



## EFFECTIVE ANTIOXIDANT PHENOLIC COMPOUNDS IN SELECTED VARIETIES OF APPLES

*Dominika Bončíková, Tomáš Tóth, Ján Tomáš, Dalaram Suleiman, Juraj Tóth, Marek Slávik*

### ABSTRACT

Polyphenolic compounds are effective antioxidant regarding their ability to react with free radicals of fatty acid and oxygen (free radical scavenging effect). One of the richest sources of polyphenolic compounds in human nutrition are apples (*Malus Mill.*). Our work was focused on determination of total polyphenols contents and antioxidant activity and evaluate the presence of dislocation active antioxidant components in four of selected varieties of apples Idared, Jonagold, Pinova, Topaz (peel extract and pulp extract). The total contents of phenolic compounds, determined according to the Folin-Ciocalteu reagent spectrophotometric by Lachman and antioxidant activity was measured using a free radical used in this study was 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Average content of total polyphenols in selected varieties of apples was 622,67 mg.kg<sup>-1</sup> (peel extract) and 568,7mg.kg<sup>-1</sup> (pulp extract) after harvesting. Relationships between content of total polyphenols and antioxidant activity is affected by varietal differences

**Keywords:** apples, antioxidant activity, total polyphenols

### ÚVOD

Výroba a spotreba ovocia i zeleniny na Slovensku je už roky nízka a nič na tom nezmenil ani vstupom SR do EÚ v roku 2004. Obyvatelia Slovenska dokonca skonzumujú ročne menej ovocia a zeleniny ako v roku 1989, hoci ponuka predovšetkým čerstvých vitamínov sa neporovnateľne zlepšila. Za posledných 17 rokov klesla priemerná ročná spotreba ovocia z 54 na 51 kg. Za zníženou spotrebou sú predovšetkým zlé stravovacie návyky a žiaľ aj nedostatočný príjem finančných prostriedkov obyvateľstva. Pre mnohých ľudí je ovocie a zelenina po finlačnej stránke drahou komoditou (Euro Info, 2010).

Zásadne treba konzumovať čo najpestrejší sortiment ovocia i zeleniny, najmä preto, že v jednotlivých druhoch tak ovocia ako i zeleniny je rozdielne zloženie špecificky účinných látok (Botko, 2009).

Jablká patria medzi najžiadanejšie druhy ovocia na Slovensku podieľajúce sa na harmonickej výžive obyvateľstva a sú významným zdrojom látok so silnou antioxidantnou aktivitou

Jablká sa zaraďujú do čeľade *Rosaceae* (Ružovité), podčeľade *Pomoideae* (Jabloňové) a tvoria samostatný rod *Malus* s väčším počtom druhov. Jablká a hlavne jablkové šupky sú významným zdrojom látok so silnou antioxidantnou aktivitou. Tieto účinky sú pripisované hlavne polyfenolovým látkam (Boyer a Liu, 2004).

Polyfenoly zaujímali vedcov pre ich esenciálne funkcie vo fyziológii rastlín (rast, reprodukcia, ochrana pred patogénmi, predátormi). Neskôr sa zistil ich antioxidantný potenciál, ktorý môže byť väčší ako pri niektorých vitamínoch (Nijveldt, 2000; Manach et al., 2004), ich využiteľnosť v ľudskom organizme a možná úloha v

prevencii ochorení spojených s oxidačným stresom (kardiovaskulárne, nádorové a neurodegeneratívne ochorenia) (Mandelová, 2005).

Obsah fenolických látok v prírodných materiáloch je pomerne variabilný v závislosti od jednotlivých druhov plodín, ale aj ich odrôd. Ich obsah je podmienený geneticky a ovplyvňovaný pedoklimatickými alebo agronomickými environmentálnymi podmienkami. Zmeny obsahu fenolických látok do značnej miery indikuje aj klíčenie, stupeň zrelosti, ale i technické spracovanie a skladovanie rastlinných produktov (Drewnowski, Gomez, 2000)

Rastlinné fenolové zlúčeniny reprezentujú veľmi pestrú skupinu organických zlúčenín, veľmi heterogénnu z hľadiska chemickej štruktúry. Vyskytujú sa často vo forme monomérov viazaných so sacharidmi. Chemické spojenie fenolových zlúčenín s cukrami je vo forme glykozidov, kde cukrovú zložku tvoria jednoduché cukry, disacharidy, resp. oligosacharidy. Necukrovú zložku (glykón) tvoria fenolové zlúčeniny (Vollmannová, Tomáš, Tóth, 2006).

