

EWA JABŁOŃSKA-RYŚ

PORÓWNANIE ZAWARTOŚCI POLIACETYLENÓW W 18 ODMIANACH SELERA KORZENIOWEGO

Streszczenie

Głównymi przedstawicielami poliacetylenów w rodzinie *Apiaceae* są falkarinol i falkarindiol. Związki te zostały umieszczone przez National Cancer Institute w Stanach Zjednoczonych na liście naturalnych związków o działaniu przeciwnowotworowym. Poliacetyleny w największej ilości występują w korzeniach roślin. Seler, jako warzywo korzeniowe, jest mniej znany w Europie i na świecie. W wielu krajach cenione są jedynie jego odmiany liściowe, stąd doniesienia o poliacetylenach występujących w selerze nie są liczne.

Celem podjętych badań było określenie zawartości poliacetylenów w dostępnych na rynku krajowym odmianach selera korzeniowego (*Apium graveolens* L. var. *rapaceum*). Materiałem do badań było 18 odmian selera korzeniowego: Jabłkowy, Odrzański, Makar, Brilliant, Diamant, Gol, Luna, Mentor, Monarch, Cascade, Feniks, Edward, President, Prinz, Snehvide, Cisko, Dukat oraz Talar.

Do analizy zawartości poliacetylenów w badanym materiale roślinnym zastosowano metodę chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią masową (GC/MS).

Wśród poliacetylenów zidentyfikowano dwa związki – falkarinol i falkarindiol. Największą zawartość falkarinolu wykryto w zgrubieniach korzeniowych selera odmian Makar i Jabłkowy, w przeliczeniu na suchą substancję odpowiednio 25,34 oraz 22,37 mg·100 g⁻¹. Największą zawartość falkarindiolu zidentyfikowano w zgrubieniach korzeniowych selera odmian Odrzański oraz Luna, w przeliczeniu na suchą substancję odpowiednio 10,13 oraz 12,55 mg·100 g⁻¹.

Słowa kluczowe: poliacetyleny, falkarinol, falkarindiol, seler korzeniowy, GC/MS

Wprowadzenie

Falkarinol i falkarindiol to związki należące do poliacetylenów, naturalnie występujące w roślinach z rodzaju *Apiaceae*, w tym także w selerze korzeniowym. Przeprowadzone liczne badania naukowe wykazują korzystny wpływ tych związków na organizm człowieka [3, 4, 8, 9]. Ze względu na właściwości cytotoksyczne w stosunku do komórek rakowych zostały one wpisane przez National Cancer Institute w Stanach

Zjednoczonych na listę naturalnych związków o działaniu przeciwnowotworowym [1]. Prowadzone od lat 80. XX w. badania nad zastosowaniem falkarinolu i falkarindiolu w leczeniu raka wykazały ich wysoką skuteczność w przypadku raka nerki [17], gruczolakoraka żołądka [14] oraz raka okrężnicy [11]. Falkarinol poprzez wpływ na katabolizm prostaglandyn wykazuje właściwości przeciwzapalne i przeciwzkrzepowe [18]. Ponadto ma działanie antybakteryjne, szczególnie w stosunku do *Staphylococcus aureus*, *Bacillus lentus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* [12] oraz przeciwgrzybiczne [7]. Naturalnym źródłem pozyskiwania poliacetylenów jest żeń-szeń i rośliny z rodzaju dzięgiel. Doniesienia i prace badawcze na temat tych związków dotyczą głównie tych właśnie roślin [10, 14, 16, 18, 21]. Żeń-szeń zawiera przeciętnie w 100 g suszonego sproszkowanego surowca 25 mg falkarinolu oraz 29,7 mg falkarindiolu [14]. Korzenie rośliny *Angelica japonica* (dzięgiel japoński) zawierają 1,04 mg falkarinolu oraz 53,45 mg falkarindiolu w 100 g s.s. [6]. Seler, jako warzywo korzeniowe, jest mniej znany w Europie i na świecie. W wielu krajach cenione są jedynie jego odmiany liściowe, stąd doniesienia o poliacetylenach występujących w selerze nie są liczne.

Celem podjętych badań było określenie zawartości poliacetylenów w dostępnych na rynku krajowym odmianach selera korzeniowego (*Apium graveolens* L. var. *rapaceum*).

