals as therapeutic tools for the treatment of diet-related diseases. *Can J Physiol Pharmacol* 2013, 91(6): 387-396.
3. Gorinstein S, Caspi A, Libman I, et al. Preventive effects of diets supplemented with sweetie fruits in hypercholesterolemic patients suffering from coronary artery disease. *Prev Med* 2004, 38(6): 841-847.
4. Śliż D, Zgliczyński WS, Szeligowska J i wsp. Modyfikacja zwyczajów żywieniowych w prewencji chorób cywilizacyjnych. *Postep Nauk Med* 2016, 5: 344-349.

5. Nowak A, Zielonka J, Turek M, Klimowicz A. Wpływ przeciwutleniaczy zawartych w owocach na proces fotostarzenia się skóry. *Postep Fitoter* 2014, 15(2): 94-99.
6. Kulbacka J, Saczko J, Chwiłkowska A. Stres oksydacyjny w procesach uszkodzenia komórek. *Pol Merk Lek* 2009, 27(157): 44-47.
7. Jang IC, Jo EK, Bae MS, et al. Antioxidant and antigenotoxic activities of different parts of persimmon (*Diospyros kaki* cv. Fuyu) fruit. *J Med Plant Res* 2010, 4(2): 155-160.
8. Ścibior-Bentkowska D, Czczot H. Komórki nowotworowe a stres oksydacyjny. *Postep Hig Med Dosw* 2009, 63: 58-72.
9. Zabłocka A, Janusz M. Dwa oblicza wolnych rodników tlenowych. *Postep Hig Med Dosw* 2008, 62: 118-124
10. Wójcicka G, Bełtowski J, Jamroz A. Stres oksydacyjny w nadciśnieniu tętniczym. *Postep Hig Med Dosw* 2004, 58: 183-193.
11. Strojewska I. Ceny i spożycie. Rynek owoców i warzyw – stan i perspektywy 2016, 48: 27-30.
12. Cieślak E, Gębusia A. Charakterystyka właściwości prozdrowotnych owoców roślin egzotycznych. *Postep Fitoter* 2012, 13(2): 93-100.
13. Malacrida CR, Jorge N. Yellow passion fruit seed oil (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*): physical and chemical characteristics. *Braz Arch Biol Technol* 2012, 55(1): 127-134.
14. Butt MS, Sultan Mt, Aziz M, et al. Persimmon (*Diospyros kaki*) fruit: hidden phytochemicals and health claims. *EXCLI J* 2015, 14: 542-561.
15. Chelpiński P, Yordanov A, Dobrowolska A i wsp. Jakość owoców pięciu odmian persymony (*Diospyros kaki*). *Folia Pomer Univ Technol Stetin Agric Aliment Pisc Zootech* 2013, 302(25): 9-16.
16. Chen XN, Fan JF, Yue X, et al. Radical scavenging activity and phenolic compounds in persimmon (*Diospyros kaki* L. cv. Mopan). *J Food Sci* 2008, 73(1): C24-C28.
17. Han J, Kang S, Choue R, et al. Free radical scavenging effect of *Diospyros kaki*, *Laminaria japonica* and *Undaria pinnatifida*. *Fitoterapia* 2002, 73(7-8): 710-712.
18. Muzykiewicz A, Zielonka-Brzezicka J, Klimowicz A, Florkowska K. Jarzab pospolity (*Sorbus aucuparia* L.) jako źródło składników o potencjalnym działaniu antyoksydacyjnym – porównanie właściwości przeciwutleniających ekstraktów z liści, kwiatów i owoców. *Probl Hig Epidemiol* 2017, 98(2): 125-132.
19. Zielonka-Brzezicka J, Nowak A, Zielińska M, Klimowicz A. Porównanie właściwości przeciwutleniających wybranych części maliny właściwej (*Rubus idaeus*) i jeżyny europejskiej (*Rubus fruticosus*). *Pomeranian J Life Sci* 2016, 62(4): 52-59.
20. Nowak A, Zielonka-Brzezicka J, Pechaiko D i wsp. Ocena właściwości antyoksydacyjnej liści *Ginkgo biloba* L. po zakończeniu wegetacji. *Pomeranian J Life Sci* 2017, 63(1): 24-30.
