

- [13] Kucharska A., Sokół-Łętowska A., Gabrielska J., Bąkowska-Barczak A., Włoch A., Duda A., Sroka Z., Żbikowska B., Antioxidant properties of polyphenolic extracts from chokeberry, blackcurrant, blackberry and raspberry fruits, *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska*, 2011, 24(3), s. 183–188.
- [14] Thaipong K., Boonprakob U., Crosby K., Cisneros-Zevallos L., Byrne D., Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts, *Journal of Food Composition and Analysis*, 2006, 19, s. 669–675.
- [15] Kruszewski B., Fąfara P., Ratusz K., Obiedziński M., Ocena pojemności przeciwutleniającej i stabilności oksydacyjnej wybranych olejów roślinnych, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2013, 572, s. 43–52.
- [16] Wu X., Gu L., Prior R., McKay S., Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of ribes, aronia, and sambucus and their antioxidant capacity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52, s. 7846–7856.

Do cytowania:

Wysokińska A., Wawer I., Paradowska K., Potencjał antyoksydacyjny wodnych ekstraktów z kwiatów roślin jagodowych, *Herbalism*, 2023, 1(9), s. 95–110.

# Analiza właściwości antyoksydacyjnych fermentowanych żywych octów owocowych

## The analysis of antioxidant properties of fermented active vinegar from fruits

Angelika Uram-Dudek<sup>1</sup>, Iwona Wajs<sup>1</sup>, Katarzyna Paradowska<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Państwowa Akademia Nauk Stosowanych w Krośnie, Rynek 1, 38-400 Krosno, e-mail: angelika.uram@kpu.krosno.pl

<sup>2</sup> Warszawski Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny, Zakład Chemii Organicznej i Fizycznej, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

---

**Słowa kluczowe:** ocet fermentowany, owoce jagodowe, octy owocowe, polifenole, potencjał antyoksydacyjny, DPPH, FRAP

**Keywords:** fermented vinegar, berry fruits, fruit vinegars, polyphenols, FRAP, antioxidant potential, DPPH

---

### Streszczenie

Fermentacja octowa jest znaną od starożytności metodą przetwarzania materiału roślinnego. Ocet stosowany jest przede wszystkim jako przyprawa w celu wzbogacenia smaku dań oraz utrwalenia żywności. W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania octem jako zdrowym napojem bogatym w związki bioaktywne, które zapewniają organizmowi szereg korzyści. Celem niniejszej pracy było zbadanie 7 octów owocowych, tzw. żywych, przygotowanych z ciemnych owoców: aronii, śliwki, maliny, czarnego bzu, jeżyny, wiśni oraz jagody kamczackiej. Oznaczono zawartość związków polifenolowych oraz potencjał antyoksydacyjny jako czynnik kształtujący prozdrowotne właściwości tychże octów. Badania wykonano z wykorzystaniem metod spektroskopowych: testu z rodnikiem DPPH i testu FRAP oraz określono zawartość związków polifenolowych ogółem metodą Folina-Ciocalteu. Całkowita zawartość polifenoli mieściła się w zakresie 367,2–1443,6 mg GAE/L. Najmniejszą zawartością polifenoli charakteryzował się ocet z malin, natomiast najwyższą – ocet z wiśni i czarnego bzu. Stwierdzono zróżnicowanie aktywności przeciwutleniającej. Zdolność dezaktywacji rodnika za pomocą testu DPPH przez badane surowce kształtowała się na poziomie od 21,3–77,5%, natomiast za pomocą testu FRAP od 1,59–10,19 mM FeSO<sub>4</sub>/L. Zastosowane metody badawcze potwierdziły wysoką aktywność antyoksydacyjną badanych octów owocowych. Stwierdzono również dodatnią korelację pomiędzy zawartością związków

polifenolowych a siłą przeciwutleniającą. Zauważono również, że na jakość octu, a co za tym idzie – na jego walory zdrowotne, ma wpływ zastosowany surowiec. Ze względu na liczne korzystne właściwości ocet może być więc wysoko cenionym fermentowanym produktem spożywczym.

## Summary

The vinegar fermentation is a method of processing plant material that has been known since ancient times. Vinegar is primarily used as a condiment to enhance the flavor of dishes and to preserve food. In recent years, as above, there has been a growing interest in vinegar as a healthy beverage rich in bioactive compounds that provide a range of beneficial properties. The purpose of the present study was to examine 7 fruit vinegars, so-called “live” vinegars, prepared from dark fruits: chokeberry, plum, raspberry, elderberry, blackberry, cherry and the blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L. var. *kamtschatica*). The content of polyphenolic compounds and antioxidant potential were determined as a factor shaping the health-promoting properties of these vinegars. The tests were performed using spectroscopic methods: the DPPH radical assay, the FRAP assay, and the content of total polyphenolic compounds was determined using the Folin-Ciocalteu method. The total polyphenol content was in the range of 367,2–1443,6 mg GAE/L. The raspberry vinegar had the lowest polyphenol content, while cherry and elderberry vinegar had the highest. Variation in antioxidant activity was found. The deactivation capacity of the DPPH radical by the tested raw materials ranged from 21,3–77,5%, while the FRAP test was 1,59–10,19 mM FeSO<sub>4</sub>/L. The test methods used confirmed the high antioxidant activity of the tested fruit vinegars. A positive correlation was also found between the content of polyphenolic compounds and antioxidant power. It was also noted that the quality of vinegar, and thus its health benefits, is determinate by the raw material used. Thus, due to a number of properties, vinegar can be a highly valued fermented food product.