Významnou skupinou polyfenolových látok v jablkách sú aj flavonoidy, pričom Alonso-Salces (2004), zistil, že vzorka testovaných jabĺk obsahovala šesť rôznych glykozidov kvercetínu a a šesť rôznych glykozidov izoramnetínu. Kvercetín a izoramnetín vykazujú antioxidantnú, protirakovinovú, protizápalovú (Boyer et al., 2005), antimikrobiálnu aktivitu dokázanú in vitro a in vivo.

Ovocie je v porovnaní so zeleninou na polyfenoly bohatšie, pričom fenolové kyseliny predstavujú 1/3 z celkového príjmu polyfenolov, flavonoidy zvyšné 2/3. Ľudia konzumujúci pestrú stravu by mali prijímať viac než

1g fenolických kyselín a flavonoidov denne (**Mandelová, 2005**).

V jablkách sa nachádzajú hlavne dva deriváty kyseliny benzoovej, a to kyselina protokatechuová a kyselina gálová vyskytujúca sa vo forme hydrolizovateľných tanínov (galotanínov a elagitaníny), v skupine polyfenolov jablák prevažujú flavonoly (kvercetín, kemferol), katechíny a prokyanidíny, z fenolických kyselín je to kyselina hydroxyškoricová (derivátom je kyselina chlorogénová) (**Rosa, 2005**).

Biologické vlastnosti týchto látok nie sú doposiaľ dostatočne preskúmané, no i napriek tomu už boli publikované antioxidačné, protizápalové účinky galotanínu inhibíciou exprese chymikínov a cytokínov na molekulovej i molekulárno-biologickej úrovni antikarcinogénne a hypolipidemické účinky inhibíciou skvalénovej dráhy v mieste syntézy farenzylu (**Dury-Burn et al., 2007**).

Antioxidačná sila potravín je výrazom ich schopnosti ako brániť ľudský organizmus proti pôsobeniu voľných radikálov a zabrániť vzniku degeneratívnych ochorení, ktoré vyplývajú z pretrvávajúceho pôsobenia oxidačného stresu (**Majo et al., 2008**).

Na celkovej antioxidačnej kapacite organizmu sa uplatňujú kyselina močová asi 50 %, plazmatické bielkoviny 12 %, vitamín C 24 %, vitamín E 7 % a ostatné antioxidanty 7 %.

Z pohľadu výživy sú významné najmä vitamíny a stopové prvky (**Béderová, 2000**).

Veľkú pozornosť pútajú najmä prírodné antioxidanty obsiahnuté v ovocí, pretože účinne chránia pred voľnými radikálmi a považujú sa za menej toxické ako syntetické antioxidanty, ako napríklad butylhydroxyvanizol (BHA) a butylovaný hydroxytoluén (BHT), ktoré sú podozrivé z karcinogenity a spôsobujú poškodenie pečene (**Ratnam, Ankole et al., 2006**). Taktiež majú širokú škálu použitia v prírodných aditívach v potravinách a v kozmetike (**Jayaprakasha, 2007**).

Zvýšená konzumácia potravín bohatých na prírodné antioxidanty, znižuje riziko výskytu civilizačných ochorení (**Perez-Jimenez, Saura-Calixto, 2005**).

Na rozdiel od vitamínov a minerálnych látok v súčasnej dobe neexistuje pre spotrebiteľa žiadne odporúčanie od zodpovedných orgánov, čo sa týka konzumovaného množstva a druhu antioxidantov v dennej strave (**Kopáčová, 2006**).

Štúdie potvrdili, že 100 g čerstvých jablák má antioxidačnú aktivitu ekvivalentnú 1500 mg vitamínu C (**Boyer, 2006**).

Koncentrácie fenolových antioxidantov sú citlivé na enviromentálne podmienky pred a po zbere (**Kalt et al., 1999**).

Antioxidačnú aktivitu ovplyvňuje viacero faktorov, ako je skladovanie, prítomnosť iných výživných látok a vzájomné interakcie medzi nimi (**Cardelle-Cobas, 2005**).

