

*Sylwester Czaplicki, Eulalia J. Borowska, Agnieszka Sawczuk,  
Radosław Krajewski*

## SOKI Z UDZIAŁEM WINOGRON I WINA JAKO ŹRÓDŁO SKŁADNIKÓW BIOAKTYWNYCH

Katedra Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych, Wydział Nauki o Żywności,  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie  
Kierownik: prof. dr hab. *E. J. Borowska*

*Oznaczono zawartość związków fenolowych ogółem i zawartość trans-rezweratrolu w handlowych sokach z udziałem soku z winogron i winach. Określono ponadto zdolność do wygaszania aktywności rodnika DPPH<sup>•</sup> przez te produkty. Wyniki opracowano statystycznie w oparciu o program Statistica<sup>TM</sup> 8.0 PL określając wartości średnie, odchylenia standardowe, współczynniki korelacji oraz istotność różnic w teście Tukey'a.*

Hasła kluczowe: soki, wina, polifenole, rezweratrol, DPPH<sup>•</sup>.  
Key words: juices, wines, polyphenols, resveratrol, DPPH<sup>•</sup>.

Owoce winogron, oraz produkty z nich otrzymane, jak soki i wina, charakteryzują się znaczną zawartością składników bioaktywnych, a dominującymi są związki fenolowe (1, 2). Wielu autorów podkreśla występowanie w produktach z winogron rezweratrolu, który wykazuje m.in. właściwości przeciwtłeniające, antynowotworowe, przeciwgrzybiczne, antywirusowe, antibakteryjne oraz silne przeciwzapalne (3, 4). Rezweratrol i inne stilbeny wytwarzane są przez rośliny w odpowiedzi na stres wywołany czynnikami mechanicznymi, bądź też infekcjami grzybowymi lub promieniowaniem UV (5). Wg *Shakibaei* i współpr. (6) stężenie rezweratrolu w skórce i nasionach winogron jest dużo większe niż w miększu. Szczególnie bogate w ten związek są ciemne winogrona (7). Szerokie spektrum biologicznego oraz farmakologicznego działania zwłaszcza formy *trans*-rezweratrolu, skierowało uwagę wielu badaczy na produkty zawierające rezweratrol. Na jego obecność w sokach z winogron wskazują m.in. *Romero- Pérez* i współpr. (8) oraz *Dani* i współpr. (2). W winach, zwłaszcza czerwonych występowanie rezweratrolu stwierdzili m.in. *Sun* i współpr. (9) oraz *Wang* i współpr. (10).

Mimo wielu informacji wskazujących na dużą częstotliwość występowania rezweratrolu w tych produktach, wg niektórych autorów (2) rezweratrol jest wytwarzany przede wszystkim przez winogrona uprawiane w systemie ekologicznym. Natomiast winogrona z upraw konwencjonalnych nie zawierają tego

związku lub zawierają ilości śladowe (2). Mając to na uwadze podjęto badania mające na celu określenie zawartości związków fenolowych ogółem, zawartości *trans*-rezweratrolu oraz właściwości przeciwutleniających kilku soków i win, dostępnych na rynku krajowym.

## MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły 4 soki handlowe: z czerwonych winogron, z białych winogron, bananowo- winogronowy i winogronowo- porzeczkowy oraz 4 wina gronowe: czerwone półwytrawne włoskie Sole D'Italia, czerwone półwytrawne hiszpańskie El Sol, czerwone półwytrawne kalifornijskie Carlo Rossi oraz białe półwytrawne hiszpańskie Don Solis. Analizie poddano po trzy opakowania każdego produktu, które zakupiono w sieci handlowej Olsztyna w 2010 roku.

W produktach oznaczono: zawartość polifenoli wg AOAC (11) poprzez pomiar spektrofotometryczny przy długości fali 720 nm, zawartość rezweratrolu wg *Romero-Pérez* i współpr. (12) przy użyciu systemu HPLC serii 1200 firmy Agilent Technologies wyposażonego w pompę czterokanałową oraz detektor fotodiodowy (PDA). Rozdział chromatograficzny prowadzono na kolumnie Synergi Fusion RP-18, 150 x 2,0 mm, 4  $\mu$ m w temperaturze 30°C. Podczas analizy zastosowano gradient rozpuszczalników: A) woda: acetonitryl: kwas mrówkowy (98,9:1:0,1), B) acetonitryl:kwas mrówkowy (99,9:0,1). Analizę ilościową przeprowadzono w oparciu o krzywą kalibracyjną. Zdolność wygaszania aktywności rodnika DPPH<sup>•</sup> oznaczono wg *Moure* i współpr. (13). Z każdego opakowania pobrano po trzy próbki, w których analizy wykonano w trzech powtórzeniach (n=9).

