

Anna Witkowska, Małgorzata E. Zujko, Iwona Mirończuk-Chodakowska

WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWIUTLENIAJĄCE NAPOJÓW ENERGETYZUJĄCYCH

Zakład Technologii i Towaroznawstwa Żywności Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
Kierownik: dr hab. A. Witkowska

Oznaczono potencjał antyoksydacyjny napojów energetyzujących. Stwierdzono, że napoje energetyzujące charakteryzują się niższą aktywnością antyoksydacyjną niż napoje produkowane z surowców naturalnych, takie jak soki i wina owocowe, kawa, herbata, napary ziołowe. Uzyskane wyniki wskazują na mało istotne znaczenie napojów energetyzujących jako źródeł pokarmowych substancji przeciwutleniających.

Hasła kluczowe: właściwości przeciwutleniające, napoje energetyzujące.
Key words: antioxidant properties, energy drinks.

Napoje energetyzujące są ogólnie dostępnymi środkami spożywczymi specjalnego przeznaczenia żywieniowego adresowanymi wyłącznie do osób dorosłych, przy wzmożonym wysiłku umysłowym i fizycznym. Zawartymi w nich substancjami biologicznie aktywnymi są kofeina, ekstrakt guarany, tauryna, inozytol, glukuronolakton, wyciąg z korzenia żeń-szenia oraz witaminy z grupy B: niacyna, kwas pantotenowy, witamina B₆ i B₁₂. Podstawowe działanie fizjologiczne napojów energetyzujących opiera się na pobudzającym działaniu kofeiny (1). Obecność wielu innych związków nie posiada jednak wystarczającego uzasadnienia ze względu na brak udowodnionego korzystnego działania terapeutycznego, szczególnie w tak niewielkich dawkach jak te przyjmowane z napojem (2-4). Napoje energetyzujące ze względu na obecność kofeiny i sacharozy są wręcz wymieniane jako niewskazane dla kobiet w ciąży i karmiących, ludzi chorych na cukrzycę i choroby serca oraz osób wrażliwych na działanie kofeiny (3). Spożycie napojów energetyzujących wiąże się ze wzrostem agregacji płytek krwi i upośledzoną funkcją śródbłonna naczyniowego (5). Jedynym sprawdzonym i potencjalnie korzystnym działaniem tych napojów jest hamowanie senności i zwiększenie koncentracji u kierowców (6).

Kofeina jest związkiem, który w organizmie może wywoływać stres oksydacyjny (7). Kilka spośród innych substancji zawartych w napojach energetyzujących wykazuje jednak właściwości antyoksydacyjne. Do takich związków należy pochodna aminokwasu cysteiny - tauryna, która charakteryzuje się obecnością grupy sulfonowej. Zdolności przeciwutleniające tauryny polegają m.in. na hamowaniu stresu oksydacyjnego wywołanego intoksykacją metalami ciężkimi (8). Jako składnik napojów energetyzujących tauryna ma za zadanie dodawanie energii. Potwierdzonymi właściwościami antyoksydacyjnymi charakteryzują się ponadto żeń-szeń (9), polifenole i antocyjany (10). Ze względu na mało poznane właściwości napojów energetyzujących oraz deklarowaną przez producentów zawartość w nich

składników o działaniu przeciwutleniającym, celem badań było scharakteryzowanie potencjału antyoksydacyjnego napojów energetyzujących.

MATERIAŁ I METODY

Napoje energetyzujące pochodzące od różnych producentów zakupiono w sieci handlowej na terenie Białegostoku. Do momentu wykonania analizy były one przechowywane w oryginalnych, zamkniętych opakowaniach. Przed wykonaniem oznaczeń napoje były odgazowywane przez 0,5 godz. przy pomocy płuczki ultradźwiękowej Branson 1510, Branson.