## Wstęp

Łacińskie słowo *acētum* oznacza ocet i pochodzi od łacińskiego czasownika *aceo* – „kwaszę się” oraz przymiotnika *acer* – „ostry” [1]. W Hiszpanii ocet określany jest jako *vinagre*, od łacińskiego *vinum acre* – „kwaśne wino”. Historia octu jest związana z historią wina. Ocet jest jednym z najstarszych produktów fermentacyjnych, a jego walory doceniono w wielu starożytnych kulturach: babilońskiej, egipskiej, chińskiej, greckiej czy rzymskiej. Już w starożytnej Babilonii zauważono, że płyn o dość charakterystycznym zapachu i smaku dobrze konserwuje żywność, a przy tym nadaje potrawom wyjątkowy aromat. Pierwszy ocet był prawdopodobnie produktem po-

wstałym niezamierzenie, w wyniku niewłaściwego przebiegu procesu wytwarzania właśnie wina [2–4]. Oprócz zastosowania kulinarnego ocet od wieków wykorzystywany był w medycynie ludowej do leczenia ran oraz kaszlu. W alchemii był używany jako składnik wielu lekarstw. Stosowano go w terapii przeziębień i do dezynfekcji skóry. Leczą nim bakteryjne zapalenie jamy ustnej. Rzymscy legioniści dodawali ocet do wody pitnej, uzyskując tym samym orzeźwiający napój, który był bezpieczniejszy niż woda, gdyż dodatek octu stabilizował mikrobiologicznie ten napitek [2]. W czasach epidemii dżumy w 1348 r. ocet stosowano jako środek do dezynfekcji rąk, twarzy i ust. Natomiast w czasach tzw. wielkiej zarazy w 1665 r. w Anglii używano go do dezynfekcji przedmiotów przekazywanych „z rąk do rąk” [2]. Jedną z najsłynniejszych i najciekawszych historii związanych z octem jest opowieść o złodziejach, którzy podczas zarazy panującej we Francji grabili domy zmarłych osób, nie zapadając jednak na tę chorobę. Gdy za swoje czyny mieli odpowiedzieć przed sądem, zmuszano ich do wyznania, w jaki sposób chronili się przed zarazą. Okazało się, że stosowali oni mieszankę octu i ziół m.in. lawendy, rozmarynu, mięty i dzięki temu – jak uważano – unikali choroby. Mikstura ta stała się sławna pod nazwą Ocet Czterech Złodziei i jest ona produkowana we Francji do dziś [5]. Obecnie istnieje wiele badań naukowych, które potwierdzają prozdrowotny wpływ octu (głównie jabłkowego) na organizm człowieka. Jest skuteczny przy infekcjach układu moczowego, obniża ciśnienie krwi [6] oraz cholesterol [7]. Wzmacnia naczynia krwionośne, może również zapobiegać rozwojowi chorób sercowo-naczyniowych [8, 9]. Łagodzi i likwiduje objawy dny moczanowej i reumatoidalnego zapalenia stawów. Redukuje tkankę tłuszczową, poprawia kondycję fizyczną oraz wzmacnia układ immunologiczny [10–12]. Badania dotyczące skutków spożywania octu na stan zdrowia ludzi chorych na cukrzycę typu 2 wykazują, że dania wzbogacone o kwas octowy przyspieszają proces poczucia sytości, stymulują produkcję insuliny, a w przypadku osób z insulinoopornością podnoszą wrażliwość na ten hormon. Spożywanie zaledwie dwóch łyżeczek octu obniża stężenie glukozy we krwi i skutecznie działa w przypadku glikemii poposiłkowej [2, 12].

Ocety są produkowane z różnorodnych surowców roślinnych, w zależności od regionu geograficznego. W krajach europejskich do produkcji octu stosuje się wina lub rektyfikowany alkohol etylowy, w Azji stosowane są rozmaite odmiany fermentowanego ryżu, zaś afrykańskie społeczeństwo wykorzystuje zarówno dostępność owoców, zbóż, jak i soków roślin uprawnych [2]. Ze względu na rodzaj surowców użytych do produkcji octów naukowcy podzielili je na trzy kategorie: ocety roślinne (np. ryżowy, cebulowy i pomidorowy), owocowe (np. jabłkowy, malinowy, winny, ananasowy) oraz zwierzęce (np. miodowy i serwatkowy) [5]. Ocety owocowe wytwarzane są z win owocowych. Najbardziej znany jest ocet jabłkowy, powszechnie

stosowany w gastronomii. Wykorzystywany jest jako składnik marynat, zalew do piklowania, dressingów sałatkowych. Octy można również przygotować z innych owoców, np. owoców jagodowych, takich jak: maliny, wiśnie, truskawki, jeżyny, gruszki czy aronia, a więc z każdego fermentującego źródła węglowodanów. W Korei bardzo popularny jest ocet z czarnych malin *bokbunja*. Słynie on ze swych właściwości antyoksydacyjnych. Podobnie jest w przypadku octu persymonowego, zwanego *gam sikcho* [5, 13].

Tradycyjne octy owocowe należą do produktów otrzymywanych na drodze następującej po sobie fermentacji alkoholowej (beztlenowy rozkład cukrów prowadzony głównie przez drożdże z gatunku *Saccharomyces cerevisiae*), a następnie w procesie fermentacji octowej bakterie kwasu octowego zamieniają alkohol w kwas octowy. Bakterie kwasu octowego występują powszechnie w przyrodzie, głównie tam, gdzie jest dużo cukrów, czyli m.in. w owocach, słodkich sokach itp. Żywy ocet produkowany jest ze świeżych owoców bądź ziół, które zostają poddane wielotygodniowej fermentacji. Fermentacja powinna przebiegać bez dodatku drożdży. „Żywy” w tym przypadku oznacza „niepasteryzowany, zawierający żywe kultury bakterii”, dzięki czemu jest naturalnym probiotykiem pozytywnie wpływającym na naszą florę bakteryjną. Zastosowanie wysokiej temperatury oraz filtrowanie usuwa z niego cenne składniki odżywcze i bakterie probiotyczne, którym ocet zawdzięcza swoje prozdrowotne właściwości. Antyoksydacyjne działanie octów przygotowanych na bazie surowców roślinnych związane jest z zawartością składników odżywczych i bioaktywnych [2], tzw. przeciwutleniaczy, które skutecznie wychwytyują wolne rodniki i zabezpieczają komórki przed zniszczeniami, jakich mogą one w nich dokonać. Dominującymi związkami bioaktywnymi w octach owocowych są m.in. kwasy organiczne, fruktooligosacharydy, związki polifenolowe, związki mineralne i witaminy [14], dzięki którym ocet zaliczany jest do żywności funkcjonalnej [15].