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono stosując analizę wariancji z testem *Tukey'a* na poziomie istotności  $p < 0,05$ , przy użyciu programu komputerowego Statistica<sup>TM</sup> 8.0. Ustalono korelacje (r) między pomiędzy zawartością polifenoli a zdolnością wychwytywania wolnych rodników DPPH<sup>•</sup> ( $p = 0,05$ ).

## WYNIKI I ICH OMÓWINIE

Analizowane soki i wina charakteryzowały się zbliżonym zakresem związków fenolowych ogółem, odpowiednio dla soków: 2,29-23,43 g/l i dla win: 2,31-21,67 mg/l (tab. I). Najmniejszą ich zawartością charakteryzował się sok z białych winogron oraz wino białe półwytrawne hiszpańskie Don Solis. Należy podkreślić, że zarówno badane przez nas soki, jak i wina, różniły się istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ) pod względem zawartości polifenoli (tab. I).

Tabela 1. Zawartość polifenoli i rezweratrolu oraz aktywność przeciwutleniająca soków i win

Table 1. Content of polyphenols and resveratrol as well as antioxidant activity of juices and wines

Produkt badany	Polifenole (g/l)	Aktywność przeciwutleniająca ( $\mu\text{M}$ DPPH /mg polifenoli)	Aktywność przeciwutleniająca (mM DPPH /l wina)	trans-rezweratrol (mg/l wina)
Soki				
Sok z czerwonych winogron	23,43 <sup>a</sup> ± 0,12	4,85 <sup>a</sup> ± 0,09	114,0 ± 7,80	0,075 ± 0,002
Sok z białych winogron	2,29 <sup>b</sup> ± 0,07	0,49 <sup>b</sup> ± 0,03	1,1 ± 0,07	no
Sok bananowo-winogronowy	8,28 <sup>c</sup> ± 0,11	8,35 <sup>c</sup> ± 0,24	69,4 ± 0,54	no
Sok z winogron i czarnej porzeczki	11,45 <sup>d</sup> ± 0,19	6,88 <sup>d</sup> ± 0,21	78,8 ± 4,21	no
Wina				
El Sol	21,67 <sup>A</sup> ± 0,18	6,03 <sup>AB</sup> ± 0,09	130,6 ± 8,52	no
Sole D' Italia	17,05 <sup>B</sup> ± 0,10	6,19 <sup>B</sup> ± 0,08	105,6 ± 6,78	0,160 ± 0,014
Carlo Rossi	13,78 <sup>C</sup> ± 0,11	5,56 <sup>A</sup> ± 0,11	76,5 ± 5,42	no
Don Solis	2,31 <sup>D</sup> ± 0,06	0,26 <sup>C</sup> ± 0,02	0,6 ± 0,01	no

Wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami (a, b, c,... lub A, B, C,...) różnią się istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ); wartości prezentowane w tabeli są wartościami średnimi dla  $n=9$ ; no – nie oznaczono.

