

Aleksander Siger, Małgorzata Nogala-Kalucka, Eleonora Lampart-Szczapa,  
Anna Hoffmann

Akademia Rolnicza w Poznaniu, Katedra Biochemii i Analizy Żywności

## Zawartość związków fenolowych w nowych odmianach rzepaku

### Phenolic compound contents in new rape varieties

Słowa kluczowe: rzepak, związki fenolowe, wolne kwasy fenolowe, SPE, HPLC, pochodna kwasu sinapowego

W pracy przebadano dwanaście odmian rzepaku uprawianego na terenie Wielkopolski w latach 2000–2003, pod kątem zawartości związków fenolowych. Metanolowe ekstrakty związków fenolowych, oczyszczano na kolumnkach SPE w celu wyizolowania wolnych kwasów fenolowych, które następnie identyfikowano jakościowo i ilościowo na HPLC. W wyniku przeprowadzonych oznaczeń związków fenolowych stwierdzono, że w największej ilości występują one w odmianie Kronos (2659,7 mg/100 g), a w najmniejszej w odmianie Silvia (około 1505,5 mg/100 g). Sumaryczna zawartość wolnych kwasów fenolowych (WKF) mieściła się w granicach od 76 do 154 mg/100 g, przy czym w największej ilości, niezależnie od odmiany i roku zbioru oznaczono kwas sinapowy i jego niskocząsteczkową pochodną. Pozostałe kwasy fenolowe występowały w znacznie mniejszych ilościach.

Key words: rapeseed, phenolic compounds, free phenolic acids, SPE, HPLC, derivative sinapic acid

Phenolic acids as well as their derivatives are predominant phenolic compounds in rape seeds, and their content in rapeseed is higher than in other oil plants. The amount of sinapic acid and its choline ester is the largest, and the content of phenolic acids is at the level of 1%. The exact quantitative estimation of these compounds is the essential analytic problem with regard to the content of many ballast substances making difficult their chromatographic identification.

We examined the content of phenolic compounds of twelve varieties cultivated in Wielkopolska region in the years 2000–2003 regarding to.

After a thorough grinding, rape seeds were extracted in water solution of methanol (80%) and total phenolic compounds were determined. The cleaning on SPE columns was applied to isolate the fraction of phenolic acids which was then identified qualitatively and quantitatively on HPLC. The NovaPak<sup>®</sup>C18 column and gradient solvent elution were used. Detecting of extracted compounds was made with UV – VIS detector at the wavelength 250 and 320 nm.

After the determination of phenolic compounds in all rape seed varieties (Lisek, Liropa, Silvia, Marita, Bermuda, Lirajet, Buffalo, Kaszub, Wotan, Kronos, Rafaela and Rasmus), it was confirmed that their largest quantity was observed in the Kronos variety (2659,7 mg/100 g), and the smallest in Sylvia (about 1505,5 mg/100 g). The total content of free phenolic acids varied from 76 to 154/100 g. Regardless of the variety and the year of crop, the quantity of sinapic acid and its derivative was the largest. It was observed that the content of this acid differed between individual years and also statistically differed in the same varieties in different crop year. Other phenolic acids occurred in considerably smaller quantities.

## Wstęp

---

W Polsce badania nad rzepakiem prowadzone są od ponad 50 lat w Zakładzie Roślin Oleistych IHAR w Poznaniu. Postępy, które uzyskano w pracach doświadczalnych pozwoliły na doskonalenie genetyczne nasion, co wpłynęło znacząco na jakość oleju otrzymywanego z nasion rzepaku, jak i wartość biologiczną białka śruty rzepakowej. Śruta ta wykorzystywana jest coraz częściej do żywienia zwierząt, ze względu na zawartość wysokowartościowego białka. Białko rzepaku ma wyższą zawartość aminokwasów siarkowych i podobną zawartość lizyny jak soja (Matthäus 1998). Wśród roślin oleistych rzepak charakteryzuje się największą zawartością związków fenolowych, które uważane są za składniki odpowiedzialne za kolor, zapach i smak preparatów białkowych (Kozłowska i in. 1983, Matthäus 1998). Mogą one także oddziaływać z aminokwasami, enzymami i innymi komponentami obniżając w ten sposób wartość żywieniową śruty rzepakowej jako źródła białka (Sosulski 1979, Shahidi i Naczek 1992, Rotkiewicz i in. 1992).

Pomimo antyżywnieniowego charakteru, związki fenolowe śruty rzepakowej posiadają właściwości przeciwutleniające (Vuorela i in. 2003, Wanasundara i in. 1994, Thiyam i in. 2003). Wanasundara i Shahidi (1994) stwierdzili, że właściwości antyoksydacyjne rzepakowego ekstraktu fenoli były silniejsze niż wielu syntetycznych przeciwutleniaczy. Nowak i in. (1992) wykazali właściwości antyoksydacyjne i antymikrobiologiczne kwasu sinapowego i glukopiranosolu sinapiny ( $C_{17}H_{22}O_{10}$ ) w śrucie rzepakowej.

