

MONIKA KOSMALA, KRZYSZTOF KOŁODZIEJCZYK

PROCYJANIDYNY NAJPOPULARNIEJSZYCH W POLSCE DESEROWYCH ODMIAN JABŁEK

Streszczenie

W etanolowych ekstraktach 7 deserowych odmian jabłek (Jonagold, Cortland, Lobo, Idared, Gloster, Champion, Elstar) oznaczono zawartość głównych flawan-3-oli jabłek: epikatechiny, procyanidyn: B1, B2, C i procyanidyn oligomerycznych. Oznaczenia wykonano metodą RP-HPLC. Przeprowadzono również oznaczenia spektrofotometryczne sumy zawartości: polifenoli metodą Folina-Ciocalteau'a oraz sumy zawartości procyanidyn metodą testu wanilinowego.

Ogólna zawartość procyanidyn w miąższu jabłek wyniosła od 258 do 631 mg/kg (HPLC) w tym: epikatechina 33–172 mg/kg, procyanidyna B1 4–47 mg/kg, procyanidyna B2 64–166 mg/kg, procyanidyna C 5–73 mg/kg i procyanidyny oligomeryczne 108–172 mg/kg. W miąższu suma polifenoli wyniosła od 407 do 643 mg/kg.

Skórka jabłek zawierała ogółem procyanidyn od 701 do 1445 mg/kg, w tym: epikatechina 156–400 mg/kg, procyanidyna B1 14–74 mg/kg, procyanidyna B2 185–369 mg/kg, procyanidyna C 97–213 mg/kg i procyanidyny oligomeryczne 211–459 mg/kg. Suma polifenoli zawartych w skórce wyniosła od 1573 do 2850 mg/kg. Jabłka odmiany Elstar scharakteryzowano jako najbogatsze w procyanidyny, zarówno w miąższu, jak i w skórce. Wykazano, że skórka bogatsza jest w procyanidyny w porównaniu z miąższem. Wykazano dobrą korelację między wynikami otrzymanymi metodą testu wanilinowego i metodą HPLC do oznaczania procyanidyn w miąższu i jadalnych częściach jabłek.

Słowa kluczowe: procyanidyny, jabłka, HPLC, test wanilinowy

Wprowadzenie

Polifenole to wtórne metabolity roślin wytwarzane zarówno podczas fizjologicznego rozwoju, jak i w odpowiedzi na stres, którym może być promieniowanie słoneczne, susza, czy też atak patogenu. Polifenole w jabłkach składają się w ponad 50% z procyanidyn, pozostałą część stanowią glikozydy kwercetynowe, kwasy fenolowe i chalkony [8]. Procyanidyny, znane także jako taniny, odpowiadają za cierpki i gorzki smak owoców i warzyw [9].

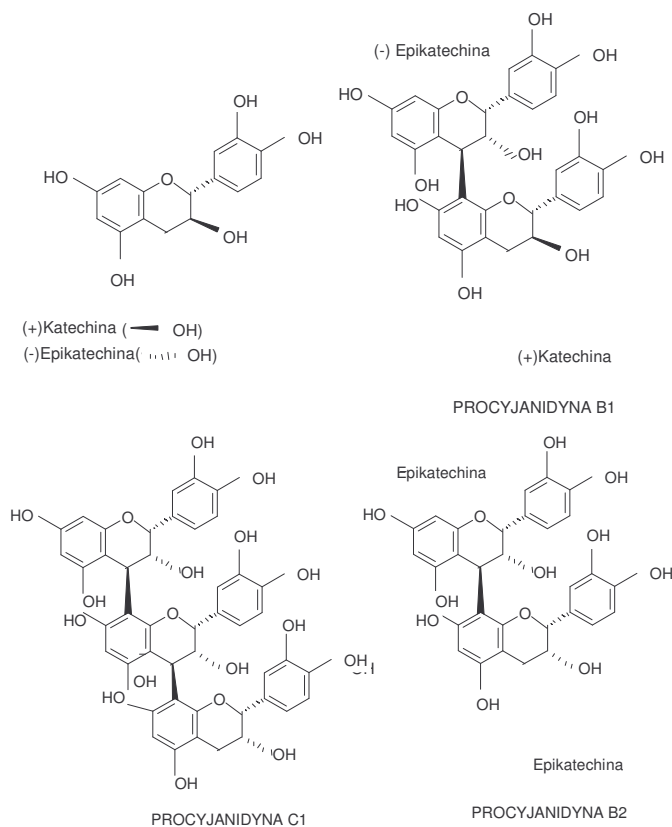
Procyanidyny wykazują działanie przeciwutleniające, przeciwnowotworowe, zapobiegają chorobie niedokrwiennej serca, działają przeciwbakteryjnie (np. niszczą bakterie w układzie moczowym) [10], działają stymulująco na porost włosów, nie

wykazując przy tym toksyczności [17]. Polifenole wykazują działanie przeciwutleniające poprzez terminację wolnych rodników i chelatowanie metali odpowiedzialnych za katalizowanie utleniania lipidów [3]. Chronią serce przed szkodliwym działaniem wolnych rodników, działają relaksacyjnie na wewnętrzne pierścienie aorty [1]. Prozdrowotne właściwości procyanidyn przyczyniają się do ich coraz większego zastosowania jako dodatków diet [7].