Material i metody badań

Materiałem do badań były zgrubienia korzeniowe 18 odmian selera korzeniowego: Jabłkowy, Odrzański, Makar, Brilliant, Diamant, Gol, Luna, Mentor, Monarch, Cascade, Feniks, Edward, President, Prinz, Snehvide, Cisko, Dukat oraz Talar. Doświadczenie założono w Stacji Hodowli i Nasiennictwa Ogrodniczego PlantiCo Zielonki. Selery wysadzone były na poletkach doświadczalnych, po 300 roślin w rozstawie 40 x 40 cm.

Do analiz pobierano losowo po 30 roślin z każdej odmiany. Analizy w świeżym surowcu prowadzono bezpośrednio po zbiorze. W tym celu zdrowe korzenie selera myto, obierano i krojono w kostki o wymiarach 1x1x1 cm, liofilizowano, a następnie rozdrabniano w młynku laboratoryjnym WZ-1 przez 1 min.

Suchą substancję oznaczano metodą wagową [15], natomiast przygotowanie próbek do oznaczania poliacetylenów przeprowadzono metodą podaną przez van Wassenhove'a i wsp. [19]. Naważki 2 g liofilizowanych próbek poddawano dwukrotnej ekstrakcji chlorkiem metylenu. Połączone ekstrakty sączono przez watę szklaną silanizowaną i dwukrotnie płukano nasyconym roztworem NaCl w ilości 30 ml. Oczyszczone ekstrakty zagęszczano w wyparce próżniowej, dodawano 10 µl 8% roztworu salicylanu metylu w metanolu (wzorzec wewnętrzny) i uzupełniano dichlorometanem do objętości 4 ml.

Analizę przeprowadzono w Zakładzie Fizyki Chemicznej i Fizykochemicznych Metod Rozdzielania Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, stosując metodę GC/MS (chromatografia gazowa połączona ze spektrometrią mas) do analizy ekstraktów.

Zastosowano układ ITS-40 firmy Finnigan MAT, USA (chromatograf gazowy Varian 3400 sprzężony ze spektrometrem masowym), kolumna kapilarna z fazą DB-5 firmy J&W Scientific, 30 m x 0,25 mm, grubość filmu 0,25 μm ; dozownik typu Split-Splitless, pracujący w systemie Splitless; gaz nośny hel, szybkość przepływu 1,5 ml/min; temp. dozownika 300°C, temp. linii łączącej chromatograf ze spektrometrem 300°C, temp. pracy MS: 220°C; jonizacja elektronowa (70 eV); zakres analizowanych mas 35-550 amu; częstotliwość skanowania 1 s.

Do identyfikacji substancji w analizowanych ekstraktach stosowano porównanie widm związków badanych z widmami z literatury [5].

Badania przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Analizę statystyczną wyników opracowano metodą jednoczynnikowej analizy wariancji oraz wielokrotnych testów Tukey'a.

Wyniki i dyskusja

Wyniki przeprowadzonych analiz przedstawiono w tab. 1. Zawartość poliacetylenów podano w przeliczeniu na suchą substancję.

Największą zawartość falkarinolu wykryto w zgrubieniach korzeniowych selera odmian Makar i Jabłkowy, w przeliczeniu na suchą substancję odpowiednio 25,34 oraz 22,37 mg·100 g⁻¹. Największą zawartość falkarindiolu miały odmiany Odrzański oraz Luna, w przeliczeniu na suchą substancję odpowiednio 10,13 oraz 12,55 mg·100 g⁻¹.

O zawartości poliacetylenów w selerze wspominają nieliczni autorzy. Bohlmann i wsp. [2] wymieniają jako przedstawicieli tej grupy związków występujących w selerze korzeniowym: falkarindiol, falkarinol oraz falkarinolon. Machado i wsp. [13] podają, że falkarinol występujący m.in. w selerze, jest związkiem mogącym wywoływać alergie kontaktowe. Autorzy nie podają jednak zawartości tych związków.

Zidorn i wsp. [22] zajmowali się analizą HPLC metanolowych ekstraktów roślin z rodziny *Apiaceae* występujących w Nowej Zelandii. Między innymi badali gatunek selera *Apium prostratum* subsp. *prostr.* var. *filiforme*. Gatunek ten zawierał 92 mg falkarinolu w 100 g s.s. oraz 57 mg falkarindiolu w 100 g s.s.

