

DŽIOVINTŲ IR ŠVIEŽIŲ VYNUOGIŲ ODELIŲ KOKYBINIS VERTINIMAS PAGAL FENOLINIŲ JUNGINIŲ KIEKĮ IR ANTIRADIKALINIŲ AKTYVUMĄ

Diana Barragan Ferrer, Jesus Manuel Barragan Ferrer, Justinas Venckus

Kauno kolegijos Medicinos fakultetas

Raktažodžiai: vynuogių odelės, fenoliniai junginiai, antiradikalinis aktyvumas.

Santrauka

Vynuogės – vieni iš labiausiai vartojamų vaisių pasaulyje. Didėjanti jų paklausa susijusi su biologine verte, kurią lemia vynuogėse esantys fenoliniai junginiai, pasižymintys antioksidacinėmis savybėmis. Dėl šios priežasties skiriama nemažai dėmesio maisto pramonės atliekų, kurių sudėtyje yra fenolinių medžiagų likučių, utilizavimui. Viena iš pagrindinių atliekų, susidarantių gaminant vynuogių produktus – odelės. Norint įvertinti jų naudą žmogaus organizmui, vertėtų nustatyti įvairių kultivarų vynuogių spalvos, vynmedžio vaisių egzokarpo šviežumo ir džiovinimo įtaką antioksidantų kiekiui ir jų savybėms.

Tyrimo tikslas – nustatyti džiovintų ir šviežių vynuogių odelių fenolinių junginių kiekį ir antiradikalinį aktyvumą. Tyrimo rezultatai parodė, kad džiovintos vynuogių odelėse fenolinių junginių kiekis ir antiradikalinis aktyvumas yra mažesnis, nei šviežiose vaisiaus egzokarpuose. Mažiausias bendrasis fenolinių junginių kiekis nustatytas šviežiose *Himrod* veislės vynuogių odelėse. Didžiausias bendrasis fenolinių junginių kiekis nustatytas šviežiose *Merlot* veislės vynuogių odelėse.

Įvadas

Vynuogės – vieni iš labiausiai vartojamų vaisių pasaulyje, o vynuogininkystė svarbi dabartinei pasaulio ekonomikai. Vynmedžiai auginami ir vertinami nuo seniausių laikų. Yra duomenų, kad vynuogės buvo kultivuojamos jau 7500 pr. m. e. [1], o jų produktų maistinė ir biologinė vertė buvo pripažinta senovės Egipto, Mesopotamijos ir kitų civilizacijų [2]. Vynuogės farmakologinės svarbos neprarado iki šiol. Mokslininkai ir visuomenė vis labiau pripažįsta, kad vynuogės, kaip maisto produktas, gali būti susijusios su geresne sveikata [3-4]. Vynmedžio vaisių vartojimo ir sveikos

gyvensenos sąsajos aktualumą atskleidžia prieš porą dešimtmečių pradėtas analizuoti „prancūziškas paradoksas“ [5]. Nors prancūzų mityboje gausu polisočiųjų riebalų, o daugelis šalies gyventojų per mažai laiko skiria mankštai, nesaikingai vartoja alkoholį, jų sergamumas kardiovaskulinėmis patologijomis yra santykinai mažas [6-7]. Tai rodo Prancūzijos ir kitų išsivysčiusių šalių gyventojų mirtingumo nuo širdies ir kraujagyslių ligų rodiklių skirtumai. Vokietijoje gyvenančių vyrų mirtingumas nuo išeminės širdies ligos buvo 63,16 proc. (2,09 atv./1000 gyv.), o moterų – 71,98 proc. (1,07 atv./1000 gyv.) didesnis, nei Prancūzijoje. Teigiama, kad mažesnė susirgimo koronarinėmis ligomis rizika susijusi su kasdieniu, saikingu raudonojo vyno vartojimu [6]. Tai galima pagrįsti remiantis tuo, kad vynuogėse, kurias galima valgyti šviežias arba džiovintas, ir jų produktuose, yra bioaktyvių fitomedžiagų, susijusių su antiradikaliniu aktyvumu – fenolinių junginių [1]. Dėl visuomenės noro sveikai gyventi, per pastaruosius kelerius metus vis daugiau dėmesio skiriama maisto pramonės atliekų, ypač tų, kurių sudėtyje yra augalinės kilmės antioksidantų likučių, utilizavimui. Viena iš pagrindinių atliekų, susidarantių gaminant vyną ir kitus vynuogių produktus, ar išgaunamų iš sutraiškytų vaisių, yra išsunktos odelės [8]. Norint įvertinti jų naudą žmogaus organizmui, vertėtų atsižvelgti į tai, kokią įtaką odelių cheminei sudėčiai ir biologiniam poveikiui gali turėti tam tikrų skirtingiems kultivarams priklausančių vynuogių morfologinių požymių, pavyzdžiui, spalvų skirtumai, odelių šviežumas, jų apdorojimas, išgarinant drėgmę.