### MATERIÁL A METODIKA

Vzorky rastlinného materiálu sme pre potreby tohto experimentu zberali v štádiu plnej zrelosti. Odberným miestom bolo poľnohospodárske družstvo, Nové Zámky. Odoberané vzorky sme analyzovali jednotlivými zvolenými metodikami v časovom rozmedzí troch mesiacov. Na získanie extraktu z dužiny, ale i zo šúp vybraných odrôd

jablák bol použitý 80 %-ný etanol, pre potreby čistého extraktu sa používal filtračný papier.

Obsah celkových polyfenolov vo vzorkách sme stanovili štandardnou, všeobecne používanou spektrofotometrickou metódou podľa **Lachmanna (2003)** s použitím Folin-Ciocalteuovho skúmadla. Priemerný obsah polyfenolových látok vo vzorke sme získali zo šiestich paralelných stanovení.

Stanovenie celkovej antioxidačnej aktivity (TAC) sme uskutočnili pomocou radikálu DPPH. Zlúčenina DPPH (2,2-difenyyl-1-pikrylhydrazyl) sa v roztoku prevedie na svoju radikálovú formu, ktorá je relatívne stabilná a zároveň farebná. Po pridaní vzorky sa v prítomnosti redukčných faktorov radikál zžasa a tým odfarbuje. Táto zmena sa hodnotí spektrofotometricky (**Brand-Williams, 1995**).

### VÝSLEDKY

Najnižšiu antioxidačnú aktivitu zistenú z analyzovaných odrôd po zbere má odroda Topaz (42,59 %) v extrakte zo šúp jablák, ako aj pri extrakte z dužiny (38,68 %). Ako je z obrázku č. 1 a č. 2 zrejme, hodnoty antioxidačnej aktivity zistené po zbere a neskôr počas jednotlivých fáz skladovania vo vybraných odrodách jablák v extrakte zo šúp, ako i v extrakte z dužiny sa rapídne nemenili ani u jednej z vybraných odrôd jablák, pomerne stále a vysoké hodnoty antioxidačnej aktivity boli zaznamenané u odrody Jonagold, kde najvyššia nameraná hodnota antioxidačnej aktivity bola (85,9 %) (extrakt šupy), rovnako silnú antioxidačnú aktivitu sme zaznamenali i v odrode Pinova (84,59 %) (extrakt šupy), rozdiel medzi najvyššou a najnižšou nameranou hodnotou tejto odrody počas jednotlivých fáz skladovania bol len 1,01 %. V odrode Idared v extrakte zo šúp najvyššia hodnota antioxidačnej aktivity bola (82,43 %) a najnižšia hodnota antioxidačnej aktivity v tejto odrode predstavovala (80,20 %).

