ROCZN. PZH 2009, 60, Nr 4, 333 - 336

ZAWARTOŚĆ KWASÓW FENOLOWYCH W CZĘŚCIACH JADALNYCH WYBRANYCH ODMIAN JABŁEK

THE CONTENT OF PHENOLIC ACIDS IN THE EDIBLE PARTS OF SELECTED VARIETIES OF APPLES

Agnieszka Malik[1], Bożena Kiczorowska[2], Justyna Zdyb[1]

[1]Katedra Biotechnologii, Żywienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności
Uniwersytet Przyrodniczy, Lublin
[2]Instytut Żywienia Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy, Lublin

Słowa kluczowe: *jabłka, pojemność antyoksydacyjna, kwasy fenolowe, epikatechina*
Key words: *apples, antioxidant capacity, phenolic acids, epicatechin.*

STRESZCZENIE

Owoce i warzywa są cennym źródłem wielu substancji odżywczych, niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Do najchętniej spożywanych owoców w wielu krajach Europy, w tym także w Polsce, należą jabłka. Prozdrowotne właściwości jabłek związane są między innymi z zawartością w nich związków polifenolowych, w tym kwasów fenolowych wykazujących właściwości antyoksydacyjne. Stężenie tych związków zależy od wielu czynników, w tym: odmiany, klimatu, dojrzałości, warunków glebowych i zabiegów agrotechnicznych. Celem przeprowadzonych badań było porównanie stężenia kwasów fenolowych i epikatechiny w odmianach jabłek Szampion i Jonica, zebranych w różnych sadach na terenie Lubelszczyzny. Analizę związków fenolowych przeprowadzono za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), dokonując ich rozdziału na kolumnie RP C18 Symmetry (Waters). Dominującym kwasem fenolowym w jabłkach odmiany Szampion był kwas chlorogenowy. W miąższu jabłek odmiany Jonica, zebranych w sadach w Puławach i Lublinie w najwyższym stężeniu występował kwas chlorogenowy, zaś w pozostałych próbach (sad Stryjno i Góra Markuszowska) - kwas homowanilinowy. Spośród odmian Jonica i Szampion pochodzących z różnych sadów z terenu Lubelszczyzny najwyższą zawartość epikatechiny stwierdzono w miąższu odmiany Szampion zebranej w sadzie w Puławach oznaczono – 13,12 mg/kg s.m epikatechiny. Generalnie, niezależnie od miejsca zbioru, jabłka odmiany Szampion uznano za lepsze źródło kwasów fenolowych i epikatechiny niż jabłka odmiany Jonica.

ABSTRACT

Fruits and vegetables are essential sources of many nutritive substances which are necessary for normal function of the organism. One of the mostly consumed fruits in many European countries, including Poland is apples. The prohealthy properties of apples are associated with the contents of polyphenolic compounds, thus including in parts phenolic acids which have antioxidant properties. The concentration of these compounds depends on many factors such as variety climate and soil conditions, maturity as well as agro technical operations. The aim of this investigation was to compare the concentrations of phenolic acids and epicatechin in the varieties of apple Champion and Jonica, which were collected from different orchards around Lublin. The phenolic compounds were assayed using a Symmetry column carrier RP-C18 (Waters) integrated with a high pressure liquid chromatography apparatus. The dominant phenolic acids found in the Champion variety was chlorogenic acid, whereas in the Jonica variety, chlorogenic and homovanilic acids were the dominate once. The highest concentrations of chlorogenic acid was detected in the pulp of an apple (Jonica variety) collected from the orchards around the cities of Puławy and Lublin, whereas homovanilic acid was the highest in the other samples collected from the orchards in the vicinity of Stryjno and Góry Markuszowskie. Among the Jonica and Champion varieties of apples collected from various orchards in the vicinity of Lublin, the highest content of epicatechin (13,12 mg/kg) was found in the pulps of Champions variety colected in Puławy. In general, the Champion variety was the best source of phenolic acids and epicatechin compared to the Jonica variety independent of the harvest zone.