Znane są prace na temat zawartości poliacetylenów w marchwi. W przeciwieństwie do selera korzeniowego, marchew jest warzywem dogłębniej badanym pod względem składu chemicznego. Pierwsze doniesienia o zawartości poliacetylenów w marchwi pochodzą jeszcze z lat 70. XX w. Wulf i wsp. [20] przy użyciu HPLC badali cztery odmiany marchwi pod względem zawartości falkarinolu i myrystycyny. Analizy wykazały, że w badanych odmianach falkarinol występował na poziomie od

3,2 do 4,7 mg·100 g⁻¹ świeżego surowca. Badania przeprowadzone w 2003 r. przez Czepa [5], przy użyciu GC/MS, potwierdzają występowanie falkarinolu i falkarindiolu w marchwi w ilościach odpowiednio 1,52 oraz 3,69 mg·100 g⁻¹ świeżego surowca.

Tabela 1

Zawartość suchej substancji oraz poliacetylenów w 18 odmianach selera korzeniowego.

The dry matter and polyacetylenes content in 18 cultivars of celeriac.

Odmiana selera Celeriac variety	Sucha substancja (s.s.) Dry matter (d.m.)		Poliacetyleny / Polyacetylenes			
	[%]	SD	Falkarinol / Falcarinol		Falkarindiol / Falcarindiol	
			[mg·100g ⁻¹ s.s.] [mg·100g ⁻¹ d.m.]	SD	[mg·100g ⁻¹ s.s.] [mg·100g ⁻¹ d.m.]	SD
Jabłkowy	14,32 ^{a,b,c}	0,26	22,37 ^{a,b}	3,01	6,34 ^b	2,35
Odrzański	14,96 ^a	0,17	17,48 ^{a,b,c,d,e}	2,96	10,13 ^a	2,48
Makar	13,37 ^d	0,28	25,34 ^a	4,03	0,87 ^{d,e,f}	0,28
Brilliant	10,40 ^{g,h}	0,18	4,63 ^{g,h,i}	1,70	0,30 ^f	0,18
Diamant	9,24 ⁱ	0,19	5,08 ^{g,h,i}	2,19	0,54 ^{e,f}	0,46
Gol	14,46 ^{a,b}	0,33	12,52 ^{c,d,e,f,g,h}	3,44	5,84 ^b	1,47
Luna	11,19 ^{f,g}	0,34	17,92 ^{a,b,c,d}	4,02	12,55 ^a	0,98
Mentor	12,40 ^e	0,47	6,65 ^{g,h,i}	1,54	1,38 ^{c,d,e,f}	0,73
Monarch	11,01 ^{f,g}	0,25	2,60 ⁱ	1,42	0,40 ^f	0,23
Cascade	11,17 ^{f,g}	0,30	10,16 ^{d,e,f,g,h,i}	3,48	1,25 ^{c,d,e,f}	0,53
Feniks	11,68 ^{e,f}	0,16	17,09 ^{a,b,c,d,e}	3,09	2,22 ^{c,d,e,f}	0,43
Edward	13,48 ^{c,d}	0,16	2,15 ⁱ	1,27	0,00 ^f	0,00
President	11,21 ^{f,g}	0,59	6,95 ^{f,g,h,i}	1,01	0,84 ^{d,e,f}	0,48
Prinz	10,47 ^{g,h}	0,31	4,12 ^{h,i}	1,83	1,04 ^{d,e,f}	0,11
Snehvide	11,82 ^{e,f}	0,33	15,19 ^{b,c,d,e,f}	3,34	1,35 ^{c,d,e,f}	0,65
Cisko	9,60 ^{h,i}	0,22	20,26 ^{a,b,c}	4,41	4,52 ^{b,c}	1,62
Dukat	13,91 ^{b,c,d}	0,32	13,00 ^{c,d,e,f,g}	1,30	3,94 ^{b,c,d}	0,82
Talar	10,36 ^{g,h}	0,16	9,08 ^{e,f,g,h,i}	2,35	3,88 ^{b,c,d,e}	1,39

Objaśnienia: / Explanatory notes:

SD – Odchylenie standardowe / Standard deviation;

Wartości średnie w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie $\alpha = 0,05$ / Mean values in columns denoted by the same letter do not statistically significantly differ at $\alpha = 0.05$ level.

Zidorn i wsp. [23] porównali metodą HPLC zawartość poliacetylenów w wybranych warzywach korzeniowych. Badania te wykazały, że seler korzeniowy zawiera największe ilości badanych związków: 1,62 mg falkarinolu i 4,58 mg falkarindiolu w 1 g liofilizowanego materiału. Dla porównania w marchwi wielkości te wynoszą odpowiednio 0,29 oraz 0,24 mg·g⁻¹ liofilizowanego materiału.