W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania tematyką octów [16], a obszar badań nad ich właściwościami znacznie się rozszerzył [17]. Coraz większą popularnością cieszą się octy rzemieślnicze – wytwarzane w sposób tradycyjny tzw. żywe octy. Istnieje jednak niewiele doniesień na temat ich właściwości. Celem niniejszej pracy jest oznaczenie – z zastosowaniem kilku testów antyoksydacyjnych – właściwości antyoksydacyjnych octów rzemieślniczych w zależności od surowca użytego do ich wytworzenia.

## **Materiał i metody**

Materiał do badań stanowiły octy przygotowane z wybranych siedmiu gatunków owoców: aronia (1), śliwka (2), malina (3), czarny bez (4), jeżyna (5), wiśnia (6) oraz jagoda kamczacka (7), które oznaczono odpowiednimi numerami (w nawiasach)

stosowanymi w dalszej części pracy. Owoce do fermentacji zostały zebrane na terenie gminy Jedlicze w województwie podkarpackim. Surowce bezpośrednio po zbiorze poddano procesowi fermentacji.

### **Przygotowanie octów**

Fermentowane octy owocowe sporządzono z 60 g owoców, 8 g cukru oraz 200 g wody. Cukier rozpuszczono w przegotowanej wodzie, a następnie, po jej schłodzeniu do temperatury otoczenia, zalano nią owoce. Tak przygotowany nastaw przechowywano w temperaturze pokojowej w przykrytych, ale niezamkniętych naczyniach szklanych i mieszano 2 razy dziennie przez 3 tygodnie. Kiedy fermentacja octowa dobiegła końca, ocet zlano z nad osadu i wykorzystano do badań. Każdy rodzaj octu był przygotowany w trzech powtórzeniach. Próbkę przed pomiarami zostały odpowiednio rozcieńczone, a następnie do oznaczeń pobrano klarowną ciecz.

### **Oznaczanie właściwości przeciwutleniających octów**

Analizę właściwości antyoksydacyjnych octów przeprowadzono, posługując się trzema metodami. Zbadano aktywność antyoksydacyjną z zastosowaniem stabilnego rodnika DPPH oraz z wykorzystaniem zdolności redukcji jonów żelaza  $Fe^{3+}$  (FRAP). Dodatkowo wykonano pomiar całkowitej zawartości polifenoli (TP) z użyciem odczynnika Folina-Ciocalteu (F-C).

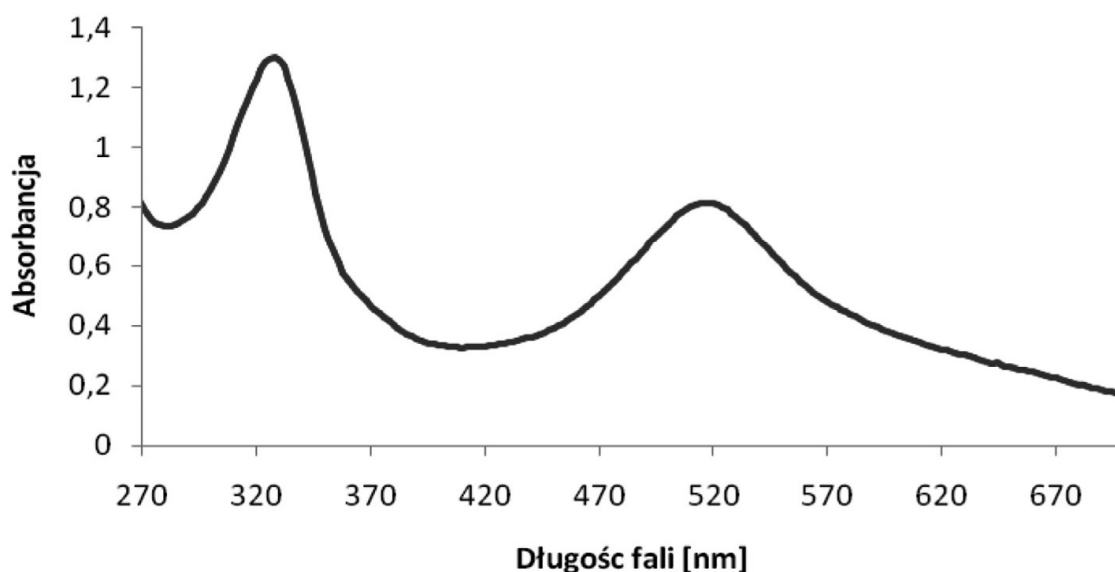
Oznaczenia wykonano z zastosowaniem metod spektrofotometrycznych przy użyciu spektrofotometru UV-Vis Genesys 150 (Thermo Scientific), a długości fal podano w opisach metod.

### **Oznaczenie potencjału antyoksydacyjnego z wykorzystaniem rodnika DPPH**

Jedną z częściej wykorzystywanych metod do oznaczania aktywności przeciwutleniającej jest metoda z użyciem roztworu DPPH. DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl) jest wolnym rodnikiem o stosunkowo dużej trwałości, z tego powodu można go łatwo przygotować do badań [18]. Rodnik 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylowy jest ciemnofioletowym, krystalicznym ciałem stałym, dobrze rozpuszczalnym w rozpuszczalnikach organicznych, a nierozpuszczalnym w wodzie. W roztworze alkoholu ma on barwę ciemnofioletową z maksimum absorbancji przy długości fali 517 nm.