Adres do korespondencji: Agnieszka Malik, Katedra Biotechnologii, Żywienia Człowieka i Towaroznawstwa Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy, 20-950 Lublin ul. Skromna 8, tel. 081 462 33 70, fax 081 462 33 76
e-mail: agnieszka.malik@up.lublin.pl

© Copyright Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego - Państwowy Zakład Higieny

WSTĘP

Jabłka są od wieku symbolem zdrowia i sił witalnych, chodź ograniczano się zwyczajowo do podkreślania ich właściwości dietetycznych i smakowych. Przeprowadzone w ostatnich latach badania naukowe coraz częściej zwracają uwagę na ich właściwości prozdrowotne. Wiąże się to z dużą zawartością związków bioaktywnych, szczególnie o charakterze przeciwutleniającym.

Do najważniejszych bioaktywnych składników jabłek należą związki polifenolowe, w tym: flawonoidy oraz kwasy fenolowe. Stanowią one szeroką grupę substancji chroniących organizm przed takimi dolegliwościami jak choroby układu krążenia i serca [4]. Najpowszechniej występującymi w jabłkach kwasami fenolowymi są kwas kawowy, p-kumarowy oznaczane głównie w postaci zestryfikowanej z kwasem chinowym. Estry te znane są pod nazwami kwas chlorogenowy oraz p-kumarylochinowy [6]. W jabłkach w znacznej ilości występują też kwas protokatechowy i p-hydroksybenzoesowy [2]. Stężenie tych związków zależy od wielu czynników, w tym: odmiany, klimatu, stopnia dojrzałości, warunków glebowych i zabiegów agrotechnicznych [12].

Celem przeprowadzonych badań było porównanie i ocena stężenia kwasów fenolowych i epikatechiny w odmianach jabłek Szampion i Jonica zebranych w różnych sadach na terenie Lubelszczyzny.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań

Badania przeprowadzono na jabłkach odmian Szampion i Jonica. Materiał do badań stanowiły jabłka zebrane w czterech sadach położonych na terenie województwa lubelskiego: Gór Markuszowskich, Stryjna, Lublina i Puław. Sady w Górach Markuszowskich i Stryjnie mają powierzchnie do 5 ha, natomiast sady położone w Lublinie i Puławach charakteryzują się powierzchnią powyżej 10 ha. Z poszczególnych drzew losowo pobierano po 3 próbki, po około 2 kg każda. Przed analizami próby uśredniano.

Metody oznaczania

Oznaczenie zawartości kwasów fenolowych przeprowadzono przy pomocy wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC.

Przygotowanie próbek do oznaczeń polegało na ręcznym oddzieleniu skórki od miąższu. Miąższ z obranych owoców rozdrabniano i natychmiast mrożono w temp. – 20°C. Następnie przeprowadzono liofilizacje próbek. Przygotowanie wyciągu z liofilizatów miąższu do analizy kwasów fenolowych, przeprowadzono według metody *Van der Sluisa* i wsp. [12]. Analiza kwasów fenolowych techniką HPLC poprzedzona była hydrolizą próbek, zgodnie z procedurą opisaną przez *Häkinnena* i wsp. [3].

Do rozdziału kwasów fenolowych wykorzystano zestaw do wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej firmy Gilson, złożony z: pomp tłokowych Gilson 306, detektora DAD typ 170, modułu manometrycznego 805, dynamicznego miksera 811C, pętli objętościowej Gilson 20 L oraz programu komputerowego UniPoint wersja 3.01. Rozdziały prowadzono przy użyciu kolumny z odwrócona fazą Symmetry C18, 5 µm, 4,6 x 250 mm Cartridge (Waters Ireland) oraz prekolumny Symmetry C18 5 µm, 8x20 mm Cartridge (Waters Ireland). Zastosowano przepływ 0,8 cm^3/min. Detekcje sygnału monitorowano przy długości fali 320 nm, zgodnie z metodą podaną przez *Häkkinen* i wsp. [3] w układzie gradientowym wg *Malik* [5], stosując jako eluenty: A - 0,1% roztwór kwasu octowego i B - 50% roztwór acetonitrylu. Identyfikację i ilościowe oznaczenie zawartości kwasów fenolowych dokonano w oparciu o następujące wzorce kwasów fenolowych: chlorogenowy, kawowy, homowanilinowy, p–kumarowy oraz epikatechinę. Wszystkie oznaczenia przeprowadzono w 3 powtórzeniach.

