

*Mariola Kozłowska, Iwona Ścibisz*

## BADANIE ZAWARTOŚCI POLIFENOLI I AKTYWNOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCEJ EKSTRAKTÓW Z ROŚLIN PRZYPRAWOWYCH PODCZAS ICH PRZECHOWYWANIA

Katedra Chemii, Wydział Nauk o Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w  
Warszawie

Kierownik: dr hab. *E. Białecka-Florjańczyk*, prof. SGGW

Katedra Technologii Żywności, Wydział Nauk o Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie

Kierownik: dr hab. *M. Mitek*, prof. SGGW

*Oznaczono zawartość polifenoli i właściwości przeciwutleniające wodno-  
etanolowych ekstraktów z wybranych roślin przyprawowych (tyminiek,  
oregano, mięta, szalwia) przechowywanych w temperaturze -18°C. Po 6 latach  
przechowywania ekstraktów, stwierdzono zmniejszenie zawartości polifenoli  
ogółem oraz aktywności przeciwutleniającej wobec syntetycznych rodników  
DPPH<sup>•</sup> i kationorodników ABTS<sup>•+</sup> w wszystkich badanych ekstraktach.*

Hasła kluczowe: polifenole, właściwości przeciwutleniające, rodniki DPPH<sup>•</sup>,  
kationorodniki ABTS<sup>•+</sup>

Key words: polyphenols, antioxidant properties, DPPH<sup>•</sup> radicals, ABTS<sup>•+</sup> radicals  
cation

Polifenole są wtórnymi metabolitami roślinnymi powstającymi według dwóch dotychczas poznanych mechanizmów biosyntezy, czyli kwasów szikimowego i octanowo-matanolowego (1). Związki te należą do przeciwutleniaczy, które wspólnie z kwasem askorbinowym, karotenoidami i tokoferolami zabezpieczają organizm ludzki przed stresem oksydacyjnym (2). Mogą więc one wykazywać działanie prozdrowotne, szczególnie gdy stanowią stały element diety. Poza owocami i warzywami bogatym źródłem polifenoli, a tym samym związków o właściwościach przeciwutleniających są przyprawy i zioła. Do najbardziej poznanych należą: rozmaryn i szalwia. Ekstrakt z rozmarynu okazał się efektywnym przeciwutleniaczem w żywności zakąskowej, produktach mięsnych, przetworach ziemniaczanych. Związki w nim zawarte (karnozol, epirozmanol, karnozan metylu) zapobiegają oksydacji oleju sojowego i kukurydzianego, wykazując zdolność do wiązania rodników ponadtlenkowych (3).

Najczęściej rośliny przyprawowe są stosowane jako dodatki do żywności w stanie świeżym lub po wysuszeniu. Interesujące jest również ich użycie w formie ekstraktów. Ułatwia to standaryzację jakości gotowych wyrobów, zmniejsza pracochłonność produkcji i ryzyko zakażenia mikrobiologicznego (4).

Celem badań było określenie zawartości polifenoli i zdolności do unieczynniania rodników DPPH<sup>•</sup> i kationorodników ABTS<sup>•+</sup> ekstraktów z wybranych roślin przyprawowych bezpośrednio po ekstrakcji oraz po 2 i 6 latach przechowywania w temperaturze -18°C.

## MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły wodno-etanolowe ekstrakty otrzymane z wysuszonego ziela tymianku (*Thymus vulgaris*) i oregano (*Origanum vulgare*) firmy Kamis-Przyprawy S.A. oraz szalwii (*Salvia officinalis*) i mięty (*Mentha piperita*) firmy Herbapol-Lublin S.A. według Kozłowska i współpr. (5). Zawartość polifenoli ogółem i właściwości przeciwutleniające tych ekstraktów określono bezpośrednio po ekstrakcji oraz po 2 i 6 latach przechowywania w temperaturze -18°C. Przed oznaczeniem badane ekstrakty rozpuszczono w 70 % roztworze alkoholu etylowego. Każde oznaczenie wykonano w 3 powtórzeniach.