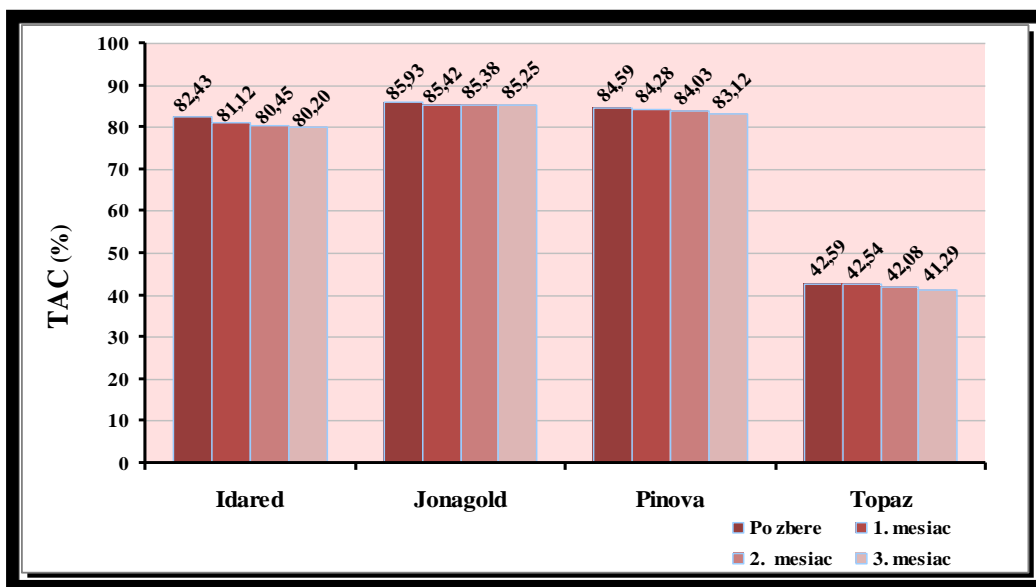
V odrodách jablák v rámci extraktu zo šúp jablák sa prejavil pokles antioxidačnej aktivity v závislosti od doby skladovania, pričom môžeme skonštatovať, že išlo však o minimálne zmeny hodnôt antioxidačnej aktivity. V porovnaní s hodnotami antioxidačnej aktivity nameranými v extrakte zo šúp jablák sú zistené hodnoty antioxidačnej aktivity merané v extrakte z dužiny jablák nižšie, a to vo všetkých odrodách, pričom v odrode Jonagold bol zaznamenaný najvýraznejší pokles antioxidačnej aktivity, kde hodnoty antioxidačnej aktivity namerané v extrakte zo šúp jablák sa pohybovali v rozmedzí od 80,59 % po zbere až po 80,27 % po treťom mesiaci skladovania, naproti tomu tá istá odroda vykazovala po zanalyzovaní extraktu z dužiny jablák hodnoty antioxidačnej aktivity od 58,43 % po zbere až po 53,98 % v treťom mesiaci skladovania. Z obrázku č. 3 a obrázku č. 4 je zrejme, že najvyšší obsah celkových polyfenolov po zbere bol nameraný v extrakte zo šúp jablák pri odrode Topaz a to 842,2 mg.kg<sup>-1</sup>. Naopak, najnižší obsah celkových polyfenolov zistený po zbere v extrakte zo šúp bol v odrode Idared 496,7 mg.kg<sup>-1</sup>. Priemerný obsah celkových polyfenolov v extrakte zo šúp jablák po zbere vo vybraných odrodách jablák predstavoval 585,63 mg.kg<sup>-1</sup>. Podľa **Leja et al. (2003)**, **Napolatino et al. (2004)** polyfenoly prítomné v jablčnom extrakte sú zodpovedné za antioxidačnú aktivitu, nami zistené výsledky však túto skutočnosť nepotvrdzujú, príkladom toho je aj odroda

## potravinárstvo

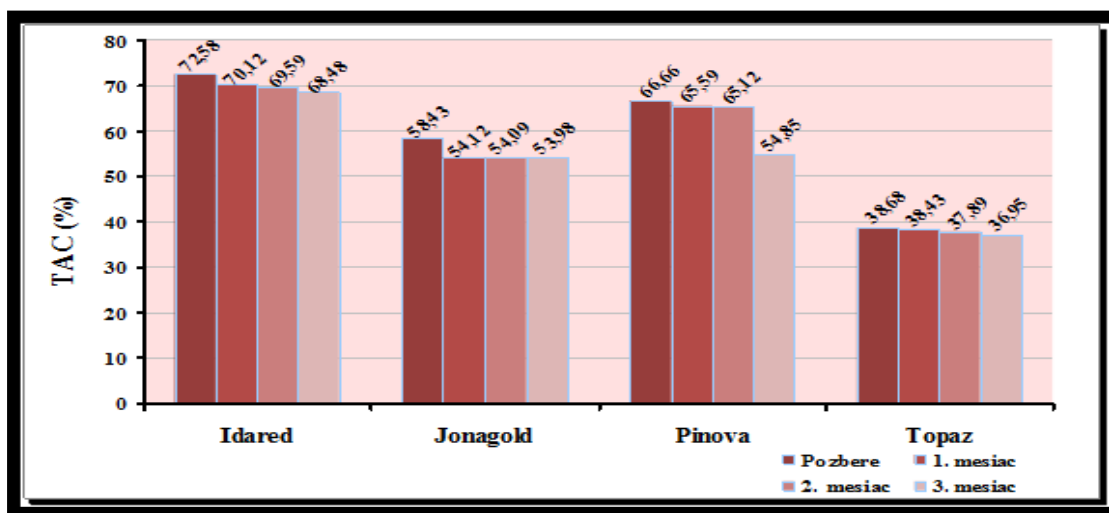
Topaz, ktorej hodnota antioxidačnej aktivity nameraná po zbere bola zo všetkých vybraných odrôd jabĺk najnižšia, predstavovala (42,59 %), ale obsah celkových polyfenolov nameraný v tom istom extrakte zo šúp jabĺk vykazoval najvyššiu hodnotu celkových polyfenolov vo všetkých vybraných odrodách jabĺk, a to 842,2 mg.kg<sup>-1</sup>.