W nasionach roślin oleistych i strączkowych związki te występują w postaci wolnych kwasów fenolowych i estrowych lub glikozydowych połączeń z cukrami, błonnikami i innymi komponentami. Wchodzą w skład wysoce spolimeryzowanych składników substancji nasiennej, takich jak taniny czy ligniny. Związki fenolowe występujące w nasionach można podzielić na sześć grup: pochodne kwasu benzoowego i cynamonowego, kumaryny, flawonoidy oraz spolimeryzowane taniny i ligniny (Sosulski 1979, Rutkowski i Kozłowska 1981).

Kwasy fenolowe w rzepaku obecne są jako: wolne, zestryfikowane i nierozpuszczalne — związane. Udział wolnych kwasów fenolowych waha się w granicach 6,5–9% całkowitej zawartości kwasów fenolowych obecnych w śrucie rzepakowej oraz do 15% w śrucie rzepakowej (Shahidi i Naczek 1992, Naczek i Shahidi 1989).

Głównymi fenolami w rzepaku są cholinowy ester kwasu sinapinowego i kwas sinapinowy. Zawartość tych związków kształtuje się na poziomie od 0,5 do 1,0%, a sinapiny od 1,35 do 4% (Zukalova i Vaak 1999, Nair i in. 1999).

Występujące w ekstrakcie biologicznym różnorodne niepolarne związki balastowe (chlorofil, woski, sterole itp.) mogą powodować uszkodzenia kolumn i przeszkadzać procesowi chromatograficznego rozdzielania i oznaczania związków fenolowych (Główniak i in. 1996, Matthäus 1998). Ekstrakcja tych związków z materiału roślinnego i ich dalsze oczyszczanie przed analizą chromatograficzną

(np. HPLC) jest trudnym i skomplikowanym procesem. Najczęściej stosowaną metodą otrzymywania frakcji wolnych kwasów fenolowych jest ekstrakcja cieczą / cieczą (eterem etylowym) (Rotkiewicz i in. 1992, Kozłowska i in. 1983, Zadernowski i Kozłowska 1983). Inne metody podziału fenoli na frakcję neutralną oraz kwaśną to: ekstrakcja octanem etylu o dwóch różnych wartościach pH (Salagoity-Auguste i Bertrand 1984), separacja przy użyciu Sephadexu LH-20 (Escribano-Bailón i in. 1992, Wanasundara i in. 1992, Wanasundara i in. 1996) oraz techniki SPE (ang. solid-phase extraction) wykorzystujące kolumny z różnym wypełnieniem np.: C<sub>18</sub> — do oddzielenia frakcji niepolarniej (Matthäus 1998) lub czwartorzędowa amina — dla otrzymania frakcji kwasów fenolowych (Głowniak i in. 1996). Kwasy fenolowe są słabymi związkami kwasowymi ( $pK_a \sim 4-5$ ), dlatego są efektywniej ekstrahowane na sorbentach typu anionit przy pH o dwie jednostki wyższym niż ich  $pK_a$  (Głowniak i in. 1996).

Unowocześnianie hodowli rzepaku poprzez ulepszanie składu chemicznego jego nasion i wprowadzanie nowych odmian do uprawy, jak i próba zastosowania wstępnego oczyszczania ekstraktów metodą SPE stały się podstawą do podjęcia badań nad zawartością i składem związków fenolowych w nasionach odmian rzepaku uprawianych na terenie Wielkopolski na przestrzeni czterech ostatnich lat (2000–2003).

## Material i metody

---

Badaniom poddano próby nasion pobrane z plantacji następujących odmian rzepaku:

- rok zbioru 2000 – Lisek, Silvia, Liropa;
- rok zbioru 2001 – Lisek, Silvia, Marita, Bermuda;
- rok zbioru 2002 – Lisek, Lirajet, Buffalo, Kaszub, Wotan;
- rok zbioru 2003 – Lirajet, Kronos, Rafaela, Rasmus, Wotan.

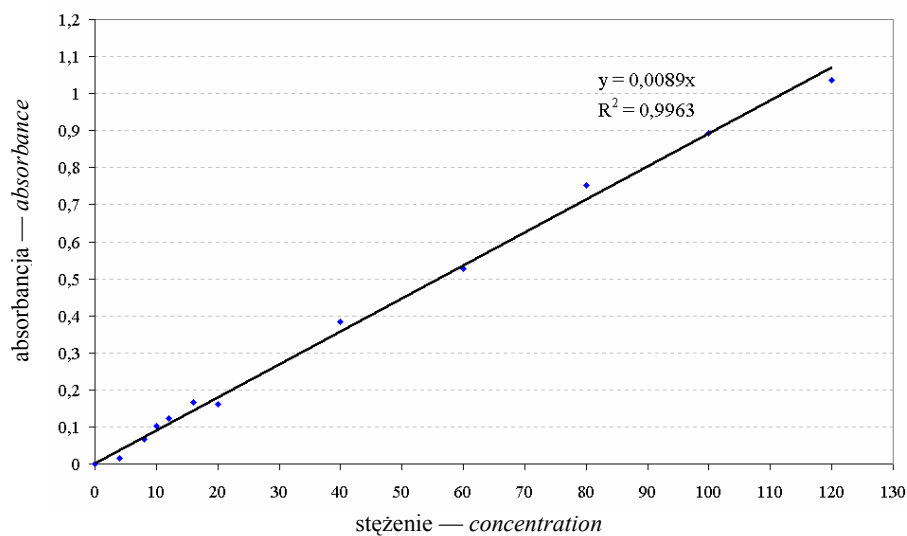
Nasiona rzepaku po dokładnym rozdrobnieniu w warunkach laboratoryjnych poddawano procesowi odfuszczenia heksanem poprzez wielokrotną ekstrakcję tłuszczu w aparacie Soxhleta.