Tyrimo tikslas yra nustatyti džiovintų ir šviežių vynuogių odelių fenolinių junginių kiekį ir antiradikalinį aktyvumą.

Tyrimo objektas ir metodika

Mėginių paruošimas. Siekiant įvertinti bendrąjį vynuogių odelėse esančių fenolinių junginių kiekį ir antiradikalinį aktyvumą, pasirinktos Lietuvoje auginamų vynuogių veislės *Himrod* (žaliųjų vynuogių veislė), *Red globe* (raudonųjų vynuogių veislė), *Merlot* (mėlynųjų vynuogių veislė), atsižvelgiant į skirtingą uogų spalvą, kultivavimo (vaisiai buvo

nuskinti rugsėjo mėnesį Jonavos, Pasvalio rajonų vynuogynuose) ir laikymo (raudonosios ir mėlynosios vynuogės iki 6 mėn. buvo saugomos žemoje -17 °C temperatūroje) sąlygas. Iš kiekvieno tiriamojo vynmedžio kultivaro nuluptų uogų šviežių ir išdžiovintų odelių užpylimo metodu buvo ruošiami ekstraktai, kurių pagrindas – mėginių fitokomponentų selektyvus ištirpinimas ir atskyrimas vandenyje. 1 g mėginio buvo homogenizuojamas grūstuvėlėje, o 1 proc. gautos žaliavos buvo užpiltas 100 ml distiliuoto vandens ir laikomas skirtingais laiko intervalais: 5, 10, 15, 20, 25 ir 30 minučių.

Suminis fenolinių junginių kiekis. Bendrojo fenolinių junginių kiekio nustatymui taikytas kolorimetrinis Folin-Ciocalteu (F-C) metodas, rezultatus išreiškiant galo rūgšties ekvivalentais (toliau – GAE) vienam gramui odelių (mg/g). Į 100 ml matavimo kolbą buvo įpiltas 1 ml ekstrakto, 5 ml 10% darbinio Folin-Ciocalteu reagento, 4 ml 7,5% Na₂CO₃ tirpalo. Mišinys praskiestas distiliuotu vandeniu iki 100 ml ir 60 min. laikytas tamsioje vietoje, esant kambario temperatūrai, kol baigsis reakcija. Po to spektrofotometru buvo matuojamas mėginio optinis tankis, esant 750 nm bangos ilgiui. Kaip palyginamasis tirpalas naudotas distiliuotas vanduo. Kiekvieno ekstrakto absorbcija buvo matuojama mažiausiai triskart – iš gautų duomenų buvo išvedamas aritmetinis vidurkis. Rezultatai nurodomi remiantis galo rūgšties kali-

1 lentelė. Skirtingais laiko intervalais paruoštų šviežių vynuogių odelių ekstraktų fenolinių junginių kiekis ir antiradikalinis aktyvumas.