Najvyšší obsah celkových polyfenolov meraných po zbere v extrakte z dužiny jabĺk sme zistili v odrode Topaz

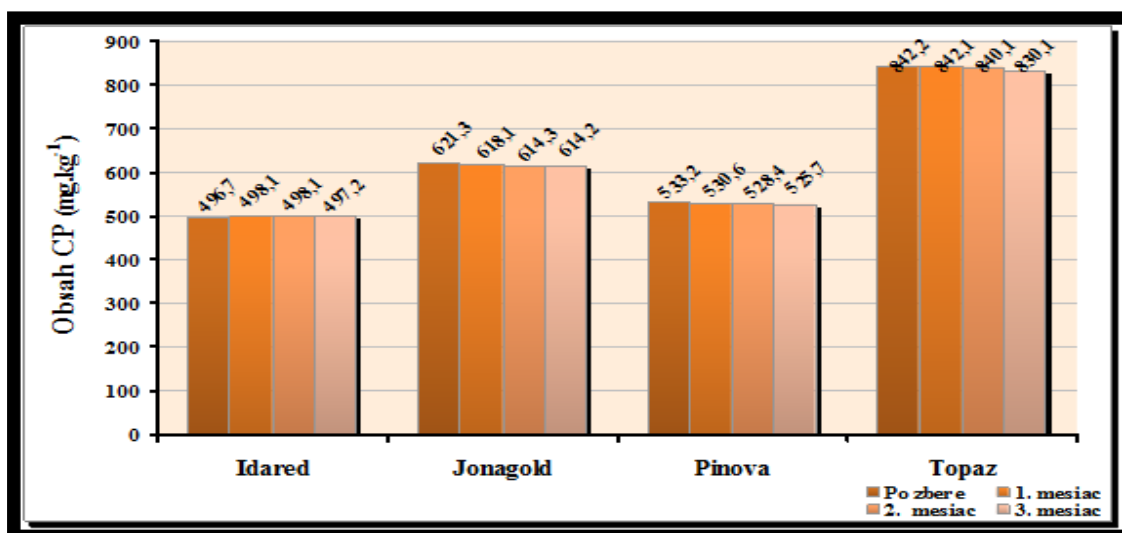
812,3 mg.kg<sup>-1</sup>, pričom táto odroda mala najvyšší obsah celkových polyfenolov aj v extrakte pripravenom zo šúp jabĺk. Pomerne vyrovnané hodnoty obsahu celkových polyfenolov počas jednotlivých fáz skladovania boli zaznamenané u všetkých vybraných odrôd v rámci extraktu z dužiny jabĺk. Najnižší obsah celkových polyfenolov sme zaznamenali v odrode Idared 325,1 mg.kg<sup>-1</sup>.



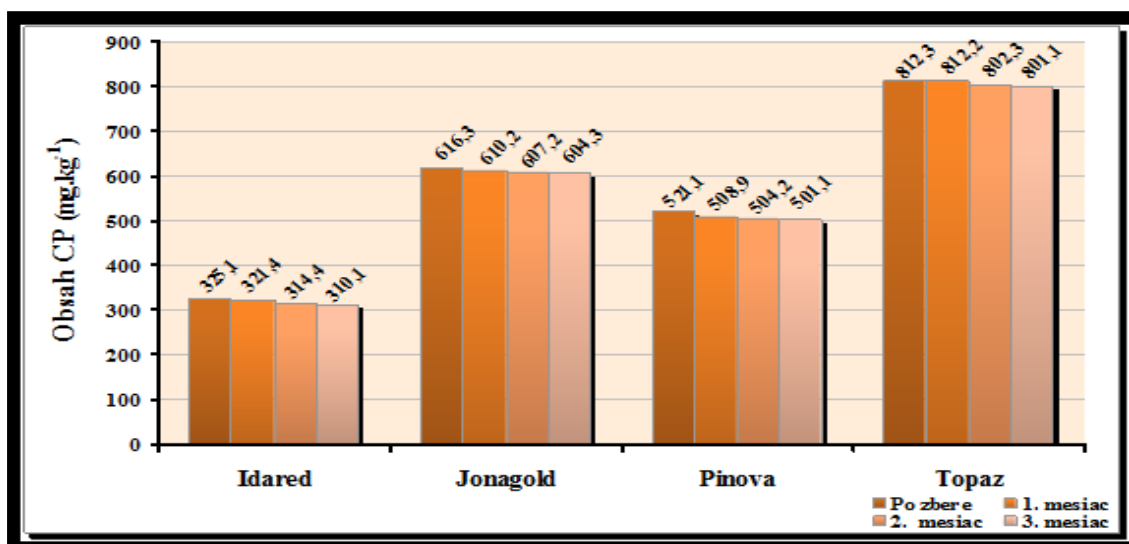
Obrázok 1 Celková antioxidačná aktivita (TAC v %) vo vybraných odrodách jabĺk (extrakt šupy)