## Widmo UV-Vis



**Rysunek 1.** Widmo UV-Vis dla roztworu DPPH.

**Figure 1.** UV-Vis spectrum for DPPH in solution.

Źródło: badanie własne.

W czasie reakcji wychwytuje on elektrony od substancji antyutleniającej, powodując zmianę barwy mieszaniny reakcyjnej z fioletowej na żółtą. Zmianę tę monitoruje się spektrofotometrycznie. Wyniki pomiaru są podawane najczęściej jako liczba równoważników substancji odniesienia lub jako stopień zmiatania rodnika wyrażony w %:

$$\text{Redukcja rodnika DPPH [\%]} = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \cdot 100,$$

gdzie:

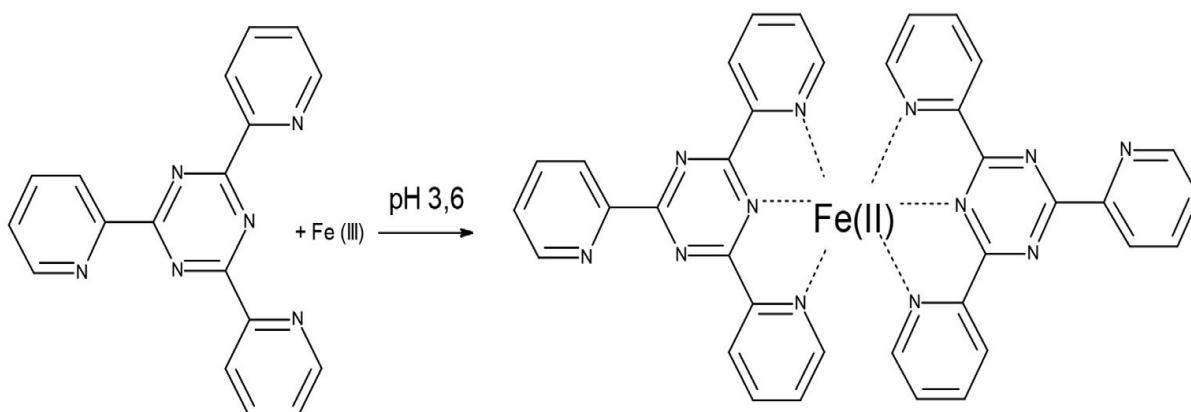
$A_0$  – absorbancja próbki kontrolnej,

$A_t$  – absorbancja badanej próbki po upływie określonego czasu ( $t = 10$  min).

Metoda z zastosowaniem odczynnika DPPH jest szeroko stosowana do pomiarów zdolności antyoksydacyjnej naturalnych surowców: owoców, soków, wyciągów roślinnych, żywności. Szczególnie często używa się jej przy określaniu właściwości przeciwutleniających związków fenolowych [19]. Jest szybka i dokładna, a otrzymane wyniki są odtwarzalne i porównywalne z wartościami uzyskanymi podczas innych badań wykorzystujących zdolność zmiatania wolnych rodników [20].

## Oznaczanie potencjału antyoksydacyjnego metodą FRAP

Zasada oznaczenia całkowitej aktywności oksydacyjnej tą metodą polega na określeniu zdolności redukcji jonów  $\text{Fe}^{3+}$  do jonów  $\text{Fe}^{2+}$ , które są kompleksowane przez TPTZ (2,4,6-tris(2-pirydylo)-1,3,5-triazyn) z wytworzeniem intensywnego niebieskiego zabarwienia o maksimum absorpcji przy 593 nm [18].



**Rysunek 2.** Reakcja  $\text{Fe}^{3+}$  z 2,4,6-tris(2-pirydylo)-1,3,5-triazyną.  
**Figure 2.** Reaction of  $\text{Fe}^{3+}$  with 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ).

Oznaczeń dokonano metodą opisaną przez Apaka i wsp. [21], Regułą i Samsonowicz [22] oraz Cybula i Nowaka [18] z nieznacznymi modyfikacjami. Jako materiał odniesienia został użyty roztwór siarczanu (VI) żelaza (II). Przy długości fali 593 nm dokonano pomiarów absorpcji badanych próbek, których wyniki odniesiono do wyników materiału wzorcowego – roztworu siarczanu (VI) żelaza (II). W ten sposób obliczono zdolność redukcji jonów żelaza, wyrażoną jako stężenie  $\text{FeSO}_4$  w mM/L.

## Oznaczanie całkowitej zawartości polifenoli

Do oznaczania potencjału przeciwutleniającego używa się również metody z zastosowaniem odczynnika Folina-Ciocalteu (F-C). Metoda ta służy do analizy całkowitej zawartości fenoli, oparta jest na barwnej reakcji między polifenolami a odczynnikiem [23]. Całkowitą zawartość polifenoli w badanych ekstraktach oznaczono metodą Folina-Ciocalteu (F-C) według Apaka i wsp. [21] oraz Y.S. Tana i wsp. [24]. Związki fenolowe reagują z odczynnikiem F-C jedynie w środowisku alkalicznym (pH 10), tylko w tych warunkach powstaje anion fenolowy, który redukuje odczynnik F-C. Mechanizm reakcji opiera się na przenoszeniu elektronu, a tworzenie niebieskiego barwnika w reakcji związków fenolowych z odczynnikiem F-C jest niezależne od struktury fenoli [25]. Intensywność powstającego zabarwienia mierzono za pomocą spektrofotometru przy długości fali  $\lambda = 765$  nm. Materiał od