Procyanidyny występują w roślinach w formie oligomerów i polimerów o różnym stopniu polimeryzacji [9]. Od stopnia polimeryzacji zależą właściwości prozdrowotne procyanidyn. Procyanidyny w jabłkach stanowią głównie trzy dimery (rys. 1): procyanidyna B1 składająca się z monomerów: epikatechiny i katechiny połączonych wiązaniem $4\beta\rightarrow 8$, procyanidyna B2 (epikatechina-($4\beta\rightarrow 8$)-epikatechina), procyanidyna B5 (epikatechina-($4\beta\rightarrow 6$)-epikatechina) oraz trimer C1 (epikatechina-($4\beta\rightarrow 8$)-epikatechina-($4\beta\rightarrow 8$)-epikatechina) [6, 11]. Zawartość procyanidyn, jak i innych polifenoli, zależy od odmiany i warunków uprawy, zwłaszcza od warunków nasłonecznienia [10]. Wpływ ma odmiana jabłoni część jabłka - w skórce znajduje się więcej glikozydów kwercetynowych, procyanidyn, florydzyne, kwasu chlorogenowego niż w miąższu. Miąższ nie zawiera antocyjanów, a w nasionach znajduje się głównie florydzyne [2].

Doniesienia o zawartościach procyanidyn w jabłkach są szczątkowe i zwykle nie obejmują odmian jabłek najpopularniejszych w naszym kraju. Poznanie szczegółowego składu procyanidyn zawartych w odmianach jabłek umożliwi producentom i konsumentom wybranie jabłka o największej wartości prozdrowotnej. Dokonany w pracy podział jabłka na najchętniej konsumowaną część - miąższ i część często odrzucaną - skórkę umożliwi wykazanie, że skórka zawiera więcej procyanidyn niż miąższ, co zachęci być może do spożywania jabłek ze skórką. Ze względu jednak na niechęć konsumentów do spożywania skórki, głównymi adresatami tej pracy powinni być producenci, którzy w trosce o dobro swoich klientów i jakość produktu będą wykorzystywać całe owoce do produkcji musów, dżemów czy soków. Producentom preparatów bogatych w fitozwiązki może również dostarczyć informacji potrzebnych do trafnego wyboru surowca o najwyższej zawartości polifenoli.

Celem pracy było oznaczenie w 7 najpopularniejszych w Polsce deserowych odmianach jabłek (Jonagold, Cortland, Lobo, Idared, Gloster, Champion, Elstar) głównych flawan-3-oli jabłek: epikatechiny, procyanidyn: B1, B2, C i procyanidyn oligomerycznych.



Rys. 1. Procyjanidyny występujące w jabłkach.

Fig. 1. Procyanidins contended in apples

Materiał i metody badań

Do analiz użyto po 10 jabłek odmian: Jonagold, Cortland, Lobo, Idared, Gloster, Champion i Elstar, pochodzących z sadów Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa w Skierniewicach. Jabłka zakupiono w listopadzie 2005 roku, w sklepie firmowym w Dąbrowicach i poddano analizie.

Ekstrakcja

Po 3 jabłka (najmniejsze, średnie, największe) obierano ze skórki, odrzucono części niejadalne tj. ogonki i nasiona, każdy owoc osobno ważono. Ekstrakcji poddawano oddzielnie miąższ i skórkę (skórka stanowiła ok. 6-8% masy jabłka). Po 1/8 każdego jabłka (ok. 20 g miąższu) rozcierano w moździerzu z piaskiem kwarcowym (5 g – 3 ml) i ok. 30 ml 60% wodnego roztworu etanolu. W celu zmniejszenia enzymatycznego ciemnienia do roztworu etanolu dodawano 2 mmol/l NH_4F . Zawartość moździerza rozcierano przez 5-7 min do uzyskania jednorodnej zawiesiny i przenoszono do kolby miarowej o poj. 100 ml, uzupełniano do kreski roztworem etanolu i umieszczano na 10 min w łaźni ultradźwiękowej, następnie pozostawiano na 24 h w temperaturze pokojowej (23–25°C). Skórki w ilości ok. 10 g z

3 jabłek (po 1/3 z każdego jabłka) umieszczano w kolbie o poj. 250 ml ze szlifem, ekstrahowano roztworem 60% etanolu o objętości 150 ml i poddawano sonifikacji przez 10 min, pozostawiano na 24 h, ekstrakty przenoszono ilościowo do kolby o poj. 200 ml i uzupełniano roztworem etanolu. Po odwirowaniu w fiolkach, przy prędkości 9 x 10 rad/s, ekstrakty poddawano bezpośrednio analizie HPLC.