Obrázok 2 Celková antioxidačná aktivita (TAC v %) vo vybraných odrodách jabĺk (extrakt dužina)



Obrázok 3 Celkový obsah polyfenolov vo vybraných odrodách jabĺk (extrakt šupy)



Obrázok 4 Celkový obsah polyfenolov vo vybraných odrodách jabĺk (extrakt dužina)

## ZÁVER

Výsledok aktivity antioxidantu je ochrana biologicky dôležitých molekúl a tým v konečnom dôsledku buniek, tkanív a celého organizmu pred oxidačným poškodením voľnými radikálmi.

Svetová zdravotnícka organizácia (WHO) doporučuje skonzumovať päť porcií ovocia denne. Rozhodujúcim faktorom určenia antioxidantnej aktivity nebol vždy obsah celkových polyfenolov vo vybraných odrodách jabĺk, ale už spomínaná odrodová diferenciacia.

Niektorí autori zistili koreláciu medzi obsahom polyfenolov a antioxidantnou aktivitou, zatiaľ čo niektorí tento vzťah nepotvrdili. Naše zistené výsledky poukazujú na určitú závislosť medzi antioxidantnou aktivitou a obsahom celkových polyfenolov, no táto skutočnosť sa nepotvrdila pri všetkých odrodách jabĺk.

Hodnoty antioxidantnej aktivity zistené po zbere a neskôr počas jednotlivých fáz skladovania vo vybraných odrodách jabĺk (extrakt zo šúp) sa rapídne nemenili ani u jednej z vybraných odrôd jabĺk.

Najvyššiu antioxidantnú aktivitu u jabĺk sme zistili u odrody Jonagold, v extrakte zo šúp (85,93 %), no v dužinovom extrakte najvyššiu hodnotu antioxidantnej aktivity vykazovala už odroda Pinova (66,66%).

Najnižšiu antioxidantnú aktivitu zistenú z analyzovaných odrôd jabĺk po zbere mala odroda Topaz to sa potvrdilo pri meraniach tak v dužinovom extrakte, ako i v extrakte zo šúp jabĺk.

Najvyšší obsah celkových polyfenolov po zbere bol nameraný v extrakte zo šúp jabĺk pri odrode Topaz a to 842,2 mg.kg<sup>-1</sup>.

Najvyšší obsah celkových polyfenolov meraných po zbere v extrakte z dužiny jabĺk sme zistili pri odrode Topaz 812,3 mg.kg<sup>-1</sup>, pričom táto odroda mala najvyšší obsah celkových polyfenolov aj v extrakte pripravenom zo šúp jabĺk. Najnižší obsah celkových polyfenolov po zbere v dužinovom extrakte sme zaznamenali pri odrode Idared 325,1 mg.kg<sup>-1</sup>.

Informácie týkajúce sa vzťahu medzi obsahom celkových polyfenolov a antioxidačnou aktivitou v ovocí uvádzané v literatúre sú protichodné