WYNIKI

Kwasy fenolowe w jabłkach w większych ilościach zlokalizowane są w miąższu. Zawartość kwasów fenolowych i flawonoidów w dużej mierze zależy od gatunku

Tabela 1. Zawartości kwasów fenolowych i epikatechiny w miąższu jabłek odmiany Szampion pochodzących z sadów na terenie Lubelszczyzny (n=38).
The content of phenolic acids and epicatechin in the flesh apples *Champion* variety, collected from different orchards around Lublin (n=38).

Miejsce zbioru	Kwasy fenolowe (mg/kg s.m.)					Epikatechina (mg/kg s.m.)
	homo-wanilinowy	chlorogenowy	kawowy	p-kumarowy	ferulowy	
Puławy	60,48±2,11	117,01±3,50	9,90±0,08	0,89±0,04	0,011±0,002	13,13±0,90
Góry Markuszowskie	49,16±1,98	222,77±4,12	6,94±0,99	0,64±0,12	0,0	10,41±0,04
Lublin	45,71±1,20	285,71±2,80	12,17±0,03	1,01±0,03	0,011±,02	10,52±0,92
Stryjno	55,94±2,63	231,30±3,44	10,21±0,67	0,80±0,05	0,0	11,52±0,71

i stopnia dojrzałości owoców, ale także od warunków glebowych, na których są uprawiane.

We wszystkich analizowanych jabłkach odmiany Szampion dominującym kwasem fenolowym był kwas chlorogenowy (Tab. 1). Zależnie od miejsca zbioru, jego stężenie oscylowało w granicach od 117,01 mg (Puławy) do 285,71 mg (Lublin) w przeliczeniu na kg suchej masy (Tab. 1). W miąższu jabłek odmiany Szampion, pozyskanych z sadu w Lublinie, oznaczono również najwyższe stężenia kwasu kawowego (12,17 mg), spośród wszystkich badanych próbek jabłek tej odmiany. Kwas homowanilinowy był drugim, w kolejności stężeń kwasów fenolowych, występujących w badanych próbkach jabłek. Oznaczono zbliżone jego poziomy, niezależnie od miejsca zbioru owoców, wynoszące od 45,71 mg/kg s.m. do 60,48 mg/kg s.m.

Kwas chlorogenowy był dominującym kwasem fenolowym w próbkach jabłek odmiany Jonica, pozyskanych z sadów wielkopowierzchniowych (powyżej 10 ha) w Puławach (124,96 mg/kg s.m.) i Lublinie (84,32 mg/kg s.m.). W pozostałych próbkach jabłek w najwyższym stężeniu oznaczono kwas homowanilinowy (tabela 2). Miąższ jabłek Jonica z sadu w Stryjnie charakteryzował się największą koncentracją kwasu homowanilinowego 25,54 mg/kg s.m. Warto zaznaczyć, że były to stężenia znacznie niższe niż w odmianie Szampion. Oznaczono dość dużą rozbieżność stężeń kwasu kawowego w badanych próbkach jabłek, od 0,40 mg/kg s.m. do 15,04 mg/kg s.m. W miąższu jabłek odmian Jonica z sadów w Puławach, Lublinie i Górach Markuszowskich nie wykryto kwasu ferulowego, a w miąższu jabłek ze Stryjna jego ilość była znikoma – 0,004 mg/kg s.m.