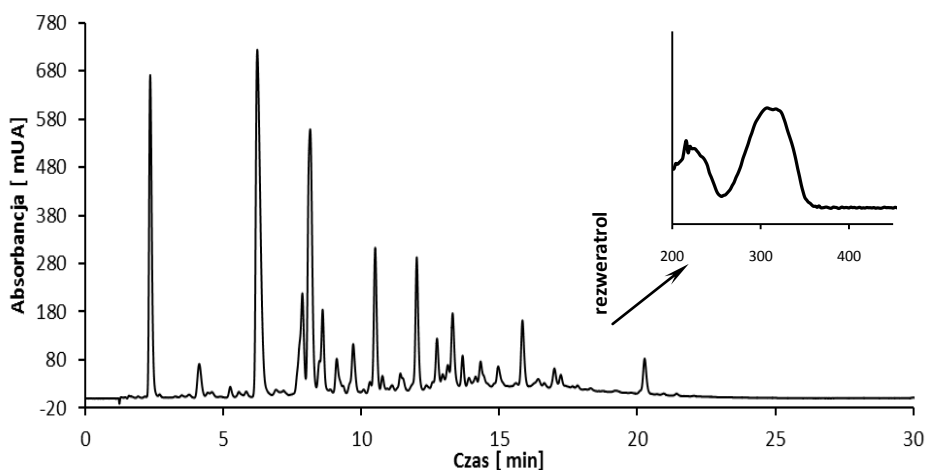
Stężenie związków fenolowych ogółem w analizowanych przez nas sokach oznaczonych z odczynnikiem *Folina-Ciocalteua*, jest zbliżone do wyników uzyskanych przez *Haight i Gump* (14), którzy podają zawartość polifenoli w sokach z czerwonych winogron w zakresie 3,10-23,30 g/l, natomiast w sokach z białych winogron w granicach 0,18-4,15 g/l. Podobnie jak w naszych badaniach, *Stratil i współpr.* (15) stwierdzili największą zawartość polifenoli w winach czerwonych, co wynika przede wszystkim z obecności antocyjanów. Na mniejsze stężenie polifenoli wskazują natomiast *Gawlik i współpr.* (16).

Analiza badanych przez nas produktów wykazała obecność *trans*- rezweratrolu tylko w soku z czerwonych winogron (0,07 mg/l soku) i w winie Sole D' Italia (0,16 mg/l wina) (tab. 1). Przedstawiony przykładowo na ryc. 1 chromatogram, wskazuje na obecność formy *trans*- rezweratrolu w winie Sole D' Italia. Wg wielu autorów obecność rezweratrolu w winach uwarunkowana jest w znaczącym stopniu technikami produkcji win i soków, przy czym szczególne znaczenie przypisuje się procesowi maceracji miazgi owocowej (17). Wg *González- Barrio i współpr.* (18) podwyższenie temperatury maceracji miazgi owoców winogron białych spowodowało ponad 20-krotne zwiększenie zawartości rezweratrolu w sokach.

Również środki klarujące i filtry mogą wpływać na zmniejszenie poziomu rezweratrolu i jego pochodnych w sokach i winach (19, 20). *Yasui i współpr.* (21) oznaczyli *trans*- rezweratrol w japońskich sokach winogronowych na poziomie 0,04-0,44 mg/l, natomiast *Soleas i współpr.* (22) w różnych rodzajach soków winogronowych oznaczyli *trans*- rezweratrol w stężeniu 3-15  $\mu\text{g/l}$ , przy czym nie wykazali obecności *cis*-rezweratrolu. *Romero- Pérez i współpr.* (23) podają, że w sokach z białych winogron, w zależności od odmiany, *trans*- rezweratrol występuje

na poziomie od 0,003 mg/l do 1,09 mg/l. Jednakże autorzy ci, w swoim doświadczeniu nie wzięli pod uwagę możliwości wystąpienia glikozydowych form tych związków, mianowicie- *trans*-piceidu i *cis*-piceidu. Wcześniej, *Romero-Pérez* i współpr. (24) obecność tych form stwierdzili w białych winach. Mniejsze stężenie rezweratrolu w winach białych niż w czerwonych, autorzy tłumaczą brakiem kontaktu nastawu wina ze skórkami winogron białych podczas procesu maceracji i następnie fermentacji. Potwierdzają to m.in. badania *Okuda* i *Yokotsuka* (25), którzy wykazali, że zawartość *trans*-rezweratrolu zarówno w skórkach białych, jak i czerwonych winogron, kształtuje się na zbliżonym poziomie. Informacje literaturowe dotyczące występowania rezweratrolu w sokach z winogron są zróżnicowane. *Dani* i współpr. (2) oznaczyli rezweratrol tylko w sokach z czerwonych winogron, w sokach z białych winogron obecności tego związku nie stwierdzili, przy czym większe ilości rezweratrolu zawierały soki uzyskane z winogron uprawianych systemem ekologicznym w porównaniu z uprawą konwencjonalną. Duże ilości rezweratrolu w sokach z winogron, w zakresie 25,9-34,3 mg/l, stwierdzili *de Freitas* i współpr. (26). Podają oni jednak jego całkowitą zawartość, włączając izomery *trans*- i *cis*- rezweratrolu oraz *trans*- i *cis*- piceidy tego związku.