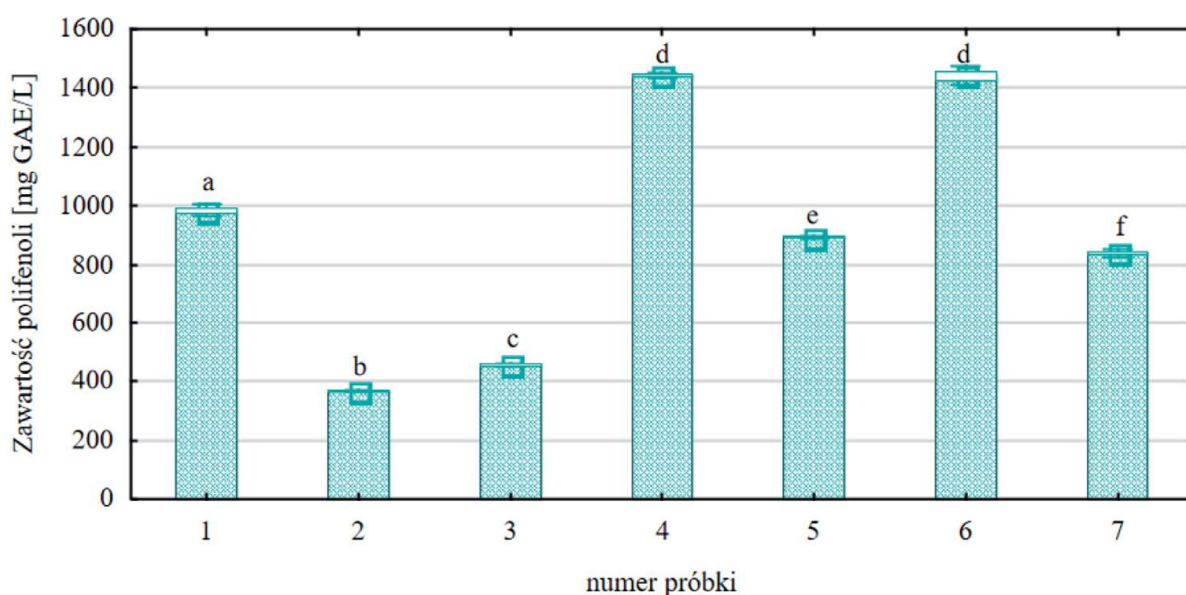
niesienia, będący podstawą do wykreślenia krzywej wzorcowej, stanowił roztwór kwasu galusowego (GAE). Ogólną zawartość polifenoli wyrażono w mg GAE/L badanej próbki. Dla każdej próbki wykonano pomiar trzykrotnie.

## **Analiza statystyczna**

Analizę statystyczną badanych próbek wykonano przy użyciu programu Statistica 13.3 (StatSoft, Visual Basic, TIBCO Software Inc., PL). Właściwości antyoksydacyjne fermentowanych żywych octów owocowych analizowano za pomocą ANOVA. Wyniki wyrażono jako średnią  $\pm$  odchylenie standardowe i uznano za statystycznie istotne przy  $p < 0,05$ .

## **Wyniki i dyskusja**

Octy otrzymane na drodze fermentacji z różnych owoców jagodowych poddano analizie antyoksydacyjnej w celu określenia ich potencjału antyoksydacyjnego, czyli zdolności przeciwdziałania szkodliwemu działaniu wolnych rodników, z zastosowaniem trzech metod: redukcji stabilnego rodnika DPPH, redukcji jonów  $Fe^{3+}$  do jonów  $Fe^{2+}$  (FRAP) oraz całkowitej zawartości polifenoli (TP). Działanie związków antyoksydacyjnych polega przede wszystkim na wychwytywaniu, dezaktywacji oraz naprawie uszkodzeń spowodowanych przez wolne rodniki [26]. Wzmożony stres oksydacyjny przyspiesza procesy starzenia organizmu, jak również może prowadzić do rozwoju wielu chorób o podłożu wolnorodnikowym, m.in. chorób układu sercowo-naczyniowego, neurodegeneracyjnych czy cukrzycy [27, 28]. Związki przeciwutleniające odgrywają więc kluczową rolę w profilaktyce tych schorzeń [29]. Owoce i warzywa, a także żywność z nich wyprodukowana są produktami bogatymi m.in. w związki polifenolowe, które wykazują silne właściwości przeciwutleniające [30]. Wyróżnia się kilka grup związków fenolowych odpowiedzialnych za prozdrowotne właściwości octów: pochodne kwasu benzoesowego, pochodne kwasu cynamonowego, flawonole, flawanole, antocyjanidyny [2]. Oznaczenie całkowitej zawartości polifenoli w octach fermentowanych wykonano metodą z wykorzystaniem odczynnika Folina-Ciocalteu, a uzyskane wyniki przedstawiono w miligramach kwasu galusowego na litr produktu. Otrzymane wyniki z oznaczeń związków bioaktywnych – polifenoli dla sześciu badanych owocowych octów fermentowanych – przedstawia Rysunek 3. Z przeprowadzonych badań wynika, że istnieją znaczne różnice w zawartości polifenoli między badanymi próbkami. Zaobserwowano, że największą zawartością związków polifenolowych charakteryzuje się ocet z czarnego bzu (próbka 4) oraz ocet z wiśni (próbka 6). Zawartość tych związków jest niemal identyczna i wynosi odpowiednio 1443,6 mg GAE/L oraz 1442,0 mg GAE/L.



**Rysunek 3.** Całkowita zawartość polifenoli (TP) w badanych octach owocowych, gdzie: 1 – aronia, 2 – śliwka, 3 – malina, 4 – czarny bez, 5 – jeżyna, 6 – wiśnia, 7 – jagoda kamczacka.

Figure 3. Total content of polyphenols (TP) in the tested fruit vinegars, where: 1 – chokeberry, 2 – plum, 3 – raspberry, 4 – elderberry, 5 – black berry, 6 – cherry, 7 – blue honeysuckle.