Jak wynika z danych literaturowych, istnieje duże zróżnicowanie zawartości poliacetylenów nawet w obrębie jednego gatunku. Wynikać to może z różnych metod

przygotowywania próbek oraz oznaczania tych związków. Należy też zaznaczyć, że autorzy w swoich badaniach zazwyczaj nie podają odmian roślin warzywnych. Niniejsza praca jest pierwszą porównującą zawartość tych związków w tak dużej liczbie odmian w obrębie jednego gatunku. Jak wykazały przeprowadzone badania poszczególne odmiany selera korzeniowego różniły się istotnie pod względem zawartości falkarinolu i falkarindiolu.

Wnioski

1. W zgrubieniach korzeniowych selera zidentyfikowano dwa związki należące do poliacetylenów – falkarinol i falkarindiol.
2. Stwierdzono istotne zróżnicowanie odmianowe pod względem zawartości poliacetylenów.
3. Największą zawartość falkarinolu oznaczono w zgrubieniach korzeniowych selera odmian Makar i Jabłkowy, w przeliczeniu na suchą substancję odpowiednio 25,34 oraz 22,37 mg·100 g⁻¹.
4. Największą zawartość falkarindiolu oznaczono w zgrubieniach korzeniowych selera odmian Odrzański oraz Luna, w przeliczeniu na suchą substancję odpowiednio 10,13 oraz 12,55 mg·100 g⁻¹.
5. Uzyskane wyniki prowadzonych badań pozwalają na stwierdzenie, że wybrane odmiany selera korzeniowego mogą być dobrym źródłem poliacetylenów.

Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.

Literatura

- [1] Bernart M.W., Cardellina J.H., Balaschak M.S., Alexander M.R., Shoemaker R.H., Boyd M.R.: Cytotoxic falkarinol oxylipins from *Dendropanax arboreus*. J. Nat. Prod., 1996, **59**, 748-753.
- [2] Bohlmann F., Burkhardt T, Zdero C.: Naturally occurring acetylenes. Academic Press, London 1973.
- [3] Brandt K., Christensen L.P. Hansen-Møller, J., Hansen S.L., Haraldsdottir J., Jespersen L., Purup S., Kharazmi A., Barkholt V., Frøkiaer H., Kobaek-Larsen M.: Health promoting compounds in vegetables and fruits: a systematic approach for identifying plant components with impact on human health. Trends Food Sci. Technol., 2004, **15**, 384-393.
- [4] Christensen L.P., Hansen S.L., Purup S., Brandt K.: Naturally occurring acetylenes common food plants: chemistry, occurrence and bioactivity. DIAS Report Hort., 2002, **29**, 54-68.
- [5] Czepa A.: Objektivierung des bitteren Fehlgeschmacks von Karotten (*Dacus carota* L.) und Karottenprodukten. Rozprawa doktorska, Technischen Universität München, 2003.
- [6] Furumi K., Fujioka T., Furi H., Okae H., Nakano Y., Matsunaga H., Katano M., Mori M., Mihashi K.: Novel antiproliferative falkarindiol furanocoumarin ethers from the roots of *Angelica japonica*. Bioorg. & Med. Chem. Letters., 1998, **8**, 93-96.