Analizowane soki i wina w większości przypadków różniły się istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ) pod względem zdolności wygaszania aktywności rodnika DPPH<sup>•</sup> (tab. I). Odnosząc wyniki na L soku lub wina, największe wartości uzyskano dla produktów z czerwonych winogron. Wyliczone współczynniki korelacji między stężeniem polifenoli a zdolnością wygaszania aktywności DPPH<sup>•</sup> są bardzo wysokie; dla soków  $r = 0,96$ , a dla win  $r = 0,98$ . Na występowanie korelacji między tymi wyróżnikami wskazują także i inni autorzy (27).



Ryc. 1. Chromatogram i widmo UV-Vis rezweratrolu wina Sole D' Italia.

Fig. 1. Chromatogram and UV-Vis spectrum of Sole D' Italia wine resveratrol.

## WNIOSKI

1. Analizowane soki handlowe zawierające sok z winogron oraz wina charakteryzowały się szerokim zakresem polifenoli; szczególnie dobrym źródłem tych związków są produkty z winogron czerwonych.

2. Soki z winogron czerwonych i wina czerwone odznaczały się także największą zdolnością do wygaszania aktywności rodnika DPPH; między tym wyróżnikiem a stężeniem polifenoli wykazano bardzo wysoką korelację.

3. Wśród ocenianych produktów, obecność *trans*- rezweratrolu stwierdzono w soku z winogron czerwonych oraz w winie Sole D'Italia.

S. Czaplicki, E. J. Borowska, A. Sawczuk, R. Krajewski

## JUICES WITH GRAPE FRUITS AND WINES AS SOURCE OF BIOACTIVE SUBSTANCES

## Summary

Total phenolic compounds and resveratrol content in commercial juices with addition of grape juice and wines were analyzed. Their ability to DPPH radical scavenging was also specified. The results were statistically prepared with Statistica™ 8.0 PL program. The highest polyphenols content and ability to DPPH radical scavenging were observed in red grape juice and red wine. In red grape juice and Sole D'Italia red wine resveratrol was only observed.

## PIŚMIENNICTWO

1. Czech A., Malik A., Pitucha I., Woźnica A.: Porównanie zawartości związków bioaktywnych w winach czerwonych pochodzących z różnych krajów europejskich. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009; 65 (4): 142-148.- 2. Dani C., Oliboni L.S., Vanderlinde R., Bonatto D., Salvador M., Henriques J.A.P.: Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufactured with organically- or conventionally- produced grapes. *Food. Chem. Toxicol.*, 2007; 45 (12): 2574-2580.- 3. Kim H.J., Chang E.J., Cho S.H., Chung S.K., Park H.D., Choi S.W.: Antioxidative activity of resveratrol and its derivatives isolated from seeds of *Paeonia lactiflora*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2002; 66 (9): 1990-1993.- 4. Wu J.M., Wang Z.R., Hsieh T.C., Bruder J.L., Zou J.G., Huang Y.Z.: Mechanism of cardioprotection by resveratrol a phenolic antioxidant present in red wine. *Intern. J. Molec. Med.*, 2001; 8 (1): 3-17.- 5. Aggarwal B.B., Bhardwaj A., Aggarwal R.S., Seeram N.P., Shishodia S., Takada Y.: Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res.*, 2004; 24 (5A): 2783-2840.- 6. Shakibaei M., Harikumar K.B., Aggarwal B.B.: Resveratrol addition: to die or not to die. *Molec. Nutr. & Food Res.*, 2009; 53 (1): 115-128.- 7. Daniel O., Meier M.S., Schlatter J., Frischknecht P.: Selected phenolic compounds in cultivated plants: ecologic functions, health implications, and modulation by pesticides. *Environ. Health Perspect.*, 1999; 107: 109-114.- 8. Romero-Pérez A.I., Ibern-Gómez M., Lamuela-Raventós R.M., de La Torre-Boronat M.C.: Piceid, the major resveratrol derivative in grape juices. *J. Agric. Food Chem.*, 1999; 47 (4): 1533-1536.- 9. Sun B., Ferrao C., Spranger M. I.: Effect of wine style and winemaking technology on resveratrol levels in wines. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 2003; 18(2): 77-91.- 10. Wang Z., Zou J., Huang Y., Cao K., Xu Y., Wu J. M.: Effect of resveratrol on platelet aggregation in vivo and in vitro. *Chinese Med. J.*, 2002; 115 (3): 378-380.