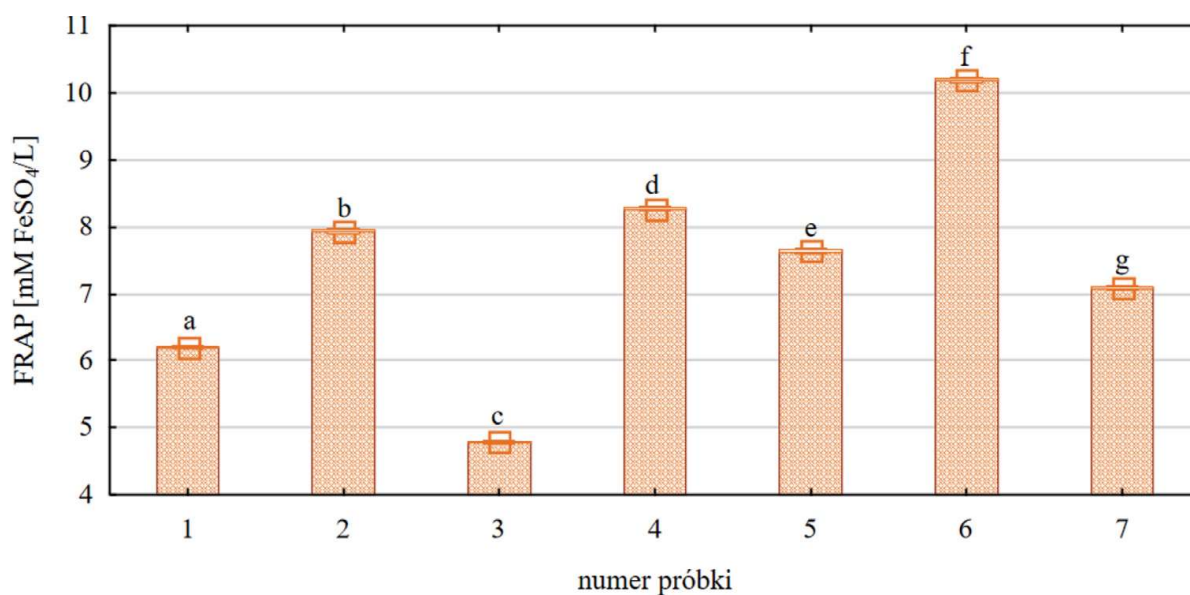
Objaśnienie: a–f – wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie przy  $p < 0,05$ .

Explanation: a–f – average values denoted by different letters in rows are statistically significantly different at  $p < 0,05$ .

Źródło: badanie własne.

Wśród badanych próbek octu najniższy poziom zawartości polifenoli ogółem charakteryzuje ocet ze śliwki, dla którego ilość polifenoli jest równa 367,2 mg GAE/L. Wartość ta jest niemal czterokrotnie mniejsza od zawartości tych związków w occie z czarnego bzu i occie z wiśni. Całkowita zawartość polifenoli w próbkach tradycyjnego octu oznaczona przez I. Ozturka i wsp. [31] wahała się w granicach od 40,44 do 2228,79 mg GAE/L. Natomiast w badaniach I. Yucel i wsp. [32] zawartość polifenoli dla octu jeżynowego wynosiła 1162 mg GAE/L. M. Ozen i wsp. [33] oznaczyli zawartość polifenoli dla octów wyprodukowanych ze świeżych owoców wiśni oraz zagęszczonego soku i otrzymane wartości wynosiły odpowiednio 1422,73 oraz 2314,09 mg GAE/L. Otrzymane wyniki zawartości polifenoli w octach owocowych są zgodne z wynikami opisanymi w literaturze.

Analiza FRAP jest metodą stosunkowo szybką i powtarzalną. Polega na oznaczeniu zdolności redukcji jonów  $Fe^{3+}$ . Zasada jej działania opiera się na spektrofotometrycznym pomiarze redukcji związku TPTZ (kompleks żelazowo-2,4,6-tripirydylo-S-tiazyny) pod wpływem działania przeciwutleniacza. Przyjmuje się, że im wyższa wartość FRAP badanej substancji, tym większa jest jej siła redukująca. Oznaczenie właściwości antyoksydacyjnej dla wszystkich próbek przeprowadzono przy długości fali  $\lambda = 593 \text{ nm}$  i wyrażono w mM/L. Otrzymane wyniki zestawiono na Rysunku 4.



**Rysunek 4.** Test FRAP dla 7 badanych octów, gdzie: 1 – aronia 2 – śliwka, 3 – malina, 4 – czarny bez, 5 – jeżyna, 6 – wiśnia, 7 – jagoda kamczacka.

**Figure 4.** FRAP test for 7 tested fruit vinegars, where: 1 – chokeberry, 2 – plum, 3 – raspberry, 4 – elderberry, 5 – black berry, 6 – cherry, 7 – blue honeysuckle.

Objaśnienie: a–g – wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie przy  $p \leq 0,05$ .