Układ HPLC

Kolumna RP firmy Phenomenex Synergi 4 μ m Fussion-RP 80A (150 x 2,00 mm), detektor diodowy. Układ gradientowy; faza A – 0,05% kwas fosforowy w wodzie i faza B – 0,05% kwas fosforowy w acetonitrylu. Przepływ 0,25 ml/min, temp. 25°C. Gradient: stabilizacja przez 10 min z 4% B, 0–33 min, 4–50% B, 33–34 min – 50% B, 34–35 min – 4% B. Procyjanidyny oznaczano przy długości fali 280 nm, porównując czas retencji i widmo absorpcyjne. Zawartość procyjanidyn w ekstrakcie obliczano na podstawie wzorca epikatechiny.

Oznaczenia spektrofometryczne

W ekstraktach oznaczano sumę zawartości polifenoli metodą Folina-Ciocalteau'a [4] oraz sumę zawartości procyjanidyn metodą testu wanilinowego [12] w 2 powtórzeniach.

Metoda Folina-Ciocalteau'a

W kolbkach o poj. 25 ml umieszczano 0,5 ml ekstraktu, dodawano 0,25 ml odczynnika Folina-Ciocalteau'a oraz 2,5 ml 20% Na₂CO₃, dopełniano wodą do kreski i mieszano. Inkubację prowadzono w temp. pokojowej przez 20 min. Absorbancję roztworów mierzono przy długości fali 720 nm. Sumę zawartości polifenoli przeliczano na epikatechinę.

Test wanilinowy

W dwóch próbkach umieszczano po 1 ml ekstraktu. Do jednej próbki dodawano 2,5 ml metanolu (próba zerowa A₀), do drugiej roztwór 1% waniliny w metanolu (przygotowany bezpośrednio przed analizą) A_S. Do obu próbek dodawano po 2,5 ml 9 mol/l HCL w metanolu i mieszano. Do każdej serii pomiarów przygotowano próby odczynnikowe. Próba odczynnikowa A_A składała się z 3,5 ml metanolu i 2,5 ml 9 mol/l HCL w metanolu, próba odczynnikowa A_B składała się z 1 ml metanolu, 2,5 ml 1% waniliny w metanolu i 2,5 ml 9 mol/l HCL w metanolu. Inkubację prowadzono przez 20 min w temp. 30°C. Absorbancję mierzono przy długości fali 500 nm. Sumę zawartości procyjanidyn wyliczano według wzoru : $A = (A_S - A_A) - (A_B - A_0)$.

Wyniki badań poddano jednoczynnikowej analizie wariancji przy użyciu statystycznego programu ANOVA.

Wyniki i dyskusja

Zawartość poszczególnych procyanidyn oraz ich sumy w miąższu i skórce jabłek, oznaczone metodą HPLC, zamieszczono w tab. 1., a w tab. 2. przedstawiono

Tabela 1

Zawartość procyanidyn w miąższu i w skórce jabłek różnych odmian, oznaczona metodą HPLC.
The contents of procyanidins in apple flesh and in apple peel of different varieties, measured by HPLC method.