Związki fenolowe w nasionach rzepaku wybranych wyżej odmian ekstrahowano trzykrotnie 80% wodnym roztworem metanolu w stosunku 1 : 3 (v/v), każdorazowo wytrząsając próby przez 30 minut. Otrzymane ekstrakty łączono i odparowywano rozpuszczalnik. Pozostałość przenoszono ilościowo za pomocą 80% wodnego roztworu metanolu do kolbek miarowych.

Zawartość związków fenolowych w ekstraktach metanolowych oznaczono metodą kolorymetryczną z zastosowaniem odczynnika Folina-Ciocalteu. W tym celu do kolbki miarowej o pojemności 10 ml odmierzano 5 ml wody destylowanej oraz 0,5 ml odczynnika Folina-Ciocalteu. Następnie dodawano 0,2 ml badanego

ekstraktu i dokładnie mieszano (ekstrakt uprzednio rozcieńczono 80% metanolem w stosunku 1 : 10). Tak przygotowany roztwór pozostawiano na trzy minuty w temperaturze pokojowej, po czym dodawano 1 ml nasyconego roztworu węgla sodu i uzupełniano wodą destylowaną do kreski. Absorbancję mierzono przy  $\lambda_{\max}$  725 nm, dokładnie po 1 godzinie od momentu przygotowania próbek.

Do oznaczeń sporządzono krzywą wzorcową i na jej podstawie odczytywano ogólną zawartość związków fenolowych w ekstraktach rzepakowych, w przeliczeniu na kwas sinapowy (rys. 1).



Rys. 1. Krzywa wzorcową dla kwasu sinapowego, stosowana do obliczeń zawartości związków fenolowych ogółem w badanych odmianach rzepaku — *Standard curve of the sinapic acid, used for calculation of total phenolic compounds*

Do izolacji frakcji wolnych kwasów fenolowych (WKF) stosowano System Chromabond® (Macherey – Nagle, Germany) wraz z kolumnkami SPE Bakerbond spe™ wypełnionymi czwartorzędową aminą (500 mg). Proces składał się z czterech etapów:

- I kondycjonowania kolumnki (10 ml metanolu, 10 ml wody destylowanej i 10 ml 0,15% roztworu wodorowęglanu sodu);
- II nanoszenie próby (5 ml);
- III przemywanie kolumnki (15 ml 0,15% roztworu wodorowęglanu sodu);
- IV elucja WKF mieszaniną 0,2 M kwasu ortofosforowego i metanolu (2 : 1 v/v) (10 ml).

W otrzymanym eluacie korygowano pH do wartości około 3 stosując 1 M NaOH (Głowniak i in. 1996, Lampart-Szczapa i in. 2003). Odzysk po oczyszczeniu techniką SPE dla wzorców kwasów fenolowych wynosił 96,7% dla kwasu wanili-

nowego i ferulowego, 98,2% dla kwasu chlorogenowego oraz 99,7% dla pozostałych kwasów fenolowych.

Rozdziały i identyfikację wolnych kwasów fenolowych przeprowadzono stosując wysokosprawną chromatografię ciekową (HPLC — Waters Milford, MA, USA). Do rozdziału użyto kolumnę NovaPak<sup>®</sup>C<sub>18</sub> (3,9 × 150 mm; 5 μm). Jako fazę ruchomą stosowano mieszaninę metanol [A] i 2,5% wodny roztwór kwasu octowego [B]. Rozdział miał charakter gradientowy. Stężenie A w czasie pierwszych 10 minut wzrastało liniowo od 0 do 10%, w czasie następnych 8 minut do 20% i w ciągu kolejnych 22 minut do 70%. Detekcji rozdzielonych związków dokonywano przy długości fali 250 i 320 nm (detektor UV-VIS Waters). Identyfikacji jakościowej i ilościowego oznaczenia kwasów fenolowych dokonano przez porównanie czasów retencji i powierzchni pików badanych związków z czasami retencji i powierzchnią pików odpowiednich wzorców oraz stosując standardy zewnętrzne i wewnętrzne badanych związków.

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej wykorzystując jednoczynnikową analizę wariancji oraz testy post-hoc Tuckey'a dla  $p < 0,05$ . Obliczeń dokonano w programie Statistica 6 (StatSoft).