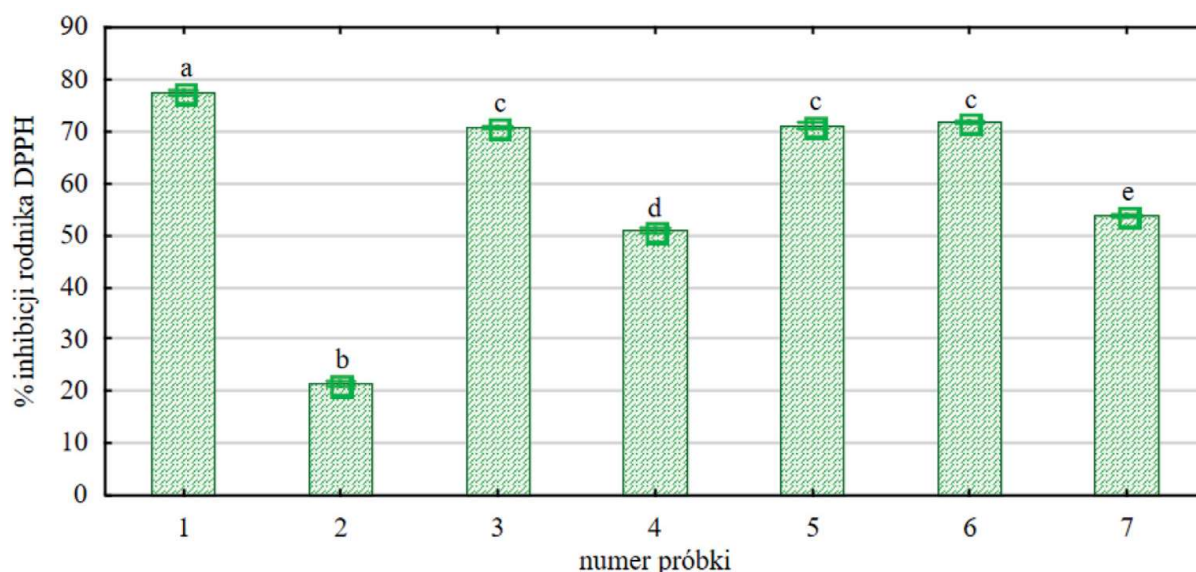
Explanation: a–g – average values denoted by different letters in rows are statistically significantly different at  $p \leq 0,05$ .

Źródło: badanie własne.

Analiza FRAP, przedstawiona na Rysunku 4, pozwoliła na określenie przeciwutleniającego działania octów owocowych i ich porównanie. W wyniku przeprowadzonych badań obserwujemy, że istnieją różnice we właściwościach antyoksydacyjnych pomiędzy poszczególnymi próbkami. Najsilniejsze właściwości przeciwutleniające wykazuje próbka 6, czyli ocet z wiśni. W efekcie zastosowania metody FRAP możemy zauważyć, że właściwości antyoksydacyjne dla próbek octów z aronii (próbka 1), czarnego bzu (próbka 4), jeżyny (próbka 5) oraz jagody kamczackiej (próbka 7) są zbliżone i mieszczą się w granicach od 6,19 do 8,28 mM FeSO<sub>4</sub>/L. Najslabsze właściwości antyoksydacyjne, podobnie jak w przypadku ogólnej zawartości polifenoli, wykazuje ocet ze śliwki.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono wysoką korelację ( $R^2 = 0,894$ ) pomiędzy zawartością polifenoli oraz siłą redukującą FRAP. Faktem jest, że to właśnie związki polifenolowe w decydującym stopniu kształtują potencjał przeciwutleniający.

Kolejną metodą, którą wykorzystano do określenia potencjału antyoksydacyjnego próbek octów, jest metoda z wykorzystaniem rodnika DPPH (2,2-difenylo-1-pirydrylohydrazyl). Odczynnik DPPH jest stabilnym kationorodnikiem posiadającym na swojej powłoce walencyjnej niesparowany elektron. W wyniku reakcji z substancjami o właściwościach antyoksydacyjnych przechodzi w postać zredukowaną. Zdolność antyoksydacyjną próbek przedstawiono na Rysunku 5 jako stopień zmiana wolnego rodnika i podano w procentach.



**Rysunek 5.** Test DPPH dla 7 badanych octów, gdzie: 1 – aronia 2 – śliwka, 3 – malina, 4 – czarny bez, 5 – jeżyna, 6 – wiśnia, 7 – jagoda kamczacka.

**Figure 5.** DPPH test for 7 tested fruit vinegars, where: 1 – chokeberry, 2 – plum, 3 – raspberry, 4 – elderberry, 5 – black berry, 6 – cherry, 7 – blue honeysuckle.

Objaśnienie: a-e – wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie przy  $p \leq 0,05$ .

Explanation: a-e – average values denoted by different letters in rows are statistically significantly different at  $p \leq 0,05$ .

Źródło: badanie własne.

Analizując dane otrzymane po przeprowadzeniu testu DPPH, obserwujemy, że wyniki dla czterech próbek octów (próbki 1, 3, 5, 6) są bardzo zbliżone. Stopień redukcji rodnika DPPH dla tych próbek mieści się w granicach 70–80%. Najniższą zdolność zmiatania wolnego rodnika – podobnie jak w przypadku pozostałych zastosowanych metod spektrofotometrycznych – wykazuje ocet śliwkowy, dla którego stopień redukcji rodnika DPPH wynosi 21,3%.

Według Bakira i wsp. [34] antyoksydanty zawarte w octach owocowych mogą pochodzić z surowca wyjściowego, czyli zastosowanego do procesu fermentacji owocu, oraz, co podkreślają Budak i wsp. [35], powstawać podczas procesu fermentacji, co tłumaczyłoby różnice w otrzymanych wynikach w zależności od zastosowanego surowca.

## Podsumowanie

Wyniki przeprowadzonych badań pokazały, że naturalne octy owocowe niepasteryzowane charakteryzują się wysoką zawartością polifenoli oraz aktywnością przeciwutleniającą. Ujawniły także różnice we właściwościach przeciwutleniających między badanymi octami. Prawdopodobnie jest to spowodowane zastosowaniem różnych surowców do ich produkcji. Według badań Bakira i wsp. [34] ocet, produkowany

z wielu owoców bogatych w aminokwasy, fenole, kwasy organiczne, witaminy i substancje mineralne, posiada zróżnicowany potencjał antyoksydacyjny, właściwości przeciwutleniające i przeciwdrobnoustrojowe – w zależności od zastosowanego surowca oraz metody produkcji. Każdy ma inny, charakterystyczny smak, aromat oraz zawartość antyoksydantów. Wszystkie przebadane octy owocowe zawierają związki o charakterze polifenolowym. Wykazują również znaczące właściwości antyoksydacyjne. Najsilniejsze właściwości przeciwutleniające oraz największą zawartość polifenoli posiadają octy: wiśniowy, aroniowy oraz z czarnego bzu, czyli przygotowane z owoców jagodowych powszechnie uznawanych za owoce o silnych właściwościach prozdrowotnych, tzw. super food [36–38]. Badania korelacji wskazują, że aktywność przeciwutleniająca próbek octów jest ściśle związana z zawartością związków polifenolowych.