Odmiana jabłek Apple variety	Zawartość procyanidyn w miąższu / Procyanidins content in flesh					
	Monomery Monomers [mg/kg]	B1 [mg/kg]	B2 [mg/kg]	C1 [mg/kg]	Oligomery(tetr+) Oligomers(tetr+) [mg/kg]	ΣPC [mg/kg]
Champion	102 ± 1 ^a	4 ± 1 ^a	97 ± 1 ^a	5 ± 1 ^a	137 ± 5 ^a	346 ± 10 ^a
Cortland	117 ± 1 ^b	51 ± 1 ^b	126 ± 1 ^b	55 ± 2 ^b	163 ± 3 ^a	514 ± 8 ^a
Elstar	172 ± 1 ^c	47 ± 1 ^c	166 ± 3 ^c	73 ± 1 ^c	172 ± 4 ^a	631 ± 13 ^a
Gloster	61 ± 1 ^d	35 ± 1 ^d	91 ± 2 ^d	38 ± 1 ^d	136 ± 5 ^a	360 ± 13 ^a
Idared	33 ± 1 ^e	21 ± 4 ^e	56 ± 4 ^e	26 ± 1 ^e	122 ± 4 ^a	258 ± 14 ^a
Jonagold	49 ± 1 ^f	13 ± 2 ^f	64 ± 3 ^f	32 ± 1 ^f	120 ± 6 ^a	277 ± 13 ^a
Lobo	65 ± 1 ^g	39 ± 1 ^g	88 ± 2 ^g	42 ± 1 ^g	108 ± 4 ^a	343 ± 10 ^a
Zakres / Range	33 - 172	4 - 51	56 - 166	5 - 73	108 - 172	258 - 631
Zawartość procyanidyn w skórce / Procyanidins content in peel						
Champion	156 ± 2 ^a	52 ± 4 ^a	185 ± 4 ^a	97 ± 1 ^a	211 ± 9 ^a	701 ± 13 ^a
Cortland	235 ± 3 ^b	42 ± 1 ^b	252 ± 2 ^b	136 ± 2 ^{bc}	221 ± 4 ^a	887 ± 12 ^b
Elstar	400 ± 5 ^c	68 ± 2 ^c	369 ± 3 ^c	213 ± 1 ^a	395 ± 3 ^b	1445 ± 15 ^c
Gloster	214 ± 1 ^d	21 ± 3 ^d	255 ± 2 ^b	138 ± 3 ^b	252 ± 2 ^c	880 ± 11 ^b
Idared	396 ± 2 ^c	54 ± 3 ^a	358 ± 5 ^d	200 ± 2 ^a	366 ± 2 ^d	1375 ± 15 ^e
Jonagold	219 ± 1 ^e	14 ± 2 ^e	204 ± 4 ^e	131 ± 3 ^c	237 ± 1 ^e	804 ± 9 ^f
Lobo	323 ± 2 ^f	74 ± 1 ^f	287 ± 2 ^f	174 ± 4 ^{da}	459 ± 5 ^f	1317 ± 14 ^g
Zakres / Range	156 - 400	14 - 74	185 - 369	97 - 213	211 - 395	701 - 1445

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Monomery to epikatechina i katechina, B1, B2 - procyanidyny dimeryczne, C1 - trimer, oligomery powyżej trimerów, ΣPC - suma procyanidyn;

Monomers - epicatechin and catechin; B1, B2-dimeric procyanidins, C1 - trimer, oligomers over trimers, ΣPC - total procyanidins;

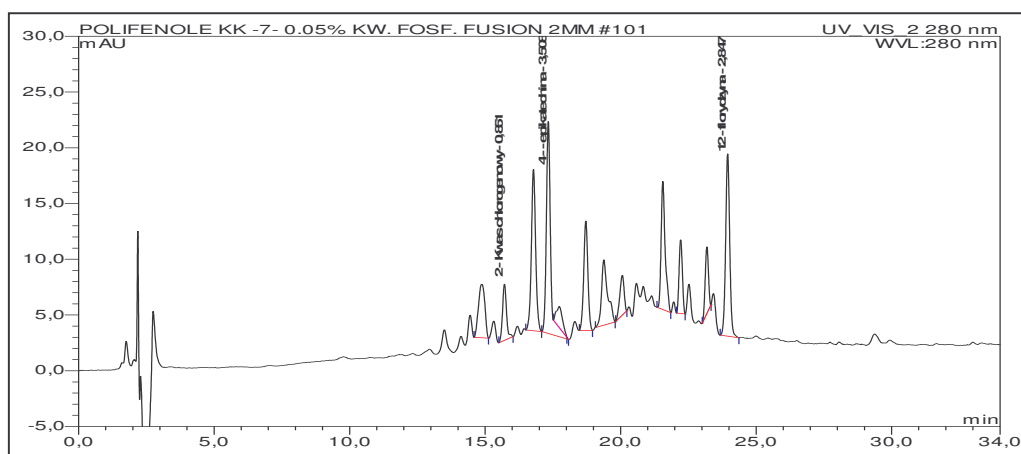
^{a,b,c} - wartości średnie oznaczone tymi samymi literami w kolumnie nie różnią się statystycznie istotnie α = 0,05;

^{a,b,c} - mean values marked by the same letter in the column are not statistically significantly different at α = 0.05.

wyniki uzyskane metodami spektrofotometrycznymi wraz z oznaczeniem zawartości sumy polifenoli. Przykładowy chromatogram HPLC przedstawiono na rys. 2.