Całkowite stężenie polifenoli oznaczono kolorymetrycznie metodą *Singletona i Rossiego* (11) przy użyciu odczynnika fosforowo-molibdenowego. Absorbancję barwnych roztworów odczytano na spektrofotometrze Spekol 10, Niemcy, przy długości fali 765 nm. Stężenie podano w przeliczeniu na ekwiwalenty kwasu galusowego.

Aktywność antyoksydacyjną FRAP (Ferric reducing antioxidant potential) oznaczono wg *Benzie i Strain* (12) przy użyciu reagenta Fe^{3+} -2,4,6-tripirydylo-s-triazyny (TPTZ). Absorbancję roztworów badanych i ślepych odczytywano po 4 minutach na spektrofotometrze Spekol 10 przy długości fali 593 nm.

Aktywność zmiatającą rodnik 1,1-difenylo-2-pikrylohydrazylowy (DPPH) oznaczono według *Shimady* i współpr. (13). Pomiaru absorbancji roztworów badanych dokonywano na spektrofotometrze Spekol 10 przy długości fali 517 nm względem metanolu. Procent zmiatania rodnika DPPH (procent hamowania barwy) wyliczano wg następującego wzoru: $[1 - (\text{absorbancja próbki badanej z DPPH} - \text{absorbancja próbki bez DPPH} / \text{absorbancja próbki ślepej})] \times 100\%$. Wartość EC_{50} wyliczono przy zastosowaniu równania regresji liniowej. Krzywą regresji wykreślono odnosząc procent zmiatania rodnika DPPH w stosunku do masy napoju (mg) przypadającej na 1 mg DPPH. Wartość EC_{50} wyraża liczbę miligramów napoju przypadającą na 1 mg DPPH, która powoduje spadek zawartości rodnika DPPH o 50%.

Właściwości chelatujące napojów wobec jonów żelaza oznaczono metodą wg *Dinis* i współpr. (14) przy użyciu chlorku żelaza (II) i ferrozyny. Pomiaru absorbancji roztworów badanych dokonywano na spektrofotometrze Spekol 10 przy długości fali 562 nm. Procent chelatowania żelaza wyliczano wg następującego wzoru: $[1 - (\text{absorbancja próbki badanej z odczynnikiem} - \text{absorbancja próbki badanej bez odczynnika} / \text{absorbancja próbki ślepej})] \times 100\%$. Wartość IC_{50} wyliczono przy zastosowaniu równania regresji liniowej. Krzywą regresji wykreślono odnosząc procent chelatowania żelaza w stosunku do masy napoju w 1 ml. Wartość IC_{50} wyraża stężenie napoju w próbce powodujące spadek zawartości rodnika DPPH o 50%.

Obliczeń statystycznych dokonano przy użyciu programu komputerowego Statistica 9.0 firmy StatSoft. Korelacje pomiędzy parametrami aktywności antyoksydacyjnej wyliczono testem korelacji liniowej *Pearsona*.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Na podstawie analizy składu deklarowanego przez producentów stwierdzono, że we wszystkich badanych napojach energetyzujących występowała woda, sacharoza, regulatory kwasowości (kwas cytrynowy lub/i cytrynian sodu), dwutlenek węgla, aromaty oraz kofeina w ilości ok. 0,03%. Większość napojów zawierała barwniki takie jak karmel i jego pochodne, a także ryboflawinę. W składzie zdecydowanej większości występowały substancje wzbogacające w postaci witamin z grupy B: niacyna, kwas pantotenowy, witamina B₆ i witamina B₁₂. W ośmiu napojach występowała tauryna, w siedmiu – ekstrakt guarany, w pięciu - inozytol, w czterech – glukuronolakton. Niektóre napoje (od pięciu producentów) konserwowane były chemicznie sorbinianem potasu i/lub benzoesaniem sodu.