11. AOAC (Association of the Official Analytical Chemists): *Official Methods of Analysis*. Washington DC, 1974: 9. 110.- 12. Romero-Pérez A.I., Lamuela-Raventós R.M., Andrés-Lacueva C., de la Torre-Boronat M.C.: Method for the quantitative extraction of the resveratrol and piceid isomers in grape berry skins: Effect of powdery mildew on the stilbene content. *J. Agric. Food Chem.*, 2001; 49

(1): 210-215.- 13. *Moure A., Cruz J. M., Franco D., Dominguez M., Sineiro J., Dominguez H., Núñez M. J., Parajó C.*: Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 2001; 72 (2): 145-171.- 14. *Haight K.G., Gump B.H.*: Red and white grape juice concentrate component ranges. *J. Food Composit. Anal.*, 8 (1): 71-77.- 15. *Stratil P., Kuban V., Fojtova J.*: Comparison of the phenolic content and total antioxidant activity in wines as determined by spectrophotometric methods. Faculty of Agr., Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Czech Republic, 2008; 26 (4): 242-253.- 16. *Gawlik M.B., Nowak L., Baran M.*: Analiza właściwości win produkcji polskiej. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2008; 1:15-20.- 17. *Mattivi F., Reniero F., Korhammer S.*: Isolation, characteristic and evolution in red wine vinification of resveratrol monomers. *J. Agric. Food Chem.*, 1995; 43 (7): 1820-1823.- 18. *González-Barrio R., Vidal-Guevara M.L., Tomás-Barberán F.A., Espín J.C.*: Preparation of a resveratrol-enriched grape juice based on ultraviolet C-treated berries. *Innovative Food Sci. Emerging Technol.*, 2009; 10 (3): 374-382.- 19. *Lamuela-Raventós R.M., Romero-Pérez A.I., Waterhouse A.L., de la Torre-Boronat M.C.*: Direct HPLC analysis of cis- and trans-resveratrol and piceid isomers in Spanish red *Vitis vinifera* wines. *J. Agric. Food Chem.*, 1995; 43 (2): 281-283.- 20. *Soleas G.J., Goldberg D.M., Diamandis E.P., Karumanchiri A., Yan J., Ng E.*: A derivatized gas chromatographic-mass spectrometric method for the analysis of both isomers of resveratrol in juice and wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1995, 46 (3): 346-352.

21. *Yasui Y., Nakabayashi T., Naito A., Kawaguchi M., Yunoki K., Ohnishi M Ito S.*: Changes in concentration of resveratrol during fermentation of musts from grapes grown in Tokachi. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1997; 48 (1): 129.- 22. *Soleas G.J., Goldberg D.M., Karumanchiri A., Diamandis E.P., Ng E.*: Influences of viticultural and oenological factors on changes in cis- and trans-resveratrol in commercial wines. *J. Wine Res.*, 1995b; 6 (2): 107-121.- 23. *Romero-Pérez A.I., Ibern-Gómez M., Lamuela-Raventós R.M., de La Torre-Boronat M.C.*: Piceid, the major resveratrol derivative in grape juices. *J. Agric. Food Chem.*, 1999; 47 (4): 1533-1536.- 24. *Romero-Pérez A.I., Lamuela-Raventós R.M., Waterhouse A.L., Torre-Boronat M.C.*: Levels of cis- and trans-Resveratrol and Their Glucosides in White and Rose *Vitis vinifera* Wines from Spain. *J. Agric. Food Chem.*, 1996; 44: 2124-2128.- 25. *Okuda T., Yokotsuka K.*: Trans-resveratrol concentrations in berry skins and wines from grapes grown in Japan. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1996; 47 (1): 93-99.- 26. *de Freitas A.A., de Freitas Hirata G., Tonhi C.D., Correia de Costa J.M., Clemente E.*: Resveratrol Contents found in grape juice extracted from *Vitis* sp. Varieties and produced through organic and conventional cultivation systems. *J. Food Technol.*, 2009; 7 (3): 98-101.- 27. *Yang J., Martinson T.E., Liu R.*: Phytochemical profiles and antioxidant activities of vine grapes. *Food Chem.*, 2009; 116 (1): 332-339.

Adres: 10-957 Olsztyn, Pl. Cieszyński 1.