W miąższu badanych jabłek, w zależności od odmiany, suma zawartości procyanidyn wyniosła od 258 do 631 mg/kg (HPLC), w tym: epikatechina stanowiła 33–172 mg/kg, procyanidyna B1 4–47 mg/kg, procyanidyna B2 64–166 mg/kg,

procyjanidyna C1 5–73 mg/kg i procyjanidyny oligomeryczne 108–172 mg/kg. Odmiana jabłek wpływała także na sumę zawartości procyjanidyn w skórce, która zawierała się w granicach od 701 do 1445 mg/kg, w tym: epikatechina 156–400 mg/kg, procyjanidyna B1 14–74 mg/kg, procyjanidyna B2 185–369 mg/kg, procyjanidyna C1 97–213 mg/kg i procyjanidyny oligomeryczne 211–459 mg/kg. W skórce suma zawartości polifenoli wyniosła 1573–2850 mg/kg, a suma zawartości procyjanidyn 1231–2377 mg/kg, w zależności od odmiany.



Rys. 2. Chromatogramy ekstraktu ze skórki jabłka odmiany Elstar. Między 15 a 20 minutą oznaczono mieszaninę procyjanidyn.

Fig. 2. Extract chromatograms of Elstar apple variety (peel). Between 15-20 minute mixture of procyanidins was indicated.

Spośród badanych jabłek owoce odmiany Elstar scharakteryzowano jako najzasobniejsze w procyjanidyny (tab. 1, rys. 2), co oznaczono zarówno w miąższu, jak i w skórce. Z kolei jabłka odmiany Idared zawierały najmniej procyjanidyn w miąższu, ale dość dużo w skórce. W jabłkach odmiany Cortland stwierdzono zrównoważoną zawartość procyjanidyn w miąższu i w skórce (tab. 1). Uzyskane wyniki w małym stopniu możliwe są do porównania z danymi literaturowymi, gdyż te w większości nie dotyczą odmian jabłek najpopularniejszych w Polsce, lecz raczej odmian występujących w zachodniej Europie. Co więcej, zawartość polifenoli zależy od położenia owocu w koronie jabłoni, warunków uprawy czy nasłonecznienia [2].

Awad i wsp. [2] przebadali odmiany jabłek Jonagold, Elstar oraz mutantów odmiany Elstar: Elshof i Red Elstar. W skórce owoców odmiany Jonagold oznaczyli oni katechinę (epikatechine i katechinę) na poziomie 0,80–0,90 mg/g s.s., tj. ~ 112–126 mg/kg s.s. (przy założeniu, że średnia zawartość suchej substancji w jabłkach wynosi 14%), w skórce odmiany Elstar na poziomie 1,83–1,88 mg/g s.s., tj. ~ 256–263 mg/kg, w skórce odmiany Elshof na poziomie 1,84 - 2,27 mg/g s.s., tj. ~ 258–318 mg/kg i w skórce odmiany Red Elstar na poziomie 1,74–1,87 mg/g s.s., tj. ~ 244–262 mg/kg. Według ww. autorów średnia zawartość procyjanidyn w miąższu wynosiła 0,37

mg/g s.s., tj. ~ 60 mg/kg. Zacytowane dane liczbowe są porównywalne z wynikami niniejszej pracy w odniesieniu do jabłek odmian Elstar i Jonagold uprawianych w Polsce. Z badań własnych wynika (tab. 1), że w skórce wszystkich badanych jabłek stwierdzono więcej flawan-3-oli niż w miąższu, co potwierdzają publikacje Pearsona i Tana [13] oraz Gu'a i wsp. [8]. Pierwsi autorzy w jabłku odmiany Red Delicious metodą HPLC oznaczyli tych związków, z podziałem na skórkę i miąższ, odpowiednio 2075,6 i 352,8 mg/kg w tym flawan-3-oli 654,3 i 192,6 mg/kg. Według Gu'a i wsp. [8], w jabłkach Red Delicious, Golden Delicious, Granny Smith, Gala, Fuji zawartość procyanidyn wynosiła od 69 do 141 mg/100 g świeżego jabłka. Dla porównania, autorzy ekstrahowali jabłka całe i bez skórki, uzyskując zawartość procyanidyn w jabłku całym o 12–21% większą niż w obranym. Metodą NP-HPLC oznaczyli również poszczególne grupy flawan-3-oli, uzyskując monomery w ilości 4,1–7,9 mg/100 g, dimery 9,4–15 mg/100g i trimery 5,8–9,3 mg/100 g, pozostała ilość stanowiły oligomery.

W tab. 2. przedstawiono zawartość procyanidyn oznaczonych metodą testu wanilinowego oraz zawartość polifenoli ogółem, oznaczoną metodą Folina-Ciocalteu'a z podziałem na skórkę i miąższ jabłka, ponadto w tab. 3. przedstawiono stosunek zawartości procyanidyn oznaczonych metodą HPLC i testem wanilinowym w miąższu, skórce i części jadalnej jabłek. Oznaczenie zawartości polifenoli ogółem metodą Folina-Ciocalteu'a miało na celu wskazanie udziału procyanidyn w ogólnej sumie polifenoli (tab. 2, rys. 2).