## **Wyniki i dyskusja**

---

Na podstawie otrzymanych wyników (tab. 1) ustalono, że najwyższą zawartość związków fenolowych ogółem stwierdzono w odmianie Kronos (2003) i wynosiła ona 2659,7 mg/100 g, natomiast najniższą w odmianie Silvia w kolejnych dwóch latach zbiorów (1688,8 i 1505,5 mg/100 g). W porównaniu z odmianą Silvia pozostałe badane odmiany charakteryzowały się wyższą ogólną zawartością tych związków. Uprawiana w ciągu trzech sezonów hodowlanych odmiana Lisek posiadała zmienne ilości tych związków, zależne od roku zbioru z tendencją wzrostową w kolejnych latach. Natomiast w przypadku porównania dwóch kolejnych lat uprawy odmiany Lirajet nie stwierdzono praktycznie różnic w poziomie tych związków (1839,0 i 1861,5 mg/100 g).

Cai i Arntfield (2001) otrzymali od 1719 do 2290 mg/100 g związków fenolowych ogółem w śrucie rzepakowej w zależności od temperatury i czasu ekstrakcji, stosując 70% oraz 100% metanol. Natomiast Naczki i in. (1992) otrzymali bardzo zróżnicowane wyniki, również zależne od rozpuszczalnika zastosowanego w trakcie ekstrakcji. Najmniej związków fenolowych ekstrahowano przy użyciu acetonu (66 mg/100 g śruty), najlepsze wyniki uzyskano przy zastosowaniu mieszaniny acetonu, DMF (N,N-dimetyloformamid) i wody (7 : 7 : 6) (1112,0 mg/100 g śruty). Stosując metanol, lepsze wyniki osiągnięto używając 70% wodny roztwór (874 mg/100 g). Shahidi i Naczki i in. (1992) przedstawiają dane dotyczące zawartości związków fenolowych ogółem w śrucie rzepakowej na poziomie 1080,2–1807

mg/100 g. Amarowicz i in. (2000) badając antyoksydacyjne właściwości ekstraktu tanin w łuskach rzepaku, otrzymali od 128 do 296 mg/g ekstraktu związków fenolowych ogółem w przeliczeniu na kwas sinapowy.

Tabela 1

Zawartość związków fenolowych ogółem w nasionach badanych odmian rzepaku  
*Total phenolic compounds content in investigated oilseed rape varieties*

Rok zbioru <i>Crop year</i>	Odmiana rzepaku <i>Rapeseed varieties</i>	Fenole ogółem* <i>Total phenols*</i> [mg/100g s.m. b.tł.]
2000	Silvia	1688,8 ± 39,2 b
	Lisek	1730,4 ± 25,1 b
	Liropa	2014,1 ± 30,6 f, g
2001	Silvia	1505,5 ± 48,5 a
	Lisek	1863,7 ± 34,1 d
	Marita	1739,7 ± 11,7 b, c
	Bermuda	1719,1 ± 9,8 b
2002	Lisek	2108,2 ± 36,5 h
	Lirajet	1839,0 ± 56,2 c, d
	Buffalo	2094,0 ± 73,8 g, h
	Kaszub	1833,4 ± 47,2 c, d
	Wotan	2249,1 ± 18,0 i
2003	Lirajet	1861,5 ± 34,1 d, e
	Kronos	2659,7 ± 18,8 k
	Rafaela	1969,0 ± 12,0 e, f
	Rasmus	2404,1 ± 17,3 j
	Wotan	2313,8 ± 13,7 i, j

Przedstawione wyniki to wartość średnia z sześciu powtórzeń dla jednej odmiany; w analizowanych próbach stwierdzono statystycznie istotne różnice na poziomie istotności  $p \leq 0,05$

*Data presents mean values from six replicates; mean values followed by different letters are statistically significant at  $p \leq 0.05$*

\* Wyniki przedstawiono jako ekwiwalent kwasu sinapowego  
*The results are expressed as sinapic acid equivalents*

Zawartość wolnych kwasów fenolowych (WKF) dla poszczególnych odmian rzepaku przedstawiono w tabeli 2, a przykładowy chromatogram ich rozdziału na rysunku 2. Zastosowanie kolumnienek z czwartorzędową aminą pozwoliło oddzielić związki balastowe z ekstraktów metanolowych badanych śrut rzepakowych. We wszystkich odmianach niezależnie od roku zbioru w największej ilości zidentyfikowano kwas sinapowy i niskocząsteczkową pochodną tego kwasu. Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała, że zawartość tego kwasu pomiędzy poszczególnymi latami zbiorów różniła się statystycznie istotnie. Najwięcej kwasu sinapowego

Tabela 2

Zawartość wolnych kwasów fenolowych w badanych próbach różnych odmianach rzepaku  
*Content of free phenolic acids in the investigated seed samples of different rapeseed varieties*