*Artykuł powstał w ramach dofinansowania z Funduszu Stypendialnego im. Stanisława Pigonia Państwowej Akademii Nauk Stosowanych w Krośnie.*

## Literatura

- [1] Brückner A., Słownik etymologiczny języka polskiego, Kraków 1927, s. 373.
- [2] Antolak H., Kwas octowy składnik żywności funkcjonalnej, Przemysł Spożywczy, 2015, 69(9), s. 41–44.
- [3] Budak N.H., Aykin E., Seydim A.C., Greene A.K., Guzel-Seydim Z.B., Functional properties of vinegar, Journal of Food Science, 2014, 79, s. 757–764.
- [4] Johnston C.S., Kim C.M., Buller A.J., Vinegar improves insulin sensitivity to a high-carbohydrate meal in subjects with insulin resistance or type 2 diabetes, Diabetes Care, 2004, 27, s. 281–283.
- [5] Solieri L., Giudici P., Vinegars of the world, Springer, Milan 2009, s. 1–16.
- [6] Na L., Chu X., Jiang S., Li C., Li G., He Y., Liu Y., Li Y., Sun C., Vinegar decreases blood pressure by down-regulating AT1R expression via the AMPK/PGC-1 $\alpha$ /PPAR $\gamma$  pathway in spontaneously hypertensive rats, European Journal of Nutrition, 2016, 55(3), s. 1245–1253.
- [7] Balliett M., Burke J.R., Changes in anthropometric measurements, body composition, blood pressure, lipid profile, and testosterone in patients participating in a low-energy dietary intervention, Journal of Chiropractic Medicine, 2013; 12(1), s. 3–14.
- [8] Nassiri-Asl M., Hosseinzadeh H., Review of the Pharmacological Effects of Vitis vinifera (Grape) and its Bioactive Constituents: An Update, Phytotherapy Research, 2016; 30(9), s. 1392–1403.
- [9] Antoniewicz J., Janda-Milczarek K., Octy winogronowe – charakterystyka, właściwości oraz bezpieczeństwo stosowania, Medycyna Ogólna i Nauki o Zdrowiu, 2021, 27(4), s. 379–386.



- [10] Mazza S., Murooka Y., Vinegar through the age, [w:] Vinegars of the world, L. Solieri, P. Giudici (red.), Springer, Milan 2009, s. 17–39.
- [11] Rutala W.A., Barbee S.L., Aguiar N.C., Sobsey M.D., Weber D.J., Antimicrobial activity of home disinfectants and natural products against potential human pathogens, *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 2000, 21(1), s. 33–38.
- [12] Östman, E., Granfeldt, Y., Persson, L., Björck, I., Vinegar supplementation lowers glucose and insulin responses and increases satiety after a bread meal in healthy subjects, *European Journal of Clinical Nutrition*, 2005, 59, s. 983–988.
- [13] Song N.E., Cho S.H., Baik S.H., Microbial community, and biochemical and physiological properties of Korean traditional black raspberry (*Robus coreanus* Miquel) vinegar, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2016, 96(11), s. 3723–3730.
- [14] Koyama M., Ogasawara Y., Endou K., Akano H., Nakajima T., Aoyama T., Nakamura K., Fermentation-induced changes in the concentrations of organic acids, amino acids, sugars, and minerals and superoxide dismutase-like activity in tomato vinegar, *International Journal of Food Properties*, 2017; 20(4), s. 888–898.
- [15] Jasbi P., Baker O., Shi X., Gonzalez L.A., Wang S., Anderson S., Xi B., Gu H., Johnston C.S., Daily red wine vinegar ingestion for eight weeks improves glucose homeostasis and affects the metabolome but does not reduce adiposity in adults, *Food & Function*, 2019, 10(11), s. 7343–7355.
- [16] Luzón-Quintana L.M., Castro R., Durán-Guerrero E., Biotechnological processes in fruit vinegar production, *Foods*, 2021, 10(5), s. 945.
- [17] Zhang X.L., Zheng Y., Xia M.L., Wu Y.N., Liu X.J., Xie S.K., Wu Y.F., Wang M., Knowledge domain and emerging trends in vinegar research: A bibliometric review of the literature from WOSCC, *Foods*, 2020, 9(2), s. 166.
- [18] Cybul M., Nowak R., Przegląd metod stosowanych w analizie właściwości antyoksydacyjnych wyciągów roślinnych, *Herba Polonica*, 2008, 1, s. 68–78.
- [19] Nenadis N., Tsimidou M., Observations on the estimation of scavenging activity of phenolic compounds using rapid 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) tests, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2002; 79, s. 1191–1195.
- [20] Sanchez-Moreno C., Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems, *Food Science and Technology International*, 2002; 8(3), s. 121–137.
- [21] Apak R., Özyürek M., Güçlü K., Çapanoğlu E., Antioxidant activity capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(5), s. 997–1027.
- [22] Regulska E., Samsonowicz M., Ekstraktyziołowe w aspekcie zawartości związków polifenolowych i aktywności przeciwutleniającej, [w:] Właściwości produktów i surowców żywnościowych, T. Tarko, A. Duda-Chodak, M.D. Witczak, D. Najgebauer-Lejko (red.), Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, 2014, s. 227–237.
- [23] Zhang Q., Zhang J., Shen J., Silva A., Dennis D.A., Barrow C.J., A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds, *Journal of Applied Phycology*, 2006, (18), s. 445–450.