### LITERATÚRA

- ALONSO, R. 2004. Phenolic compounds and their changes in apples during maturation and cold storage. In *Journal of Agricultural Food Chemistry*, vol. 89, 2004, p. 945-948.
- BÉDEROVÁ, A. 2000. Antioxidanty v prevencii. In *Výživa a zdravie*, vol. 45, 2000, no. 3, p. 65.
- BOTKO, L. 2009. Pestovanie ovocia a zeleniny. Retrieved from the web: <[http://www.tormas.sk/index.php/Pestovanie\\_zeleniny/zelenina.html](http://www.tormas.sk/index.php/Pestovanie_zeleniny/zelenina.html)> 24.
- BOYER, J., LIU, R. 2005. Apple phytochemicals and their health benefit. In *Nutrition Journal*, vol. 3, 2004, p. 18-21.
- BOYER, J., LIU, R. H. 2006. Polyphenols in apple extract and risk in epidemiologic studies. In *Journal of Clinical Nutrition*, vol. 31, 2006, p. 17-25
- CARDELLE-COBAS, A., MOREO, F. J., CORZO, N., OLANO, A., VILLAMIEL, M. 2005. Assessment of initial stages of Maillard reaction in dehydrated onion and garlic symplex. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, 2005, p. 9078-9082.
- DREWNOWSKI, A., GOMEZ-CARNEROS, C. 2000. Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. In *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 79, 2000, p. 727-747.
- DURY-BURN, C., LEQUIN, S., CHALIER P., DESOBRY, S., VOILLEY, A. Tracer aroma compound transfer from a solid and complex-flavored food matrix packed in treated papers or plastic packaging film. Publication date (Web): January 31, 2007 (Article), pp. 1411-1417. DOI:10.1021/jf0620867 2007.
- JAYAPRAKASHA, G. K., NEGI, P. S., JENA, B. S., JAGAN MOHAN RAO, L. 2007. Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnanomum zeylanicum* fruit extracts. In *Journal of Food Comparison and Analysis*, vol. 20, 2007, no. 3-4, p. 330-336.
- KALT, W., FORNEY, C. F., MARTIN, A., PRIOR, R. L. 1999. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruits. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. vol. 47, 1999, no. 11, p. 4638-4644.
- KOPÁČOVÁ, O. 2006. Jablka môžu snižovať riziko vzniku astmatu. Retrieved from the web: <http://www.agronavigator.cz>
- MAJO, D., GUARDIA, M., GIAMMANCO, S., NEVE, L., GIAMMANCO, M. 2008. The antioxidant capacity of red wine in relationship with its polyphenolic constituents. In *Food Chemistry* 111, 2008, p. 45-49.
- MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, C., RÉMÉSY, C., JIMÉNEZ, L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. In *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 79, 2004, no. 5, p.727-747.
- MANDELOVÁ, L. 2005. Polyfenoly: rozdelení a zdroje v potravě. In *Výživa a potraviny*, vol. 60, 2005, no. 1, p. 11-14.
- NIJVELDT, R. 2000. Flavonoids: a review of probable mechanism of action and potential applications. In *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 74, 2000, p. 418-425.
- PEREZ-JIMENEZ, J., SAURA-CALIXTO, F. 2005. Literature data may underestimate the actual antioxidant capacity of cereals. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, 2005, p. 5036-5040.
- RATNAM, D. V., ANKOLA, D. D., BHARDWAJ, V., SAHANA, D. K., KUMAR, R. M. N. V. 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. In *Journal of Controlled Release*, vol. 113, 2006, p. 189-207.
- ROSA, E. A. 2005. Changes in glucosinolate concentrations in Brassica crops throughout growing season. In *Journal Science Food Agriculture.*, 2005, vol. 4, p. 519-524.
- VOLLMANNOVÁ, A., TOMÁŠ, J., TÓTH, T. 2006. Bioflavonoidy v strukovinách, ich komponentná skladba a metódy stanovenia. In *Výživná a technologická kvalita rastlinných produktov a ich potravinárske využitie*, SPU Nitra, 2006, p. 42-65. ISBN 80 – 8069 – 780 – 9.

### Acknowledgments:

This work was supported by grant VEGA 1/0456/12.

### Contact address:

Ing. Dominika Bončíková, Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Trieda A. Hlinku 2, 949 76 Nitra. Tel.: 037 6414376, E-mail: dominika.boncikova@gmail.com

doc. RNDr. Ing. Tomáš Tóth, PhD, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra Slovakia, E-mail: tomas.toth@uniag.sk

prof. Ing. Ján Tomáš, Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Trieda Andreja Hlinku 2, 949 76 Nitra. Tel.: 037 6414264, E-mail: jan.tomas@uniag.sk

Dalaram Suleiman, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra. Tel.: 037 641 6370 E-mail: dalaram.suleiman@uniag.sk

Ing. Juraj Tóth, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra. Tel.: 037 641 4497 E-mail: juraj.toth@uniag.sk

Ing. Marek Slávik, Slovak University of Agriculture, Faculty of Biotechnology and Food Sciences, Department of Chemistry, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra. Tel.: 037 641 4497 E-mail: marek.slavik@gmail.com