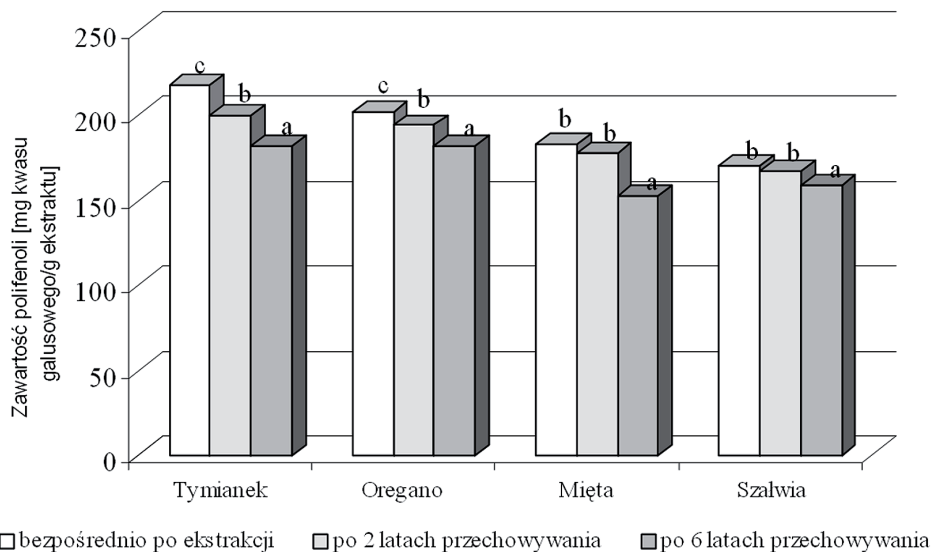
Ogólną zawartość związków fenolowych w ekstraktach oznaczono przy użyciu odczynnika *Folina-Ciocalteu*'a (6, 7), wyrażając wynik w przeliczeniu na kwas galusowy (mg kwasu galusowego/g otrzymanego ekstraktu). Do oznaczenia pojemności przeciwutleniającej ekstraktów wykorzystano metodę z kationorodnikami ABTS<sup>•+</sup> (8) oraz z wolnymi rodnikami DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenył-1-pikrylhydrazylowymi) (9). Zmiany stężenia kationorodników ABTS<sup>•+</sup> określano spektrofotometrycznie po 6 minutowej inkubacji z badanymi ekstraktami. Związki o właściwościach przeciwutleniających zawarte w tych ekstraktach redukowały stężenia kationorodników ABTS<sup>•+</sup>, które były mierzone jako spadek absorbancji roztworu przy długości fali 734 nm. Z kolei zmiany w zawartości rodników DPPH<sup>•</sup> rejestrowano spektrofotometrycznie po 10 minutowej inkubacji z badanymi ekstraktami przy długości fali 517 nm. Efektywność neutralizacji rodników DPPH<sup>•</sup> przez badane ekstrakty wyrażano w formie współczynnika TEAC, określającego stężenie Troloxu o identycznej pojemności przeciwutleniającej.

Uzyskane wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji. Średnie zawartości polifenoli oraz pojemności przeciwutleniające uzyskane dla przechowywanych ekstraktów przedstawiono na ryc. 1-3. Istotność różnic określono za pomocą testu *t-Tukey*'a. Za istotne statystycznie przyjmowano wyniki na poziomie  $p < 0,05$ . Uzyskane wyniki oceny statystycznej przedstawiono na wykresach z zaznaczeniem przynależności do klas średnich przy pomocy klasyfikacji literowej. Średnie oznaczone tą samą literą oznaczają przynależność do tej samej lub wspólnej klasy. Badanie korelacji między zmiennymi przeprowadzono za pomocą współczynnika korelacji liniowej *r*-Pearsona.