Biorąc pod uwagę miejsce uprawy owoców, generalnie miąższ jabłek odmiany Szampion z sadu w Stryjnie charakteryzował się najwyższą zawartością kwasu chlorogenowego 231,30 mg/kg s.m., a miąższ odmiany Jonica najwyższą zawartością kwasu homowanilinowego 25,54 mg/kg s.m.

Spośród odmian Jonica i Szampion pochodzących z różnych sadów z terenu Lubelszczyzny najwyższą zawartość epikatechiny stwierdzono w miąższu odmiany Szampion zebranej w sadzie w Puławach oznaczono – 13,12 mg/kg s.m epikatechiny. Generalnie jabłka odmiany Szampion cechowały się znacznie wyższą zawartością epikatechiny (10,41 mg/kg s.m. – 13,13 mg/kg s.m.) w porównaniu do odmiany Jonica (0 - 1,32 mg/kg s.m.). Epikatechiny nie wykryto w miąższu jabłek z Gór Markuszowskich.

DYSKUSJA

Głównym źródłem związków fenolowych w diecie człowieka są produkty pochodzenia roślinnego, wśród których znaczącą pozycję zajmują jabłka. Zidentyfikowano w nich wiele grup związków fenolowych, a szczególnie cenne, ze względu na swe właściwości są kwasy fenolowe i flawonoidy [6].

Głównym fenolokwasem występującym w jabłkach jest kwas chlorogenowy, kwas kawowy i *p*–kumarowy, które w większych ilościach występują w miąższu jabłek, w stosunku do skórki [1, 7, 11]. Pozostałe kwasy, jak ferulowy, wanilinowy występują w znikomych ilościach [8].

W kraju badania zawartości kwasów fenolowych prowadzili *Markowski* i *Płocharski* [6]. Badaniom poddali reprezentatywną próbkę złożoną ze skórki i miąższu odmian Jonagold, Szampion, Idared i Topaz. Suma wszystkich kwasów fenolowych w odmianie Szampion wynosiła 145,1 mg/kg ś.m. Przedstawione przez M*arkowskiego* i *Płocharskiego* [6] wyniki potwierdzono w niniejszej pracy. Po przeprowadzeniu analiz i przeliczeniu wyników na suchą masę, która stanowi w jabłkach średnio 17-12%, uzyskano wartości zbliżone.

Badania w kierunku oznaczenia zawartości epikatechiny przeprowadził *Sikorski* [9], który podaje, że średnia jej zawartość w jabłkach, wynosi 40 – 90 mg/kg świeżej masy. W niniejszych badaniach stwierdzono bardzo niskie zawartości epikatechiny.

Badania nad zawartością kwasu chlorogenowego i epikatechiny w jabłkach odmiany Szampion i Idared przeprowadziła *Skąpska* i wsp. [10]. Do oznaczenia zawartości wybranych związków fenolowych również zastosowali metodę HPLC, a do ekstrakcji MeOH.

Tabela 2. Zawartości kwasów fenolowych i epikatechiny w miąższu jabłek odmiany *Jonica* pochodzących z sadów na terenie Lubelszczyzny (n=38).
The content of phenolic acids and epicatechin in the flesh apples *Jonica* variety, collected from different orchards around Lublin (n=38).

Miejsce zbioru	Kwasy fenolowe [mg/kg s.m.]					Epikatechina [mg/kg s.m.]
	homo-wanilinowy	chlorogenowy	kawowy	p-kumarowy	ferulowy	
Puławy	20,32±1,87	124,96±3,14	15,04±1,13	0,23±0,03	0,0	1,32±0,32
Góry Markuszowskie	21,88±2,14	2,74±0,03	0,40±0,02	0,0	0,0	0,0±0,00
Lublin	17,62±0,98	84,32±0,40	7,86±0,12	0,09±0,00	0,0	0,89±0,11
Stryjno	25,54±1,54	6,43±0,05	0,77=±0,06	0,02±0,00	0,004±0,00	0,0