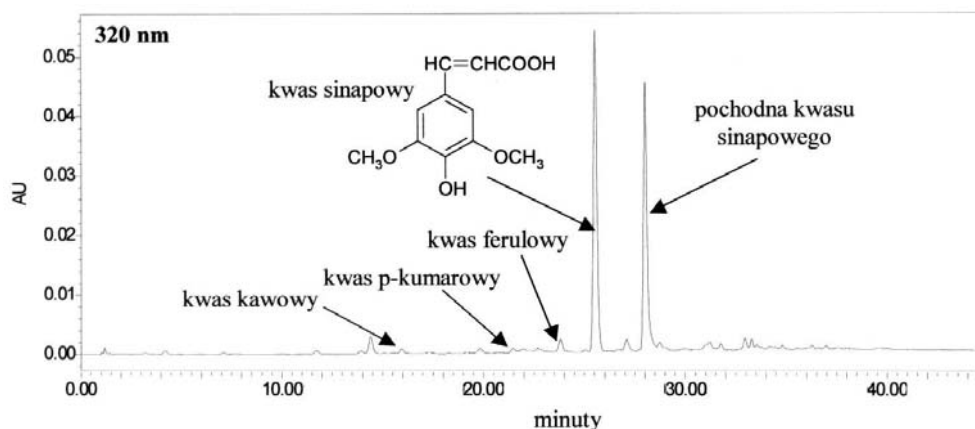
Odmiana rzepaku <i>Rapeseed varieties</i>	Zawartość kwasów fenolowych — <i>Phenolic acids content</i> [mg/100 g]										pochodna kwasu sinapowego* <i>derivative sinapic acid*</i>
	protokatechowy <i>protocatechuic</i>	p-hydroksybenzoosowy <i>p-hydroxybenzoic</i>	wanilinowy <i>wanilin</i>	kawowy <i>caffeic</i>	p-kumarowy <i>p-cumaric</i>	ferulowy <i>ferulic</i>	sinapowy <i>sinapic</i>				
Rok zbioru 2000 — <i>Crop year 2000</i>											
Lisek	2,38±0,03 j	0,57±0,12 g	1,05±0,04 e	1,18±0,02 f	0,59±0,02 g	1,49±0,04 f	54,66±0,30 l			44,50±0,48 b	
Silvia	2,78±0,05 k	0,77±0,01 k	0,64±0,03 d	1,69±0,01 j	0,97±0,02 h	1,15±0,01 e	63,10±0,11 m			83,39±0,22 o	
Liropa	1,95±0,02 i	0,35±0,01 def	1,31±0,04 gh	1,10±0,05 e	0,48±0,01 f	2,06±0,04 i	60,10±0,08 n			41,21±0,21 a	
Rok zbioru 2001 — <i>Crop year 2001</i>											
Lisek	1,62±0,05 h	0,20±0,01 ab	0,38±0,01 bc	1,23±0,01 fg	0,36±0,01 e	0,66±0,01 b	26,31±0,03 e			70,31±0,03 m	
Silvia	1,24±0,01 f	0,43±0,02 f	1,38±0,01 hi	0,45±0,01 c	0,32±0,01 de	1,06±0,02 d	26,12±0,02 e			62,32±0,18 i	
Marita	1,41±0,02 g	0,22±0,02 b	1,25±0,01 fg	0,58±0,01 d	0,22±0,02 ab	0,68±0,02 b	25,75±0,01 d			59,45±0,04 h	
Bermuda	1,16±0,01 e	0,42±0,01 ef	2,22±0,02 l	1,48±0,01 i	0,37±0,01 e	0,77±0,03 c	27,65±0,03 g			47,24±0,04 d	
Rok zbioru 2002 — <i>Crop year 2002</i>											
Lisek	1,22±0,01 ef	0,22±0,01 b	0,63±0,02 d	1,52±0,02 i	0,29±0,01 cd	0,82±0,02 c	26,63±0,05 f			53,57±0,07 f	
Lirajet	1,15±0,03 e	0,32±0,01 cd	0,41±0,01 c	1,32±0,03 h	0,32±0,01 d	0,80±0,03 c	24,94±0,03 c			50,43±0,02 e	
Buffalo	0,93±0,04 c	0,58±0,01 g	0,62±0,02 d	1,48±0,02 i	0,25±0,02 abc	1,62±0,05 hg	67,28±0,07 o			67,61±0,02 k	
Kaszub	0,96±0,04 cd	0,36±0,02 def	1,63±0,02 j	1,22±0,01 fg	0,24±0,01 abc	0,62±0,02 b	24,13±0,07 b			46,59±0,07 c	
Wotan	0,47±0,01 a	0,17±0,01 ab	0,32±0,02 b	1,25±0,01 g	0,44±0,02 f	1,02±0,01 d	27,53±0,15 g			64,23±0,17 j	
Rok zbioru 2003 — <i>Crop year 2003</i>											
Lirajet	0,67±0,01 b	0,12±0,01 a	0,17±0,01 a	0,06±0,01 a	0,28±0,01 bcd	0,46±0,01 a	19,79±0,07 a			69,28±0,30 l	
Kronos	0,67±0,01 b	0,34±0,01 c,d,e	1,75±0,03 k	0,22±0,02 b	0,24±0,02 abc	2,28±0,02 j	50,59±0,6 k			98,77±0,06 r	
Rafaela	0,71±0,01 b	0,69±0,01 k	1,46±0,01 i	0,06±0,01 a	0,60±0,03 g	1,68±0,03 h	38,09±0,03 i			86,40±0,05 p	
Rasmus	1,03±0,02 d	0,26±0,02 b,c	1,73±0,06 k	0,06±0,01 a	0,21±0,01 a	1,49±0,02 f	49,45±0,07 j			54,38±0,06 g	
Wotan	0,89±0,03 c	0,26±0,03 b,c	1,22±0,02 f	0,05±0,01 a	0,29±0,04 cd	1,57±0,05 g	34,63±0,05 h			70,88±0,13 n	