Vynuogės veislė	Ekstrahavimo trukmė, min.	Bendras fenolinių junginių kiekis, GAE mg/g	DPPH inaktyvacija, proc.
Himrod	5	1,87 ± 0,00	50,92 ± 0,25
	10	1,94 ± 0,01	51,51 ± 0,25
	15	1,99 ± 0,01	52,63 ± 0,15
	20	2,14 ± 0,01	53,75 ± 0,25
	25	2,19 ± 0,01	54,40 ± 0,20
	30	2,20 ± 0,01	56,83 ± 0,35
Merlot	5	2,91 ± 0,01	66,90 ± 0,30
	10	2,99 ± 0,01	67,71 ± 0,15
	15	3,05 ± 0,01	69,17 ± 0,05
	20	3,19 ± 0,02	69,40 ± 0,25
	25	3,27 ± 0,01	70,75 ± 0,15
	30	3,33 ± 0,02	71,52 ± 0,10
Red globe	5	2,69 ± 0,01	64,39 ± 0,25
	10	2,73 ± 0,01	64,64 ± 0,20
	15	2,78 ± 0,01	65,56 ± 0,15
	20	2,87 ± 0,01	66,21 ± 0,20
	25	2,93 ± 0,01	66,82 ± 0,25
	30	3,16 ± 0,02	67,41 ± 0,25

bracine kreive ir formule: $GRE = c * \frac{V}{m}$; $GRE = c * \frac{V}{m}$; čia c – galo rūgšties koncentracija (mg/ml), V – pagaminto ekstrakto kiekis (ml); m – pasvertas žaliavos kiekis (g) [9].

Antiradikalinis aktyvumas. Nustatyti antiradikalinį vynuogių odelių aktyvumą taikytas 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo (toliau – DPPH) radikalų surišimo metodas. 50 µl tiriamojo ekstrakto buvo sumaišyta su 2 ml 6×10⁻⁵ M DPPH tirpalo. Taip pat buvo ruošiamas tuščias bandinys, kuriame sumaišyta 50 µl 70% (V/V) vandens ir etanolio mišinio su 2 ml 6×10⁻⁵ M DPPH tirpalo. Spektrofotometru išmatuotas tuščio bandinio optinis tankis, esant bangos ilgiui 515 nm, o po 30 min. – etanolinio ekstrakto ir DPPH tirpalo absorbcijos sumažėjimas. Antiradikalinis ekstraktų aktyvumas išreikštas

surišto DPPH procentais: $DPPH = \frac{(Ab-Aa)}{Ab} * 100 \text{ proc.}$

$DPPH = \frac{(Ab-Aa)}{Ab} * 100 \text{ proc.}$; čia Aa – bandinio su tiriamuoju ekstraktu absorbcijos dydis (po 30 min.); Ab – tuščio bandinio absorbcijos dydis (t = 0 min.) [10].

Tyrimo rezultatai

Šviežių vynuogių odelių antioksidacinės savybės. Tiriant šviežių vynuogių odelėse esančių aktyvių fitokomponentų kiekybinę sudėtį, nustatyta, kad bendrajam skirtingiems

2 lentelė. Skirtingais laiko intervalais paruoštų džiovintų vynuogių odelių ekstraktų fenolinių junginių kiekis ir antiradikalinis aktyvumas.

Vynuogės veislė	Ekstrahavimo trukmė, min.	Bendras fenolinių junginių kiekis, GAE mg/g	DPPH inaktyvacija, proc.
Himrod	5	1,40 ± 0,02	49,17 ± 0,25
	10	1,47 ± 0,01	49,79 ± 0,35
	15	1,67 ± 0,01	50,32 ± 0,45
	20	1,79 ± 0,01	51,15 ± 0,25
	25	1,85 ± 0,00	51,36 ± 0,20
	30	1,87 ± 0,01	52,02 ± 0,15
Merlot	5	2,50 ± 0,05	62,92 ± 0,05
	10	2,60 ± 0,01	63,00 ± 0,35
	15	2,64 ± 0,05	65,20 ± 0,20
	20	2,77 ± 0,02	65,43 ± 0,10
	25	2,85 ± 0,02	66,41 ± 0,02
	30	2,91 ± 0,01	66,97 ± 0,35
Red globe	5	2,31 ± 0,02	59,29 ± 0,25
	10	2,34 ± 0,02	60,17 ± 0,15
	15	2,39 ± 0,00	61,29 ± 0,10
	20	2,47 ± 0,01	62,25 ± 0,20
	25	2,53 ± 0,02	63,07 ± 0,35
	30	2,71 ± 0,01	64,40 ± 0,15

kultivarams priklausančių vynmedžių uogų egzokarpuose sukauptų fenolinių junginių kiekiui ir jų antiradikaliniam aktyvumui turėjo įtakos mėginių ekstrakcijos vandenyje trukmė – jai ilgėjant, didėjo ekstrahente išsiskyrusių tirpinių koncentracija ir stiprėjo jų savybės, susijusios su oksidacijos lėtinimu ir stabdymu (1 lentelė).