Tabela I. Zawartość polifenoli i wartości parametrów aktywności przeciwutleniającej

Table I. Polyphenols content and parameters of antioxidant activity

Lp.	Napój energetyzujący	N	Całkowita zawartość polifenoli mg/100ml	Aktywność antyoksydacyjna FRAP (μmol/100ml)	Aktywność zmiatająca rodnik DPPH w przeliczeniu na EC50 (mg/mg DPPH [•])	Zdolność chelatowania Fe w przeliczeniu na IC50 (g/ml)
1.	Red Bull Energy Drink	2	7,7	47,5	16,19	1,678
2.	Tiger Energy Drink	2	5,9	32,9	36,90	0,357
3.	Burn	2	13,0	169,8	12,64	1,096
4.	Burn Tropical	2	19,5	217,3	24,37	1,990
5.	Green-Up Żurawina	2	14,7	149,7	4,47	2,280
6.	Green-Up Tropikalny	2	5,6	52,9	34,47	2,735
7.	Green-Up Granat	2	8,1	133,3	32,34	1,197
8.	Adrenaline Mountain Dew	2	3,2	21,9	41,17	0,062
9.	N-gine	2	9,0	12,8	38,27	0,274
10.	X-L Energy Drink	2	6,9	5,5	44,62	0,174
11.	R 20	2	6,9	1,8	37,61	0,246

N – liczba powtórzeń.

W tabeli I. przedstawiono całkowitą zawartość polifenoli oraz aktywność antyoksydacyjną napojów energetyzujących oznaczoną trzema różnymi metodami. Zawartość polifenoli wahała się w zakresie od 3,2 mg/100ml w napoju Adrenaline Mountain Dew do 19,5 mg/100ml w napoju Burn Tropical. Najwyższe stężenia polifenoli obserwowano w napojach zawierających w składzie deklarowanym przez producenta antocyjany - Burn (13 mg/100ml) lub soki owocowe: Green-Up Żurawina (14,7 mg/100ml) i Burn Tropical (19,5 mg/100ml), w którym zawartość owoców stanowiła minimum 20%. Do napojów zawierających soki owocowe należały też: Green-Up Tropikalny i Green-Up Granat. W porównaniu do innych napojów, takich jak herbata, napary ziołowe, wina czy soki owocowe (15, 16 17, 18) zawartość polifenoli w napojach energetyzujących była od kilku do kilkunastu razy niższa.

Pomimo niskiej zawartości polifenoli w napojach energetyzujących lub jej braku stwierdzono występowanie reakcji z odczynnikiem *Folina-Ciocalteau*. Pierścienie fenolowe dający reakcję barwną z kwasem fosforowo-molibdenowym występuje nie tylko w naturalnych surowcach, ale również w niektórych dodatkach do żywności, takich jak konserwanty czy aromaty. Odczynnik może też reagować ze związkami o charakterze redukującym m.in. związkami azotu i tiolami (19). Jak się obecnie powszechnie uważa reakcja z odczynnikiem *Folina-Ciocalteau* jest raczej miarą całkowitej aktywności antyoksydacyjnej niż całkowitej zawartości polifenoli (19). W odniesieniu do napojów energetyzujących, w składzie których nie występowały soki owocowe lub antocyjany, aktywność ta wyniosła 3,2-9,0 mg/100ml.

Wartości aktywności antyoksydacyjnej w teście FRAP (tab. I) wahały się od 1,8 $\mu\text{mol}/100\text{ml}$ w napoju R20 do 217,3 $\mu\text{mol}/100\text{ml}$ w napoju Burn Tropical. Znacznie niższą aktywnością antyoksydacyjną charakteryzowały się napoje będące mieszaniną wody, sacharozy i substancji dodatkowych – aktywność w zakresie 1,8-47,5 $\mu\text{mol}/100\text{ml}$ napoju. Dla porównania w napojach takich jak: Burn, Burn Tropical, Green-Up Żurawinowy, Green-Up Granat i Green-Up Tropikalny, zawierających soki owocowe lub antocyjany, aktywność ta wyniosła 52,9-217,3 $\mu\text{mol}/100\text{ml}$ napoju.