Wyniki to wartości średnie z trzech powtórzeń i odchylenie standardowe; wartości oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie dla  $p \leq 0,05$

*Data presents mean values from six replicates; mean values followed by different letters are statistically significant at  $p \leq 0,05$*

\* w przeliczeniu na kwas sinapowy — *sinapic acid equivalent*

stwierdzono w odmianie Silvia (rok zbioru 2000) 63,10 mg/100 g, najmniejszą zawartość oznaczono dla odmiany Lirajet (2003 r.) 19,79 mg/100 g. Obserwując zawartość tego kwasu w poszczególnych latach uprawy badanych odmian rzepaku można zauważyć, że jego poziom wynoszący w roku 2000 54,66–63,10 mg/100 g obniżył się do około 25–27 mg/100 g w latach 2001 i 2002. Wyjątek stanowiła odmiana Buffalo, w której ilość tego kwasu sięgała powyżej 67 mg/100 g. Analizując kolejne lata uprawy rzepaku można stwierdzić, że w roku ubiegłym (2003) w nasionach ponownie nastąpił wzrost zawartości kwasu sinapowego z wyjątkiem odmiany Lirajet (19,79 mg/100 g).



Kwasy protokatechowy, p-hydroksybenzoesowy i wanilinowy oznaczano przy  $\lambda = 250$  nm  
*Protocatechuic, p-hydroxybenzoic and vanillin acid were determined at  $\lambda = 250$  nm*

Rys. 2. Rozdział chromatograficzny badanych fenolokwasów (HPLC) — *Chromatographic separation of sampled phenolic acids (HPLC)* — Lisek 2000

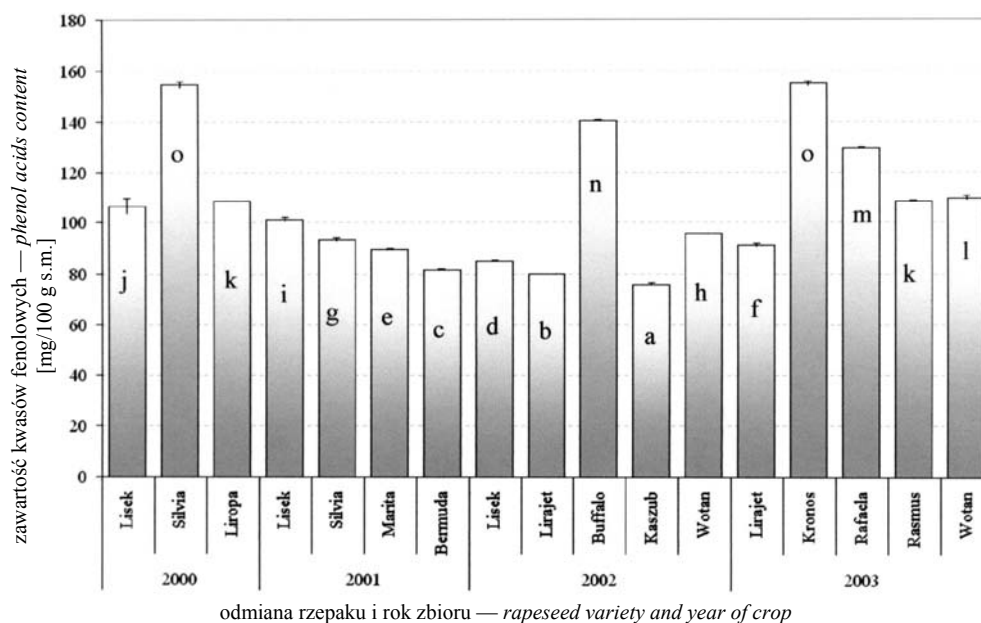
Kozłowska i in. (1983) w swoich badaniach uzyskali największą zawartość kwasu sinapowego (41,3 mg/100 g) w mączce rzepakowej uzyskanej z rzepaku wysokoerukowego. Cai i Arntfield (2001) badali zawartość kwasu sinapowego w śrucie rzepakowej stosując ekstrakcję metanolem o różnych stężeniach i w różnej temperaturze. Zawartość tego kwasu oznaczyli na poziomie od 34,0 mg/100 g (100% metanol, 75°C, 20 min.) do 40,0 mg/100 g (70% metanol, 75°C, 20 min.). Również Kozłowska i in. (1983a) określili wyniki ilości kwasu sinapowego na podobnym poziomie, oznaczając zawartość kwasów fenolowych w rzepaku i gorczycy (odpowiednio 41,3–51,6 mg/100 g i 4,5 mg/100 g). Shahidi i Naczka (1992) podają zawartość kwasu sinapowego w rzepaku na poziomie 27,6–67,7 mg/100 g.