Mažiausias bendrasis fenolinių junginių kiekis, išreikštas galo rūgšties ekvivalentais vienam gramui žaliavos, nustatytas šviežiose *Himrod* veislės vynuogių odelėse, kuris, priklausomai nuo skirtingų ekstrakcijos intervalų, kito nuo 1,87 iki 2,20 mg/g ir vidutiniškai siekė 2,05 mg/g. Gerokai didesnė antioksidantų koncentracija visuose laiko intervaluose nustatyta neapdorotose *Red globe* veislės vynuogių odelėse. Didžiausiais bendro fenolinių junginių kiekio ir DPPH radikalų surišimo rodikliais pasižymėjo *Merlot* veislės vynuogių odelių ekstraktai. Iš šių mėlynųjų vynuogių šviežių odelių išskirtų fenolinių darinių kiekis po 5 min. ekstrahavimo buvo 8,05 proc., po 10 min. – 9,80 proc., po 15 min. – 9,69 proc., po 20 min. – 10,86 proc., po 25 min. – 11,64 proc., o po 30 min. – 5,22 proc. didesnis, nei *Red globe* veislės vynuogių odelių mėginiuose. Mėlynųjų vynuogių šviežių odelių ekstrakte esančių fenolinių ir polifenolinių junginių kiekis visais laiko intervalais buvo didesnis, nei šviežių žaliųjų vynuogių odelių mėginiuose: po 5 min. maceracijos antioksidantų koncentracija *Merlot* veislės vynuogių odelių ekstrakte buvo 56 proc., po 10 min. – 54,31 proc., po 15 min. – 52,86 proc., po 20 min. – 48,74 proc., po 25 min. – 49,7, po 30 min. – 51,41 proc. didesnė, nei šviežių žaliųjų vynuogių. Vertėtų pabrėžti, kad žaliosioms vynuogėms buvo būdingas ir silpniausias antiradikalinis aktyvumas (1 lentelė), kurio reikšmė priklausomai nuo laiko intervalų varijavo nuo 50,92 iki 56,83 proc. (vidurkis – 53,88 proc.). Šviežiose *Red globe* veislės vynuogių odelėse sukauptų medžiagų antiradikalinis aktyvumas vidutiniškai siekė 65,84 proc., po 5 min. ekstrakcijos buvo 26,45 proc., po 10 min. – 25,49 proc., po 15 min. – 24,57 proc., po 20 min. – 23,18 proc., po 25 min. – 22,83 proc., po 30 min. – 18,62 proc. didesnis nei šviežių *Himrod* veislės vynuogių odelių preparate. Vidutinė nedžiovinėtų mėlynųjų vynuogių odelių antioksidacinio aktyvumo reikšmė siekė 69,24 proc.; po 5 min. ekstrahavimo buvo 3,9 proc., po 10 min. – 4,75 proc., po 15 min. – 5,51 proc., po 20 min. – 4,82 proc., po 25 min. – 5,88 proc., po 30 min. – 6,10 proc. didesnė nei šviežių *Red globe* veislės vynuogių odelių mėginiuose. Šviežių *Merlot* veislės vynuogių odelių ekstraktų antiradikalinis aktyvumas po 5 min. maceracijos buvo 31,38 proc., po 10 min. – 31,45 proc., po 15 min. – 31,43 proc., po 20 min. – 29,12 proc., po 25 min. – 30,06 proc., po 30 min. – 25,85 proc. didesnis, nei *Himrod* veislės vynuogių odelių mėginiuose.

Džiovinėtų vynuogių odelių antioksidacinės savybės.