21. Pineli Lde L, Rodrigues Jda S, Costa AM, et al. Antioxidants and sensory properties of the infusions of wild passiflora from Brazilian savannah: potential as functional beverages. *J Sci Food Agric* 2015, 95(7): 1500-1506.
22. Simirgiotis MJ, Schmeda-Hirschmann G, Bórquez J, Kennelly EJ. The *Passiflora tripartita* (Banana Passion) fruit: a source of bioactive flavonoid C-glycosides isolated by HSCCC and characterized by HPLC-DAD-ESI/MS/MS. *Molecules* 2013, 18(2): 1672-1692.
23. Saravanan S, Parimelazhagan T. In vitro antioxidant, antimicrobial and anti-diabetic properties of polyphenols of *Passiflora ligularis* Juss. fruit pulp. *Food Sci Human Wellness* 2014, 3(2): 56-64.
24. Tommonaro G, Rodríguez CS, Santillana M, et al. Chemical composition and biotechnological properties of a polysaccharide from the peels and antioxidative content from the pulp of *Passiflora ligularis* fruits. *J Agr Food Chem* 2007, 55(18): 7427-7433.
25. Lee JH, Lee YB, Seo WD, et al. Comparative studies of antioxidant activities and nutritional constituents of persimmon juice (*Diospyros kaki* L. cv. Gapjubaekmok). *Prev Nutr Food Sci* 2012, 17(2): 141-151.
26. Suzuki T, Someya S, Hu F, Tanokura M. Comparative study of catechin compositions in five Japanese persimmons (*Diospyros kaki*). *Food Chem* 2005, 93(1): 149-152.
27. Zhang R, Zeng Q, Deng Y, et al. Phenolic profiles and antioxidant activity of litchi pulp of different cultivars cultivated in Southern China. *Food Chem* 2013, 136(3-4): 1169-1176.
28. Bassiri-Jahromi S. *Punica granatum* (Pomegranate) activity in health promotion and cancer prevention. *Oncol Rev* 2018, 12(1): 345.
29. Dżugan M, Wesołowska M, Zagała G, Puchalski C. The comparison of the physicochemical parameters and antioxidant activity of homemade and commercial pomegranate juices. *Acta Sci Pol Technol Aliment* 2018, 17(1): 59-68.
30. Cano-Lamadrid M, Marhuenda-Egea FC, Hernández F, et al. Biological activity of conventional and organic pomegranate juices: antioxidant and antimutagenic potential. *Plant Foods Hum Nutr* 2016, 71(4): 375-380.
31. Zielonka-Brzezicka J, Nowak A, Klimowicz A i wsp. Aktinidia chińska jako źródło prozdrowotnych antyoksydantów. *Probl Hig Epidemiol* 2018, 99(3): 238-244.
32. Zielonka-Brzezicka J, Nowak A, Klimowicz A i wsp. Ocena aktywności antyoksydacyjnej ananasa jadalnego (*Ananas comosus*). *Pomeranian J Life Sci* 2018, 64(3): 132-138.
33. Martínez R, Torres P, Meneses MA, et al. Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chem* 2012, 135(3): 1520-1526.
34. Bendini A, Cerretani L, Pizzolante L, et al. Phenol content related to antioxidant and antimicrobial activities of *Passiflora* spp. extracts. *Eur Food Res Technol* 2006, 223(1): 102-109.
35. Vasco C, Ruales J, Kamal-Eldin A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chem* 2008, 111(4): 816-823.
36. Fukai S, Tanimoto S, Maeda A, et al. Pharmacological activity of compounds extracted from persimmon peel (*Diospyros kaki* THUNB.). *J Oleo Sci* 2009, 58(4): 231-219.
37. Gorinstein S, Zenser M, Haruenkit R, et al. Comparative content of total polyphenols and dietary fiber in tropical fruits and persimmon. *J Nutr Biochem* 1999, 10(6): 367-371.
38. Wianowska D, Wiśniewski M. Simplified procedure of silymarin extraction from *Silybum marianum* L. Gaertner. *J Chromatogr Sci* 2015, 53(2): 366-372.
39. Gawlik-Dziki U, Kowalczyk D. Wpływ warunków ekstrakcji na aktywność przeciwutleniającą ekstraktów z kiełków rzodkiewki. *Żywn Nauk Technol Jakosc* 2007, 1(50): 132-139.