W skórce oznaczono zawartość procyanidyn w zakresie od 1152 do 2308 mg/kg, a polifenoli w zakresie od 1451 do 2695 mg/kg. W miąższu zawartość procyanidyn wahała się od 256 do 577 mg/kg, a zawartość polifenoli od 407 do 636 mg/kg. Wyniki te są zbieżne z danymi literaturowymi. Pearson i Tan [13] w jabłkach odmiany Red Delicious oznaczyli polifenole metodą Folina-Ciocalteu'a z podziałem na skórkę i miąższ uzyskując wyniki odpowiednio 1845 i 430 mg/kg.

Tani i szybki test wanilinowy jest odpowiednią metodą do oznaczania sumy zawartości procyanidyn zwłaszcza w miąższu i w całym jabłku, co wykazano wysoką korelacją wyników spektrofotometrycznych i HPLC (tab. 3). Przydatność testu wanilinowego potwierdzają wyniki badań uzyskane przez Escarpę i Gonzaleza [6]. Metoda HPLC umożliwia jednak oznaczenie poszczególnych flawan-3-oli i z tego względu może być stosowana jako metoda odniesienia. Metoda RP-HPLC ma jednak pewne ograniczenia w wykrywaniu i oznaczaniu procyanidyn oligomerycznych ze względu na ich właściwości adhezyjne. Dlatego niższy współczynnik korelacji oznaczenia procyanidyn metodą HPLC w porównaniu z wynikami testu wanilinowego może wskazywać na większy udział procyanidyn oligomerycznych w skórce [12].

Zawartość polifenoli w miąższu oraz w skórce jabłek różnych odmian, oznaczona metodami spektrofotometrycznymi: testem wanilinowym – suma zawartości procyanidyn i metodą Folina-Ciocalteu’a – suma zawartości polifenoli.

The contents of polyphenols measured by spectrophotometric methods: by vanilin test - sum of content of procyanidins and by Folin-Ciocalteu method - sum of content of polyphenols in flesh and apple peel of different varieties.

Odmiana jabłek Apple variety	Miąższ Flesh		Skórka Peel	
	∑PC VT [mg/kg]	∑PF FC [mg/kg]	∑PC VT [mg/kg]	∑PF FC [mg/kg]
Champion	346 ± 25 ^a	497 ± 4 ^a	1355 ± 63 ^a	1451 ± 46 ^a
Cortland	577 ± 69 ^b	623 ± 27 ^b	1975 ± 35 ^b	1570 ± 82 ^b
Elstar	56 ± 6 ^b	636 ± 30 ^b	2308 ± 96 ^c	1990 ± 72 ^c
Gloster	377 ± 62 ^{ac}	478 ± 41 ^a	1655 ± 63 ^d	1772 ± 30 ^d
Idared	457 ± 50 ^c	643 ± 11 ^b	1404 ± 28 ^a	2695 ± 43 ^e
Jonagold	256 ± 26 ^d	407 ± 20 ^d	1152 ± 111 ^e	1639 ± 67 ^b
Lobo	374 ± 58 ^{ac}	550 ± 38 ^e	1382 ± 10 ^a	2595 ± 35 ^f
Zakres / Range	256 - 577	407 - 636	1152 - 2308	1451 - 2695

Objaśnienia: / Explanatory notes:

∑PC VT - suma procyanidyn oznaczona metodą testu wanilinowego / sum of procyanidins by vanilin test
 ∑PF FC – suma zawartości polifenoli oznaczona metodą Folina-Ciocalteu’a / sum of content of polyphenols by Folin-Ciocalteu metod;

^{a,b,c} - wartości średnie oznaczone tymi samymi literami w kolumnie nie różnią się statystycznie istotnie α = 0,05;

^{a,b,c} – mean values marked by the same letter in the column are not statistically significantly different at α = 0.05.

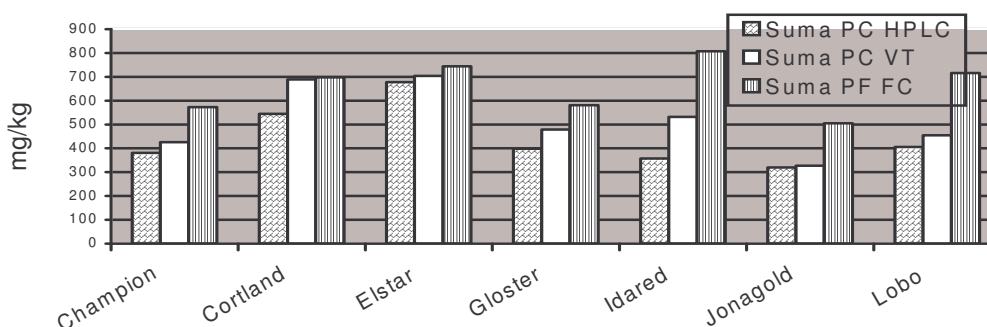
T a b e l a 3

Stosunek zawartości procyanidyn oznaczonych techniką HPLC i testem wanilinowym w miąższu, skórce i części jadalnej jabłek.