Wyniki dotyczące aktywności zmiatającej rodnik DPPH wyrażono w przeliczeniu na wartość EC_{50} . Im niższą wartość EC_{50} reprezentowała próbka badana, tym wykazywała ona lepsze właściwości neutralizujące rodnik DPPH. Najwyższą aktywnością zmiatającą rodnik DPPH stwierdzono w napoju Green-Up Żurawina – 4,47 mg/mg DPPH, co może wiązać się z zawartością w nim soku żurawinowego. Owoce żurawiny wykazują wysoką aktywność w stosunku do DPPH (20). Zakres wartości EC_{50} pozostałych napojów wyniósł 12,64-44,62 mg/mg DPPH.

Aktywność chelatująca wobec jonów żelaza została przeliczona na wartość IC_{50} . Niższe wartości IC_{50} świadczą o lepszych właściwościach chelatujących napojów. Najwyższą aktywnością chelatującą charakteryzował się napój Adrenaline Mountain Dew – 0,062 g/ml. Wartość IC_{50} pozostałych napojów zawarta była w zakresie 0,174-2,735 g/ml. Najlepsze właściwości chelatujące posiadały głównie napoje nie zawierające soków owocowych lub antocyjanów.

Tabela II. Korelacje pomiędzy badanymi parametrami

Table II. The correlations between parameters tested

	Całkowita zawartość polifenoli	Aktywność antyoksydacyjna FRAP	Aktywność zmiatająca rodnik DPPH	Zdolność chelatowania Fe
Całkowita zawartość polifenoli	-	0,86*	-0,65*	0,48
Aktywność antyoksydacyjna FRAP	0,86*	-	-0,69*	0,60
Aktywność zmiatająca rodnik DPPH	-0,65*	-0,69*	-	-0,63*
Zdolność chelatowania Fe	0,48	0,60	-0,63*	-

* korelacja istotnie statystyczna przy $p < 0,05$.

Aktywność antyoksydacyjna FRAP i aktywność zmiatająca rodnik DPPH były ze sobą dodatnio skorelowane, a także związane z zawartością polifenoli w napojach energetyzujących, natomiast nie związane ze zdolnością chelatowania żelaza (tab. II). Aktywność wobec rodnika DPPH była ujemnie skorelowana ze zdolnościami chelatującymi napojów, co świadczy o zróżnicowanym charakterze przeciwutleniającym napojów energetyzujących. Te napoje, które charakteryzowały się wysokim potencjałem wobec DPPH wykazywały na ogół niższą zdolność chelatowania żelaza i odwrotnie.

WNIOSKI

1. Napoje energetyzujące charakteryzują się niższą aktywnością antyoksydacyjną niż napoje produkowane z surowców naturalnych, takie jak soki i wina owocowe, kawa, herbata, napary ziołowe.

2. Napoje energetyzujące zawierające soki owocowe i antocyjany wykazują wyższą aktywność antyoksydacyjną, ale jednocześnie posiadają niższą zdolność chelatowania żelaza.

3. Uzyskane wyniki wskazują na mało istotną wartość napojów energetyzujących jako źródeł pokarmowych substancji przeciwutleniających.

A. Witkowska, M.E. Zujko, I. Mirończuk-Chodakowska

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF ENERGY DRINKS

Summary

Antioxidant potential of energy drinks was determined. It was found that energy drinks are characterized by lower antioxidant activity than drinks produced from natural food sources, such as fruit juices and wines, coffee, tea, and herbal infusions. These energy drinks which contained fruit juices or anthocyanins demonstrated higher antioxidant activity but at the same time showed lower chelating properties. The results of the study indicate energy drinks as non-significant food sources of antioxidant substances.