Odmiana Szampion zawierała najwięcej epikatechiny - 0,528 mg/g s.m., a kwasu chlorogenowego 0,289 mg/g s.m. Stężenie epikatechiny w jabłkach odmiany Idared wynosiło 0,338 mg/g s.m, zaś kwasu chlorogenowego 0,793 mg/g s.m. Wyniki badań *Skąpskiej* i wsp. dla odmiany Szampion są zgodne z wynikami uzyskanymi w niniejszych badaniach (Tab. 2) , zaś w przypadku odmiany Idared w badaniach własnych uzyskano nieco niższe jego stężenia.

Wyniki oznaczania zawartości kwasów fenolowych uzyskane w niniejszej pracy, znajdują potwierdzenie w piśmiennictwie. Analizując wyniki zawartości wybranych kwasów fenolowych w jabłkach stwierdzono, że były one zróżnicowane i zależały od odmiany i miejsca uprawy.

WNIOSKI

1. Jabłka odmiany Szampion są lepszym źródłem kwasów fenolowych i epikatechiny niż jabłka odmiany Jonica.
2. Dominującym kwasem fenolowym w jabłkach odmiany Szampion był kwas chlorogenowy, zaś w miąższu jabłek odmiany Jonica, dominowały kwasy: chlorogenowy i homowanilinowy.

PIŚMIENNICTWO

1. *Awad M. A., De Jager A., Van Westing L. M.*: Flawonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterization of variation. Sci. Hort. 2000, 83, 249-263.
2. *Gawlik - Dziki U.*: Fenolokwasy jako bioaktywne składniki żywności. Żyw. Nauka Techn. Jak. 2005, 4(41), 29-39.
3. *Häkkinen S. H., Kärenlampi S. O., Heinonen J. M., Mykkänen H. M., Törrönen A. R.*: HPLC metod for screening of flavonoids and phenolic acids in berries. J. Sci. Food Agric. 1998, 77, 543-551.
4. *Makosz E.*: Jabłko - cenny surowiec. Przem.Ferm. Owoc.-Warz. 2003, 2, 27-29.
5. *Malik A.*: Aktywność antyoksydacyjna soków z owoców jagodowych na tle przemian wybranych związków fenolowych podczas przechowywania. Praca doktorska, AR Lublin, 2003.
6. *Markowski J., Płocharski W.*: Zmiany składu związków fenolowych przy przerobie jabłek na soki i przeciery. Przem. Ferm. Owoc. –Warz. 2006, 4, 33-36.
7. *Oszmiański J., Wojdyło A.*: Soki naturalnie mętne – dobry kierunek w przetwórstwie jabłek. Przem. Ferm. Owoc.-Warz. 2006, 2, 20-22.
8. *Schieber A., Keller P., Carle R.*: Determination of phenolic acids and flavonoids of apple and pear by high-performance liquid chromatography. J. Chrom. 2001, 910, 265-273.
9. *Sikorski Z. E.*: Chemia żywności. WNT, Warszawa 2002.
10. S*kąpska S., Sielinowicz B., Jasińska U., Owczarek L., Lipowski J., Trzcińska M., Hałasińska A.*: Zmiany zawartości naturalnych przeciwutleniaczy oraz pojemności przeciwutleniającej zachodzące w surowcu w trakcie procesu otrzymywania soku zagęszczonego z jabłek. Żywność Nauka Technologia Jakość. 2006, 1(46), 152-159.
11. *Tsao R., Yang* R.: Optymization of a new mobile phase to know the complex and real polyphenolic composition: towards a total phenolic index using hig - performance liquid chromatography. J. Chrom. 2003, 1018a, 29-40.
12. *Van der Sluis A.A., Dekker M., De Jager A., Jangen W.M.*: Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest Lear, and storage conditions. J. Agric. Food Chem. 2002, 49, 3606-3013.

Otrzymano: 28.08.2008
Zaakceptowano do druku: 19.03.2009