- [7] Garrod B., Lewis B.G. Cis-heptadeca-1,9-diene-4,6-diyne-3,8-diol, an antifungal polyacetylene from carrot root tissue. *Physiol. Plant Pathol.*, 1978, **13**, 241-246.
- [8] Hansen S.L., Purup S., Christensen L.P.: Bioactivity of falcarinol and the influence of processing and storage on its content in carrots (*Daucus carota* L.). *J. Sci. Food Agric.*, 2003, **83**, 1010-1017.
- [9] Hansen-Møller J., Hansen S.L., Christensen L.P., Jespersen L., Brandt K., Haraldsdóttir J.: Quantification of polyacetylenes by LC-MS in human plasma after intake of fresh carrot juice (*Daucus carota* L.). International Symposium on "Dietary phytochemicals and human health", Salamanca, Spain, 18-20 April 2002, 203-204.
- [10] Hirakura K., Morita M., Nakajima K., Ikeya Y., Mitsuhashi H.: Three acetylenic compounds from roots of *Panax ginseng*. *Phytochemistry*, 1992, **31** (3), 899-903.
- [11] Kobaek-Larsen M., Christensen L. P., Vach W., Ritskes-Hoitinga J., Brandt K.: Inhibitory effect of feeding with carrots or (-)-falcarinol on development of azoxymethane-induced preneoplastic lesions in the rat colon. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 1823-1827.
- [12] Loy G., Cottiglia F., Garau D., Deidda D., Pompei R., Bonsignore L.: Chemical composition and cytotoxic and antimicrobial activity of *Calycotome villosa* (Poiret) link leaves. *Farmaco*, 2001, **56** (5/7), 433-436.
- [13] Machado S., Silva A., Massa A.: Occupational allergic contact dermatitis from falcarinol. *Cont. Derm.*, 2002, **47** (2), 109-111.
- [14] Matsunaga H., Katano M., Yamamoto H., Fujito H., Mori M., Takata K.: Cytotoxic activity of polyacetylene compounds in *Panax ginseng*. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 1990, **38** (12), 3480-3482.
- [15] PN-90/A-75101/03. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych. Oznaczanie zawartości suchej masy metodą wagową.
- [16] Saita T., Katano M., Matsunaga H., Yamamoto H., Fujito H., Mori M.: The first specific antibody against cytotoxic polyacetylenic alcohol, panaxynol. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 1993, **41** (3), 549-52.
- [17] Sohn J., Lee C.H., Chung D.J., Park S.H., Kim I., Hwang W.I.: Effect of petroleum ether extract of *Panax ginseng* roots on proliferation and cell cycle progression of human renal cell carcinoma cells. *Exp. Mol. Med.*, 1998, **30** (1), 47-51.
- [18] Teng C.M., Kuo S.C., Ko F.N., Lee J.C., Lee L.G., Chen S.C., Huang T.F.: Antiplatelet actions of panaxynol and ginsenosides isolated from ginseng. *Bioch. Bioph. Acta*, 1989, **990** (3), 315-320.
- [19] Van Wassenhove F.A., Dirinck P.J., Vulsteke G.A., Schamp N.M.: Aromatic volatile composition of celery and celeriac cultivars. *Hort Science*, 1990, **25** (5), 556-559.
- [20] Wulf L.W., Nagel C.W., Branen A.L.: Analysis of myristicin and falcarinol in carrots by high-pressure liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 1978, **26** (6), 3190-3193.
- [21] Zheng G., Lu W., Aisa H.A., Cai J.: Absolute configuration of falcarinol, a potent antitumor agent commonly occurring in plants. *Tetr. Lett.*, 1999, **40**, 2181-2182.
- [22] Zidorn C., Sturm S., Dawson J.W., van Klink J.W., Stuppner H., Perry N.B.: Chemosystematic investigations of irregular diterpenes in *Anisotome* and related New Zealand *Apiaceae*. *Phytochemistry*, 2002, **59** (3), 293-304.
- [23] Zidorn C., Johrer K., Ganzera M., Schubert B., Sigmunt E.M., Mader J., Greil R., Ellmerer E.p., Stuppner H.: Polyacetylenes from the *Apiaceae* vegetables carrot, celery, fennel, parsley, and parsnip and their cytotoxic activities. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 2518-2523.

**THE CONTENT OF POLYACETYLENES COMPARISON IN
THE 18 CULTIVARS OF CELERIAC**

S u m m a r y

Falcarinol and falcarindiol are two major polyacetylenes in *Apiaceae* family. These compounds were placed on the list of Natural Product with Antitumor Activity created by National Cancer Institute, USA. The largest amount of polyacetylenes occurs in plant roots. Celeriac as a root vegetable is not known very well worldwide. In many countries only leaf varieties (celery) are valued, therefore there are few studies on celeriac polyacetylenes.

The purpose of this research was to analyze varieties of celeriac (*Apium graveolens* L. var. *rapaceum*) available in Poland in terms of polyacetylenes. The research was conducted on 18 varieties of celeriac: 'Jabłkowy', 'Odrzański', 'Makar', 'Brilliant', 'Diamant', 'Gol', 'Luna', 'Mentor', 'Monarch', 'Cascade', 'Feniks', 'Edward', 'President', 'Prinz', 'Snehvide', 'Cisko', 'Dukat' and 'Talar'. Gas chromatography mass spectrometry method (GC/MS) was employed to analyze the content of polyacetylenes.

Two polyacetylenes - falcarinol and falcarindiol were identified. The largest amount of falcarinol was found in 'Makar' and 'Jabłkowy' celeriac variety and it was measured to be 25.34 and 22.37 mg·100 g⁻¹ of dry mass respectively. 'Odrzański' and 'Luna' varieties contained the highest amount of falcarindiol which was measured to be 10.13 and 12.55 mg·100 g⁻¹ of dry mass.

Key words: polyacetylenes, falcarinol, falcarindiol, celeriac, GC/MS ☒