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Bezpośrednio po ekstrakcji najwyższą zawartością polifenoli ogółem charakteryzował się ekstrakt z tymianku (218 mg kwasu galusowego/g ekstraktu), a najniższą ekstrakty z szalwii i mięty (odpowiednio 170 i 183 mg kwasu galusowego/g

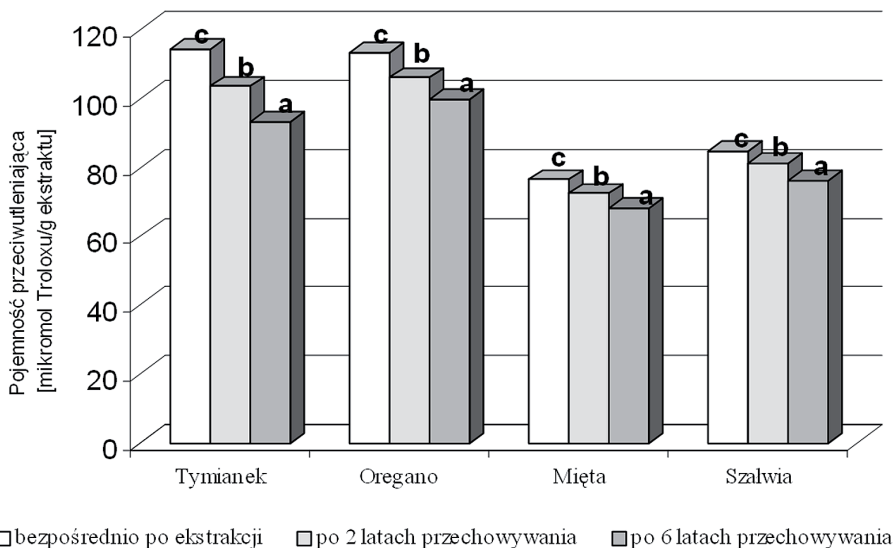
ekstraktu) (ryc.1). Badając pojemność przeciwutleniającą wobec kationorodników ABTS<sup>+</sup> stwierdzono również największą jej wartość dla ekstraktu z tymianku (114,1  $\mu\text{M}$  Troloxu/g ekstraktu), a najmniejszą dla ekstraktu z mięty (73,6  $\mu\text{M}$  Troloxu/g ekstraktu) (ryc.2). Podobną zależność obserwowano w przypadku pojemności mierzonej z odczynnikiem DPPH, chociaż uzyskane wartości były niższe dla ekstraktu z tymianku (92,8  $\mu\text{M}$  Troloxu/g ekstraktu) i zbliżone dla ekstraktu z mięty (75,6  $\mu\text{M}$  Troloxu/g ekstraktu) (ryc.3). W badaniach *Cosio* i współpr. (10) wysoką zawartością polifenoli i aktywnością przeciwutleniającą charakteryzowały się ekstrakty z rozmarynu i szalwii, a najniższą z mięty. W innym badaniu wśród 17 testowanych ziół również metanolowy ekstrakt z mięty wykazał jedną z niższych wartości aktywności przeciwutleniającej i ogólnej zawartości polifenoli (11), a w pracy *Materskiej* stosunkowo bogate w polifenole okazały się etanolowe ekstrakty z melisy i szalwii (12).



Ryc. 1. Zmiany zawartości polifenoli ogółem w ekstraktach z przypraw w trakcie przechowywania  
 Fig. 1. Changes in contents of polyphenols in spices extracts during storage