Procyanidins contents rate measured by HPLC to procyanidins contents measured by vanillin test in flesh, peel and edible part of apple.

Odmiana jabłek Apple variety	Miąższ Flesh	Skórka Peel	Część jadalna jabłka Edible part of apple
	∑PC HPLC/∑PC VT	∑PC HPLC/∑PC VT	∑PC HPLC/∑PC VT
Champion	1,0	0,48	0,89
Cortland	0,89	0,45	0,89
Elstar	1,17	0,63	0,79
Gloster	0,95	0,53	0,96
Idared	0,56	0,98	0,83
Jonagold	1,08	0,70	0,67
Lobo	0,92	0,95	0,82
Wartość średnia Mean value	1,0	0,63	0,85

Objaśnienia jak w tab. 2. / Explanatory notes as in Tab. 2.



Rys. 3. Zawartość procjanidyn oznaczona metodą HPLC i metodą testu wanilinowego oraz zawartość sumy polifenoli oznaczona metodą Folina-Ciocalteau'a w przeliczeniu na jadalną część jabłka.

Fig. 3. The contents of procyanidins measured by HPLC and by vanillin test with the contents of total polyphenols measured by Folin-Ciocalteau method calculated on edible part of apple.

Objaśnienia jak w tab. 2. / Explanatory notes as in Tab. 2.

Na rys. 3. przedstawiono wyniki zawartości procjanidyn metodą HPLC, metodą testu wanilinowego oraz sumy polifenoli metodą Folina-Ciocaltea w przeliczeniu na jadalną część jabłka. Wyniki obliczono na podstawie danych tab. 1. i 2. z uwzględnieniem wyznaczonego doświadczalnie udziału skórek w całkowitej masie jabłka danej odmiany. Zawartość procjanidyn w jadalnej części jabłek zawierała się w zakresie od 330 do 678 mg/kg, z użyciem metody HPLC, i od 426 do 704 mg/kg w teście wanilinowym, zawartość sumy polifenoli mieściła się w zakresie od 573 do 807 mg/kg. Znaczny udział w sumie zawartości polifenoli w jabłkach mają procjanidyny (rys. 2). Wyniki te potwierdzają dane uzyskane przez innych autorów. Lotito i Frei [10] oznaczyli zawartość polifenoli w jabłkach deserowych: Red Delicious, Granny Smith i Fuji metodą Folina-Ciocalteau'a, uzyskując odpowiednio 1760, 1160, 990 mg/kg świeżego jabłka. De Pascual-Teresa i wsp. [4] metodą HPLC oznaczyli katechiny w ilości od 90 do 4200 mg/kg świeżego jabłka w jabłkach odmiany przemysłowej Reinette oraz odmianach deserowych: Red Delicious, Granny Smith i Golden. Pearson i Tan [13] w całym jabłku odmiany Red Delicious oznaczyli metodą Folina-Ciocalteau'a polifenole na poziomie 710 mg/kg, a metodą HPLC na poziomie 482,4 w tym procjanidyny 228,2 mg/kg.

Wnioski

1. Procyjanidyny stanowiły główną grupę polifenoli badanych jabłek deserowych.
2. Zawartość procjanidyn, a także suma zawartości polifenoli w skórce była 2-3 razy większa niż w miąższu, w związku z czym wskazane jest spożywanie jabłek ze skórką, względnie wykorzystywanie skórek lub całych jabłek jako surowca do otrzymywania fitozwiązków.

3. Spośród przebadanych jabłek odmiana Elstar zawierała najwięcej polifenoli, w tym najwięcej procyjanidyn.
4. Wyniki oznaczania procyjanidyn w jabłkach, zwłaszcza w miąższu, testem wanilinowym i metodą HPLC wykazały dużą zbieżność.