Pozostałe kwasy fenolowe występowały w znacznie mniejszych ilościach (tab. 2). Poziom kwasu p-hydroksybenzoesowego nie przekraczał 0,8 mg (Silvia, 2000 r.), kwasu p-kumarowego 1,0 mg (Silvia, 2000 r.), protokatechowego 2,8 mg (Silvia, 2000 r.), wanilinowego 1,75 mg (Kronos, 2003 r.), kawowego 1,7 mg (Silvia, 2000 r.) oraz ferulowego 2,3 mg/100 g (Kronos, 2003 r.). W odmianach z roku



2003 stwierdzono statystycznie istotny spadek zawartości kwasu kawowego, a wzrost zawartości kwasu ferulowego. Otrzymane dane znajdują potwierdzenie w literaturze (Kozłowska i in. 1983, Kozłowska i in. 1983a, Zadernowski i Kozłowska 1983)

Drugim dominującym pikiem na chromatogramie rozdziału kwasów fenolowych w ekstraktach z nasion rzepaku (rys. 2) jest niskocząsteczkowa pochodna kwasu sinapowego. Większość badanych odmian charakteryzowała się wyższą zawartością pochodnej kwasu sinapowego niż samego kwasu (tab. 2). Najwięcej tego związku zawierała odmiana Kronos (2003 r.) 98,77 mg/100 g w przeliczeniu na kwas sinapowy. Odmiany Lisek i Liropa z roku 2000 charakteryzowały się mniejszą zawartością pochodnej aniżeli kwasu (odpowiednio 44,50 i 41,21 mg/100 g). Odmiana Buffalo (2002 r.) zawierała jednakową zawartość kwasu sinapowego i jego pochodnej (około 67 mg/100 g). Zadernowski (1987) w swoich studiach nad związkami fenolowymi mąk rzepakowych również donosi, że we frakcji wolnych fenolokwasów dominowała przede wszystkim pochodna kwasu sinapowego (66–68%). Zastosowane warunki oczyszczania ekstraktów metanolowych w celu otrzymania frakcji wolnych fenolokwasów pozwoliły także oznaczyć pochodną kwasu sinapowego, co oznacza że jest ona związkiem o charakterze słabego kwasu.



Wartości oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy  $p \leq 0,05$   
 Values followed by different letters are statistically significant at  $p \leq 0.05$

Rys. 3. Sumaryczna zawartość wolnych kwasów fenolowych w badanych odmianach rzepaku  
 Total free phenolic acids in the investigated rapeseed varieties

Wiele czynników mogło mieć wpływ na uzyskane wyniki, m.in. metoda izolowania WKF. Zawartość związków fenolowych oraz ich stężenie w materiale roślinnym jest zależne od etapu ontogenezy oraz warunków wegetacyjnych (Stafford i Ibrahim 1992). Określono również, że istotny wpływ na poziom tych związków mają warunki klimatyczno-glebowe i stopień nawożenia upraw (Rotkiewicz i in. 1992, Klepacka i in. 1999).

## Wnioski

---

- W przeprowadzonych badaniach na dwunastu odmianach rzepaku zbieranych w okresie ostatnich czterech lat z upraw na terenie Wielkopolski stwierdzono istotne różnice w zawartości związków fenolowych ogółem, jak i w zawartości poszczególnych WKF w zależności od odmiany i roku zbioru ( $p > 0,05$ ).
- Zastosowana technika (SPE) oczyszczania metanolowych ekstraktów w celu otrzymania frakcji wolnych fenolokwasów może być z powodzeniem stosowana do oznaczenia wolnych fenolokwasów w śrucie rzepakowej.
- W badanych odmianach rzepaku dominował kwas sinapowy, którego poziom zmieniał się w zależności od roku zbioru. W roku 2001 i 2002 stwierdzono dwukrotnie mniej tego kwasu niż w roku 2000 oraz 2003.
- Zawartość pochodnej kwasu sinapowego była wyższa niż samego kwasu z wyjątkiem dwóch odmian z roku 2000 (Lisek i Liropa). Odmiana Buffalo (2002) charakteryzowała się taką samą zawartością pochodnej, jak i kwasu.
- Warunki oczyszczania ekstraktów metanolowych pozwoliły także oznaczyć pochodną kwasu sinapowego, co oznacza że jest ona związkiem o charakterze słabego kwasu.

## Literatura

---

- Amarowicz R., Naczek M., Shahidi F. 2000. Antioxidant activity of crude tannins of canola and rapeseed hulls. *JAACS*, 77, 9: 957-961.
- Cai R., Arntfield S.D. 2001. A rapid high-performance liquid chromatographic method for the determination of sinapine and sinapic acid in canola seed and meal. *JAACS*, 78, 9: 903-910.
- Escribano-Bailón T., Gutiérrez-Fernández Y., Rivas-Gonzalo J.C., Santos-Buelga C. 1992. Characterization of procyanidins of *Vitis vinifera* variety Tinta del País grape seeds. *J. Agric. Food Chem.*, 40: 1794-1799.
- Główniak K., Zgórką G., Kozyra M. 1996. Solid-phase extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography of free phenolic acids in some *Echinacea* species. *J. Chromatogr., A*, 730: 25-29.