PIŚMIENNICTWO

1. *van den Eynde F., van Baelen P.C., Portzky M., Audenaert K.*: The effects of energy drinks on cognitive performance. *Tijdschr. Psychiatr.*, 2008; 50(5): 273-81. – 2. *Seifert S.M., Schaechter J.L., Hershorin E.R., Lipshultz S.E.*: Health effects of energy drinks on children, adolescents, and young adults. *Pediatrics*, 2011; 127(3): 511-28. – 3. *Duchan E., Patel N.D., Feucht C.*: Energy drinks: a review of use and safety for athletes. *Phys. Sportsmed.*, 2010; 38(2): 171-9. – 4. *Clauson K.A., Shields K.M., McQueen C.E., Persad N.*: Safety issues associated with commercially available energy drinks. *J. Am. Pharm. Assoc.*, 2008; 48(3): e55-63. – 5. *Worthley M.I., Prabhu A., De Sciscio P., Schultz C., Sanders P., Willoughby S.R.*: Detrimental effects of energy drink consumption on platelet and endothelial function. *Am. J. Med.*, 2010; 123: 184-7. – 6. *Reyner L.A., Horne J.A.*: Efficacy of a 'functional energy drink' in counteracting driver sleepiness. *Physiol. Behav.*, 2002; 75(3): 331-5. – 7. *Buscemi S., Batsis J.A., Arcoleo G., Verga S.*: Coffee and endothelial function: a battle between caffeine and antioxidants? *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2010; 64(10): 1242-3. – 8. *Sinha M., Manna P., Sil P.C.*: Taurine protects the antioxidant defense system in the erythrocytes of cadmium treated mice. *BMB Reports* 2008; 41(9):

657-63. – 9. *Masteikova R., Muselik J., Bernatoniene J., Bernatoniene R.*: Antioxidative activity of Ginkgo, Echinacea, and Ginseng tinctures. *Medicina (Kaunas)*, 2007; 43(4): 306-309. – 10. *Chong M.F., Macdonald R., Lovegrove J.A.*: Fruit polyphenols and CVD risk: a review of human intervention studies. *Br. J. Nutr.*, 2010; 104 (supl. 3): S28-S39.

11. *Singleton V.L., Rossi J.A.*: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1965; 16: 144-58. – 12. *Benzie I.F.F., Strain J.J.*: The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 1996; 239: 70-6. – 13. *Shimada K., Fujikawa K., Yahar K., Nakamura T.*: Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J. Agric. Food Chem.*, 1992; 40: 945-8. – 14. *Dinis T.C.P., Madeira V.M.C., Almeida L.M.*: Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1994; 315(1): 161-9. – 15. *Witkowska A., Zujko M.*: Wpływ warunków ekstrakcji na całkowitą zawartość polifenoli oraz właściwości organoleptyczne naparów herbaty. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2003; (supl.): 401-4. – 16. *Zujko M.E., Witkowska A., Kiernożek B.*: Aktywność antyoksydacyjna naparów ziołowych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005; (supl.): 189-91. – 17. *Witkowska A.M., Zujko M.E., Borawska M.H., Socha K.*: Antioxidant properties and selenium content of wines. *Polish J. Environ. Stud.*, 2006; 15(2a): 208-11. – 18. *Zujko M.E., Witkowska A.*: Wpływ procesów technologicznych i warunków przechowywania na aktywność antyoksydacyjną soków pomarańczowych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2006; (supl.): 353-6. – 19. *Everette J.D., Bryant Q.M., Green A.M., Abbey Y.A., Wangila G.W., Walker R.B.*: Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin–Ciocalteu reagent. *J. Agric. Food Chem.*, 2010; 58(14): 8139-44. – 20. *Määttä-Riihinen K.R., Kähkönen M.P., Törrönen A.R., Heinonen I.M.*: Catechins and procyanidins in berries of vaccinium species and their antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*, 2005; 53(22): 8485-91.

Adres: 15-054 Białystok, ul. Mieszka I 4 B.