Analizy wykonano z funduszy projektu badawczego PBZ-KBN-094/P06/2003

Literatura

- [1] Aldini G., Carini M., Piccoli A.: Procyanidins from grape seeds protect endothelial cells from peroxynitrite damage and enhance endothelial cells from peroxynitrite damage and enhance endothelium-dependent relaxation in human artery: new evidences for cardio-protection. *Life Sci.*, 2003, **73**, 2883-2898.
- [2] Awad M.A., De Jager A., van Westing L. M.: Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterisation of variation. *Scientia Horticulturae*, 2000, **83**, 249-263.
- [3] Correia R.T. P., McCue P.: Production of phenolic antioxidants by solid-state bioconversion of pineapple waste mixed with soy flour using *Rhizopus oligosporus*. *Process Biochem.*, 2004, **39** 2167-2172.
- [4] De Pascual-Teresa S., Santos-Buelga C.: Quantitative analysis of flavan-3-ols in Spanish food stuffs and beverages. *J. Nutr.*, 2000, **129**, 1662-1668.
- [5] Escarpa A., Gonzalez M.C.: High-performance liquid chromatography with diode-array detection for the determination of phenolic compounds in peel and pulp from different apple varieties. *J. Chromatogr. A*, 1998, **823**, 331-337.
- [6] Escarpa A., Gonzalez M.C.: Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. *Analytica Chimica Acta*, 2001, **427**, 119-127.
- [7] Foo L. Y., Lu Y.: Isolation and identification of procyanidins in apple pomace. *Food Chem.*, 1999, **64**, 511-518.
- [8] Gu L., Kelm M., Prior R.L.: Concentration of proanthocyanidins in common foods and estimation of normal consumption. *J. Nutr.*, 2004, **134**, 3 ProQuest Agric. J.
- [9] Kahle K., Kraus M., Richling E.: Polyphenol profiles of apple juices. *Mol.Nutr.Food Res.*, 2005, **49**, 797-806.
- [10] Lotito S. B., Frei B.: Relevance of apple polyphenols as antioxidant in human plasma: contrasting *in vitro* and *in vivo* effects. *Free Radic. Biol. Med.*, 2004, **36** (2), 201-211.
- [11] Markowski J., Plochanski W.: Zawartość związków fenolowych i aktywność antyoksydacyjna handlowych soków jabłkowych. XXXV Sesja Nauk. KNoŻ, Łódź 21-22 IX 2004, s. 42-43.
- [12] Nakamura Y., Tsuji S.: Analysis of proanthocyanidins in grape seed extracts, health foods and grape seed oils. *J. Health Sci.*, 2003, **49** (1), 45-54.
- [13] Pearson D.A., Tan C.H.: Apple juice inhibits human low density lipoprotein oxidation. *Life Sci.*, 1999, **64** (21), 1913-1920.
- [14] Prior R.L., Gu L.: Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in American diet. *Phytochem.* 2005, **66**, 2264-2280.
- [15] Shibusawa Y., Yanagida A.: High-speed counter-current chromatography of apple procyanidins. *J. Chromatogr. A*, 2000, **886** (1-2), 65-73.
- [16] Shoji T., Mutsuga M.: Isolation and structural elucidation of some procyanidins from apple by low-temperature nuclear magnetic resonance. *J.Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 3806-3813.
- [17] Takahashi T., Yokoo Y., Inoue T.: Toxicological studies on procyanidin B-2 for external application as a hair growth agent. *Food Chem. Toxicol.*, 1999, **37**, 545-552.

PROCYANIDINS IN THE MOST POPULAR IN POLAND DESSERT APPLE VARIETES**S u m m a r y**

The contents of major flavan-3-ols : epicatechin, procyanidins: B1, B2, C, oligomeric procyanidins in ethanol extracts of 7 dessert apple varieties (Jonagold, Cortland, Lobo, Idared, Gloster, Champion, Elstar) was measured. The measurement was performed by RP-HPLC. Spectrophotometric measurements of total polyphenols by Folin-Ciocalteu method and total procyanidins by vanillin test method were also performed.

The contents of total procyanidins in apple flesh was on level 258-631mg/kg (HPLC), including epicatechin 33-172 mg/kg, procyanidin B1 4-47 mg/kg, procyanidin B2 64-166 mg/kg, procyanidin C1 5-73 mg/kg and oligomeric procyanidins 108-172 mg/kg. For apple flesh the total polyphenols ranged 407-643 mg/kg.

For apple peel the total procyanidins ranged 701-1445 mg/kg, including epicatechin 156-400 mg/kg, procyanidin B1 14-74 mg/kg, procyanidin B2 185-369 mg/kg, procyanidin C 97-213 mg/kg and oligomeric procyanidins 211-459 mg/kg. For apple peel the total polyphenols ranged from 1573 to 2850 mg/kg. Elstar variety was characterized as the richest in procyanidins, both in apple flesh and in peel. Apple peel was shown to be richer in procyanidins than apple flesh. Good correlation between vanillin test and HPLC method for quantifying procyanidins in flesh and in edible part of apple was established.

Key words: procyanidins, apple, HPLC, vanillin test 