- Klepcka J., Fornal Ł., Borejszo Z., Gudaczewski W. 1999. Badanie związków pomiędzy zawartością kwasu ferulowego a barwą okrywy owocowo-nasiennej ziarna pszenicy i jęczmienia. XXX Sesja Naukowa Komitetu Technologii i Chemii Żywności PAN, Kraków, 28.
- Kozłowska H., Zadernowski R., Sosulski F.W. 1983. Phenolic acids in oilseed flours. *Nahrung/Food*, 27, 5: 449-453.
- Kozłowska H., Rotkiewicz D.A., Zadernowski R. 1983a. Phenolic acids in rapeseed and mustard. *JAOCS*, 60, 6: 1119-1123.
- Lampart-Szczapa E., Siger A., Trojanowska K., Nogala-Kałucka M., Małecka M., Pacholek B. 2003. Chemical composition and antibacterial activities of lupin seeds extracts. *Nahrung/Food*, 5: 286-290.
- Matthäus B. 1998. Isolation, fractionation and HPLC analysis of neutral phenolic compounds in rapeseeds. *Nahrung/Food*, 42, 2: 75-80.
- Nacz M., Shahidi F. 1989. The effect of methanol-ammonia-water treatment on the content of phenolic acids of canola. *Food Chem.*, 31: 159-164
- Nacz M., Shahidi F., Sullivan A. 1992. Recovery of rapeseed tannins by various solvent systems. *Food Chem.*, 45, 1: 51-54.
- Nair R.B., Joy R.W., Schnaider J., Shi X., Datla R.S.S., Keller W.A., Selvaraj G. 1999. New horizons for an old crop. Proceedings of the 10th International Congress, Canberra, Australia ([www.regional.org.au/au/gcird](http://www.regional.org.au/au/gcird)).
- Nowak H., Kujawa R., Zadernowski R., Rocznik B., Kozłowska H. 1992. Antioxidative and bactericidal properties of phenolic compounds in rapeseeds. *Fat Sci. Technol.*, 94: 149-152.
- Rotkiewicz D., Zadernowski R., Budzyński W. 1992. Zawartość kwasów fenolowych w dojrzewających nasionach rzepaku odmiany „Bolko”. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, XIV: 200-205.
- Rutkowski A., Kozłowska H. 1981. Preparaty żywnościowe z białka roślinnego. WNT Warszawa.
- Salagoity-Auguste M.H., Bertrand B. 1984. Wine phenolics – Analysis of low molecular weight components by high performance liquid chromatography. *J. Sci. Food Agric.*, 35: 1241-1247.
- Shahidi F., Nacz M. 1992. An overview of the phenolics of canola and rapeseed: chemical, sensory and nutritional significance. *JAOCS*, 69, 9: 917-924.
- Sosulski F. 1979. Organoleptic and nutritional effects of phenolic compounds on oilseed protein products: A review. *JAOCS*, 56, 8: 711-715.
- Stafford H.A., Ibrahim R.K. 1992. Phenolic metabolism in plant. *Phytochem.*, 26: 52-55
- Thiyam U., Kuhlmann A., Stöckmann H., Schwarz K. 2003. Prospects of rapeseed oil by-products with antioxidative potential. Proceedings of the Symposium International Chimie Verte 19–22. Mai 2003 in Poitiers, France, L-7.
- Vuorela S., Meyer A.S., Heinonen M. 2003. Quantitative analysis of the main phenolics in rapeseed meal and oils processed differently using enzymatic hydrolysis and HPLC. *Eur. Food Res. Technol.*, 217, 6: 517-523.
- Wanasundara U.N., Shahidi F. 1994. Canola extract as an alternative natural antioxidant for canola oil. *JAOCS*, 71: 817-822.
- Wanasundara U., Amarowicz R., Shahidi F. 1994. Isolation and identification of an antioxidative component in canola meal. *J. Agric. Food Chem.*, 42: 1285-1290.
- Wanasundara U.N., Amarowicz R., Shahidi F. 1996. Partial characterization of natural antioxidants in canola meal. *Food Res. Inter.*, 28, 6: 525-530.
- Zadernowski R., Kozłowska H. 1983. Phenolic acids in soybean and rapeseed flours. *Lebensm. Wiss. u. Technol.*, 16: 110-114.

Zadernowski R. 1987. Studia nad związkami fenolowymi mąk rzepakowych i rzepikowych. Acta Acad. Agricul. Techn. Olst. Technologia Alimentorum, 21, Supl. F.

Zukalova H., Vaak J. 1999. New Horizons for an old crop. Proceedings of the 10th International Congress, Canberra, Australia ([www.regional.org.au/au/gcird](http://www.regional.org.au/au/gcird)).