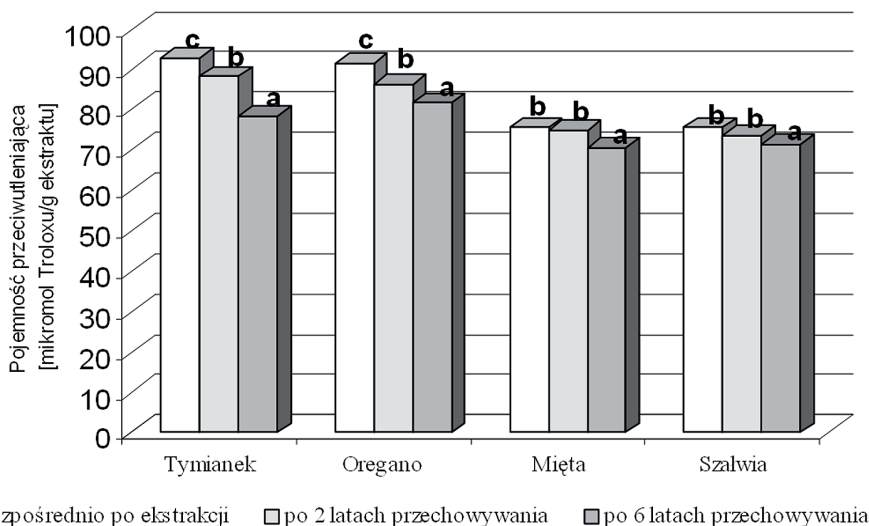
Po 2 i 6 latach przechowywania badanych ekstraktów w temperaturze  $-18^{\circ}\text{C}$  stwierdzono zmniejszoną zawartość polifenoli ogółem w wszystkich badanych ekstraktach. W przypadku ekstraktów z tymianku i mięty po 6 latach przechowywania zawartość polifenoli ogółem była niższa o 17 % w porównaniu z próbkami wyjściowymi, a w przypadku ekstraktów z oregano i szalwii o 10 %. Po 2 latach przechowywania najmniejsze zmiany w zawartości związków fenolowych odnotowano w ekstraktach z mięty i szalwii. W trakcie przechowywania stwierdzono także obniżenie pojemności przeciwutleniającej ekstraktów mierzone zarówno metodą wykorzystującą rodniki ABTS<sup>+</sup> jak i DPPH<sup>•</sup>. Należy jednak podkreślić, że pomimo obserwowanych zmian, po 6 latach przechowywania badane ekstrakty nadal charakteryzowały się wysoką pojemnością przeciwutleniającą, wynoszącą w

zależności od rodzaju przyprawy i metody oznaczenia od 68,2 do 99,7  $\mu\text{M}$  Troloxu/g ekstraktu. Podobny spadek zawartości związków fenolowych w etanolowych ekstraktach z melisy, szalwii, mięty i pietruszki odnotowano w badaniach



Ryc. 2. Zmiany pojemności przeciwutleniającej wobec  $\text{ABTS}^{+\bullet}$  w ekstraktach z przypraw w trakcie przechowywania

Fig. 2. Changes in antioxidant capacity in spices extracts against  $\text{ABTS}^{+\bullet}$  during storage



Ryc. 3. Zmiany pojemności przeciwutleniającej wobec  $\text{DPPH}^{\bullet}$  w ekstraktach z przypraw w trakcie przechowywania

Fig. 3. Changes in antioxidant capacity in spices extracts against  $\text{DPPH}^{\bullet}$  during storage

*Materskiej* (12) po 3 miesiącach przechowywania w temperaturze 5°C. Z kolei najlepszą stabilność w całym okresie przechowywania wykazały ekstrakty z oregano, cząbrku i bazylii. W innym badaniu metanolowy ekstrakt z oregano charakteryzował się dużą trwałością, bez wyraźnej zmiany w ilości polifenoli i aktywności przeciwutleniającej (13). *Hossain* i współpr. (14) także stwierdzili brak dynamicznych zmian w zawartości polifenoli i aktywności przeciwutleniającej ekstraktów sporządzanych na bazie rozmarynu, majeranku, bazylii, tymianku przechowywanych przez 60 dni w temperaturze -20°C. Podobnie *Chohan* i współpr. (15) wykazali brak wyraźnego wpływu krótkotrwałego przechowywania na spadek aktywności przeciwutleniającej ekstraktów z lawendy.

W badanych wodno-etanolowych ekstraktach stwierdzono istotną, wysoką korelację ( $r=0,95$ ) pomiędzy zawartością polifenoli ogółem a pojemnością przeciwutleniającą mierzoną wobec rodników DPPH'. Niższy współczynnik korelacji ( $r=0,89$ ) uzyskano dla polifenoli ogółem i pojemności przeciwutleniającej wobec kationorodników ABTS<sup>+</sup>.