Terminis žaliavos konservavimas džiovinimo būdu, kaip ir skirtingos trukmės ekstrahavimas, taip pat paveikė vynuogių odelių cheminę sudėtį. Vertinant šviežių ir džiovinėtų vynuogių odelių antioksidacines savybes, nustatyta, kad drėgmės pašalinimas iš žaliavos sumažino vynmedžio vaisių egzokarpo ekstraktuose išsiskyrusių fenolinių junginių kiekį ir jų antiradikalinį aktyvumą (2 lentelė). Galima manyti, kad tai yra susiję su oksidacine ir termine fenolinių fitokomponentų degradacija, kai džiovinant dėl molekulėms nuolat teikiamos kinetinės energijos nutrūksta fenoliniuose junginiuose silpnesnės elektrosstatinės jėgos. Šia prielaida galima paaiškinti ir tai, kad džiovinimo poveikis fenolinių junginių kiekiui ir antiradikaliniam aktyvumui vynuogių odelėse nebuvo didelis: dėl aukštos temperatūros galėjo pakisti kai kurių oksidazių ir peroksidazių, dalyvaujančių oksidaciniame streso ir polimerizuojančių fenolinius junginius, aktyvumas, o suskilus kompleksiniams fenoliams, pavyzdžiui, taninams, arba esterio, glikozidų frakcijoms, – susidaryti mažesnės molekulinės masės fenolinių junginių, po ekstrakcijos galinčių laisvai reaguoti su Folin-Ciocalteu reagentu ir surišti DPPH radikalus.

Džiovinantose *Himrod* veislės vynuogių odelėse fenolinių ir polifenolinių junginių kiekis siekė nuo 1,40 mg/g iki 1,87 mg/g. Bendrojo džiovinantose žaliųjų vynuogių žievelėse akumuliuotų antioksidantų kiekio vidurkis – 1,67 mg/g. Suminio fenolinių junginių kiekio vidutinė reikšmė šviežių odelių preparatuose po džiovinimo sumažėjo 18,54 proc. Po 5 min. ekstrakcijos iš neapdorotų žaliųjų vynuogių odelių išskirtų antioksidantų išeiga buvo didesnė 32,90 proc., po 10 min. – 32,17 proc., po 15 min. – 19,42 proc., po 20 min. – 19,34 proc., po 25 min. – 18,21 proc., po 30 min. – 17,69 proc. už džiovinėtų odelių mėginiuose, paruoštuose atitinkamais laiko intervalais, fitokomponentų kiekį.

Džiovinatoje *Red globe* veislės vynuogių odelių žaliavoje nustatytas aktyvių fitokomponentų kiekis kito nuo 2,31 mg/g iki 2,71 mg/g, vidutiniškai siekė 2,46 mg/g – 19,34 proc. mažiau, negu šviežių raudonųjų vynuogių odelėse. Po 5 min. maceracijos iš neapdorotų raudonųjų vynuogių odelių išskirtų fitokomponentų kiekis buvo didesnis 16,70 proc., po 10 min. – 16,28 proc., po 15 min. – 16,21 proc., po 20 min. – 16,31 proc., po 25 min. – 15,87 proc., po 30 min. – 16,5 proc. už džiovinėtų odelių preparatuose esančių antioksidantų kiekį. Vertinant skirtingus vynuogių kultivarus pagal suminį fenolinių junginių kiekį ir antiradikalinį aktyvumą odelėse, galima išskirti *Merlot* veislės vynuoges, neatsižvelgiant į jų apdorojimą. Šių mėlynųjų vynuogių odelėse po džiovinimo nustatytas aktyvių fitokomponentų kiekis varijavo nuo 2,5 mg/g iki 2,91 mg/g. Po 5 min. ekstrahavimo iš šviežių mėlynųjų vynuogių odelių išskirtų antioksidantų kiekis buvo didesnis 16,66 proc., po 10 min. – 15,25 proc.,

po 15 min. – 15,45 proc., po 20 min. – 14,90 proc., po 25 min. – 14,68 proc., po 30 min. – 14,10 proc. už džiovintų odelių preparatuose esančių fenolinių junginių kiekį, vidutiniškai sumažėjusį 15,17 procento.

Išvados

1. Apibendrinant galima teigti, kad džiovinimas turėjo įtakos vynuogių odelėse esančių fenolinių junginių antioksidaciniam aktyvumui. Nustatyta, kad visų džiovintų vynuogių – žaliųjų, raudonųjų, mėlynųjų – odelių antiradikalinis aktyvumas buvo mažesnis, nei šviežių. Mažiausiai DPPH radikalų neutralizavo žaliųjų vynuogių odelės, nepriklausomai nuo to, ar jos buvo tiriamos šviežios, ar prieš tyrimą buvo džiovintos. Didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymėjo šviežios ir džiovintos mėlynųjų vynuogių odelės.