## WNIOSKI

1. Wśród badanych ekstraktów najwyższą zawartość polifenoli wykazał ekstrakt z tymianku, a najniższą ekstrakty z szalwii i mięty.
2. Ekstrakt z tymianku charakteryzował się największą wartością pojemności przeciwutleniającej wobec kationorodników ABTS<sup>+</sup> i DPPH'.
3. Po przechowywaniu w temperaturze -18°C stwierdzono zmniejszenie zawartości polifenoli ogółem oraz obniżenie pojemności przeciwutleniającej w wszystkich badanych ekstraktach (nie więcej niż 20 %).

M. Kozłowska, I. Ścibisz

## STUDY OF POLYPHENOLS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS DURING STORAGE

### Summary

The aim of the study was to determine the total content of polyphenols and the ability of the extracts from selected spices to scavenge DPPH radicals and ABTS radicals cation directly after extraction and after 2 and 6 years of storage at -18°C. Immediately after spices extraction thyme extract showed the highest total polyphenols content (218 mg gallic acid/g extract). The lowest amounts of total polyphenols were determined in extracts from sage and mint (respectively 170 i 183 mg gallic acid/g extract). However, the highest antioxidant capacity against DPPH' radicals and ABTS<sup>+</sup> radicals cation was found in thyme extract and the lowest in mint extract. After 6 years of storage, the total polyphenol contents and antioxidant capacity in all tested extracts were reduced (not more than 20 %).

## PIŚMIENNICTWO

1. Gumul D., Korus J., Achremowicz B.: Wpływ procesów przetwórczych na aktywność przeciwutleniającą surowców pochodzenia roślinnego. *Żywność*, 2005; 4(45) Sup.: 41-48. - 2. Budryn G., Nebesny E.: Fenolokwasy – ich właściwości, występowanie w surowcach roślinnych, wchłanianie i przemiany metaboliczne. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2006; XXXIX (2): 103-110. - 3. Szajdek A., Borowska J.: Właściwości przeciwutleniające żywności pochodzenia roślinnego. *Żywność*, 2004; 4(41) S: 5-28. - 4. Makala H.: Przyprawy i ich ekstrakty w przetwórstwie mięsa. *Przem. Spoż.*, 2010; 64: 26-28. - 5. Kozłowska M., Laudy A.E., Starościk B.J., Napiórkowski A., Chomicz L., Kazimierzczuk Z.: Antimicrobial i antiprotozoal effect of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). *Acta Sci. Pol. Hortorum cultus*, 2010; 9(4): 133-141. - 6. Singleton V.L., Rossi J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1965; 16: 144-158. - 7. Peri C., Pompei C.: An assay of different phenolic fractions in wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1971; 22(2): 55-58. - 8. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.*, 1999; 26(9-10): 1231-1237. - 9. Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C.: Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss.-Technol.*, 1995; 28: 25-30. - 10. Cosio M.S., Buratti S., Mannino S., Benedetti S.: Use of an electrochemical method to evaluate the antioxidant activity of herb extracts from the Labiatae family. *Food Chem.*, 2006; 97, 725-731.
11. Yoo K.M., Lee Ch.H., Lee H., Moon B., Lee Ch.Y.: Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. *Food Chemistry*, 2008; 106: 929-936. - 12. Materska M.: Evaluation of the lipophilicity and stability of phenolic compounds in herbal extracts. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2010; 9(1): 61-69. - 13. Horváthová J., Suhaj M., Šimko P.: Effect of thermal treatment and storage on antioxidant activity of some spices. *J. Food Nutr. Res.*, 2007; 46(1): 20-27. - 14. Hossain M.B., Barry-Ryan C., Martin-Diana A.B., Brunton N.P.: Effect of drying method on the antioxidant capacity of six Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, 2010; 123: 85-91. - 15. Chohan M., Foster-Wilkins G., Opara E.I.: Determination of the antioxidant capacity of culinary herbs subjected to various cooking and storage processes using the ABTS radical cation assay. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 2008; 63, 47-52.

Adres: 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159c.