Literatūra

1. Jackson R S. Wine science – principles and applications. Burlingtonas: Academic Press 2014.
2. Nikolova P, Stoyanov Z, Doncheva D, Trendafilova S. Wine as a medicine in ancient times. Scripta Scientifica Pharmaceutica 2018;5(2):14-21.
3. Snopek L, Mlcek J, Sochorova L, Baron M, Hlavacova I, Jurikova T, Sochor J. Contribution of red wine consumption to human health protection. Molecules 2018; 23(7):1684.
4. Vecchio R, Decordi G, Grésillon L, Gugenberger C, Mahéo M, Jourjon F. European consumers' perception of moderate wine consumption on health. Wine Economics and Policy 2017;6(1):14-22.
5. Ferrières J. The French paradox: lessons for other countries. Heart 2004;90(1):107-111.
6. Baranchuk A, Haseeb S, Alexander B. Wine consumption and cardiovascular health: an expert opinion. Intern Soc Cardiovas Pharmacother 2017;136(15):1434–1448.
7. Sadeghi L, Ayogbe A E, Beyeler M, Jenzer H. Wine consumption and chronic disease. The Canadian Journal of Clinical Nutrition 2017;5(1): 64-71.
8. Hornsey I S. The chemistry and biology of winemaking. The Royal society of Chemistry. 2007.
9. Barragan Ferrer D, Venskutonis P, Talou T, Zebib B, Barragan Ferrer J, Merah O. Identification and in vitro activity of bioactive compounds extracted from tussilago farfara (l.) Plant Grown in Lithuania and France. Free Radicals Antioxidants 2017;8:576–85.
10. Dobravalskyte D, Venskutonis PR, Talou T, Zebib B, Merah O, Ragazinskiene O. Antioxidant Properties and Composition of Deodorized Extracts of Tussilago farfara L. Rec. Nat. Prod. ACG Publications 2013;7:201.

THE QUALITATIVE EVALUATION OF DRIED AND FRESH GRAPE PEELS BY PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIRADICAL

D. Barragan Ferrer, J. M. Barragan Ferrer, J. Venckus

Keywords: grape peels, phenolic compounds, antiradical activity.

Summary

Grapes have been one of the most popular fruits in the world for many centuries. The increasing demand for these berries is linked to phenols which give the grapes particular antioxidant properties. This is the reason why there is an evident focus on the industrial wastes, containing residual phenolic compounds from the plant materials. A lot of grape pomace is produced in the course of wine-making and grape peels make up a major portion of the marc. In order to evaluate the health benefits of eatings grape skins, it seems plausible to determine whether the color of various grape varieties, the freshness and the drying process of grape peels have an effect on the amount of phenolic compounds and the antioxidant activity of grape skins. The purpose of this study was to determine the amount of phenolic compounds and the antiradical activity of dried and fresh grape peels. From the obtained results it was found that the smallest presence of phenols and the antioxidant activity were determined in the *Himrod* grape skins samples. The total amount of phenols in the fresh white grape peels ranged from 1.87 to 2.20 mg/g. The antioxidant activity of white grape peels ranged from 50.92 to 56.83 percent. The largest total amount of phenolic compounds was found in the fresh *Merlot* grape skin samples and ranged from 2.91 to 3.33 mg/g. Moreover, these samples had the largest antioxidant activity which ranged from 66.90 to 71.52 percent. The total amount of phenols in the dried samples of white *Himrod* grape skins decreased on average by 18.54 percent (*Red globe*–19.34 percent; *Merlot*–15.17 percent). The antioxidant activity of driedwhitegrape peelsdecreased on average by 5.03 percent (*Red globe* – 4.91 percent, *Merlot* – 6.14 percent). The conclusion: It was established that dried grape skins had the smaller amount of phenols and the antioxidant activity than fresh grape peels.

Correspondence to: diana.barragan.ferrer@go.kauko.lt

Gauta 2019-10-03