

JAKUB MACIERZYŃSKI, MARIA BUCZEK, WOJCIECH ZAWERACZ,
BOGUSŁAW KRÓL

SKŁAD POLIFENOLOWY OWOCÓW JEŻYNY *RUBUS FRUTICOSUS*

Streszczenie

Celem pracy było określenie składu polifenolowego owoców sześciu odmian jeżyny uprawnej, w tym rozpowszechnionych w użytkowaniu: 'Orkan' i 'Gaj' oraz czterech nowych: 'Ruczaj', 'Polar', 'Brzezina', 'Leśniczanka' oraz wyznaczenie zmienności zawartych w nich głównych grup polifenoli.

Materiałem do badań były owoce jeżyny wymienionych odmian, które pozyskano z Sadowniczego Zakładu Doświadczalnego Instytutu Ogrodnictwa w Brzeznej. W owocach oznaczono zawartość podstawowych grup polifenoli: antocyjanów, elagotanin i flawan-3-oli z zastosowaniem metody HPLC. W jeżynach stwierdzono zawartość: antocyjanów – $210 \div 465$ mg/100 g ś.m., elagotanin – $53 \div 320$ mg/100 g ś.m. i flawan-3-oli – $121 \div 282$ mg/100 g ś.m., a suma polifenoli wynosiła $556 \div 898$ mg/100 g ś.m. Istotnie większą zawartością antocyjanów cechowały się owoce odmiany 'Ruczaj' (465 mg/100 g ś.m.), a istotnie mniejszą jeżyny 'Polar' (210 mg/100 g ś.m.), jednak ta odmiana charakteryzowała się istotnie większą zawartością elagotanin (319 mg/100 g ś.m.). Głównym antocyjanem owoców wszystkich odmian był cyjanidynyno-3-O-glikozyd (79 ÷ 91 % sumy antocyjanów). Suma zawartości i wzajemne udziały elagotanin: lambertianiny C i sanguiny H-6 w owocach jeżyny były istotnie zróżnicowane w zależności od odmiany i mogą być rozważane jako kryterium podobieństwa. Duża zawartość sumy polifenoli w jeżynach odmian 'Ruczaj', 'Polar' i 'Gaj' może być dodatkowym czynnikiem wpływającym na upowszechnianie tych odmian w uprawie.

Słowa kluczowe: jeżyna, zmienność odmianowa, elagotaniny, antocyjany, flawan-3-ole

Wprowadzenie

Jeżyna, podobnie jak malina, należy do rodzaju *Rubus* z rodziny różowatych *Rosaceae*. Jeżyna *Rubus fruticosus* jest krzewem o dużej zmienności gatunkowej, tworzącym zarośla i poszycia lasów [3]. Liście oraz owoce jeżyn i malin od dawna stosowane

Mgr inż. J. Macierzyński, prof. dr hab. B. Król, Instytut Chemicznej Technologii Żywności, Wydz. Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź, dr inż. M. Buczek, mgr inż. W. Zaweracz, Sadowniczy Zakład Doświadczalny, Instytut Ogrodnictwa Brzezna sp. z o. o., Brzezna 1, 33-386 Podegrodzie. Kontakt: kuba.macierzynski@hotmail.com

są w ziołolecznictwie [32]. Krzewy obydwu gatunków są roślinami uprawowymi, lecz tylko malina stała się rośliną sadowniczą, a jeżyna pozostaje w uprawie amatorskiej. Wynika to głównie z podatności jeżyny na przemarzanie oraz ze względu na bardziej czasochłonną pielęgnację roślin w porównaniu z maliną [3]. Światowa produkcja jeżyn wynosi około 155 tys. ton rocznie [29]. Owoce pochodzą z plantacji towarowych i stanowisk roślin dziko rosnących przede wszystkim w Ameryce Północnej, Europie i Azji [30]. Głównym producentem jeżyn w Europie jest Serbia ze zbiorami 8 ÷ 10 tys. ton rocznie [33]. Produkcja towarowa owoców jeżyny w Polsce, oceniana na kilkaset ton, skupiona jest głównie w rejonie Gdańska, Poznania i Wrocławia. Owoce przeznacza się przede wszystkim na mrożonki [33]. W tej postaci kierowane są na eksport do UE oraz na rynek krajowy jako komponent gastronomiczny i winiarski [1].

Od 1979 r. w Sadowniczym Zakładzie Doświadczalnym Instytutu Sadownictwa w Brzeźnej prowadzone są prace hodowlane nad zwiększeniem produkcji jeżyny w Polsce. Podstawowym celem jest uzyskanie odmian jeżyny o wysokiej jakości deseryowej lub przetwórczej owoców oraz uzyskanie odmian mrozoodpornych i przydatnych do zbioru maszynowego [22]. Badaniem objęto odmiany: ‘Gazda’, ‘Orkan’, ‘Gaj’, ‘Polar’ i ‘Ruczaj’. Na podstawie kilkuletnich obserwacji wykazano dużą przydatność odmian jeżyny ‘Gaj’, ‘Polar’ i ‘Ruczaj’ do uprawy towarowej oraz amatorskiej w warunkach klimatycznych Polski południowej [22].

Owoce jeżyny są bogatym źródłem polifenoli, a zwłaszcza antocyjanów. Mogą zawierać [mg/100 g ś.m.]: 31 ÷ 326 mg antocyjanów [16], 51 ÷ 68 mg elagotanin [25] i 27 mg flawan-3-oli [9]. Są one również źródłem takich polifenoli, jak flawonole – 4 ÷ 30 mg/100 g ś.m. oraz kwasy fenolowe – 7 ÷ 64 mg/100g ś.m. [16].

Zawartość wymienionych związków jest ważna ze względów prozdrowotnych. Flawonoidy, w tym antocyjany, mogą zmniejszać ryzyko powstania otyłości [15], choroby wieńcowej serca [13], różnych typów raka [19, 31] czy też wpływać na poprawę pamięci u osób starszych [20]. Obserwowano korzystne oddziaływanie elagotanin na hamowanie rozwoju komórek raka prostaty [12]. Elagotaniny są estrami kwasu 3,4,5,3',4',5'-heksahydroksydifenylowego (kwas HHDP) i alkoholu wielowodorotlenowego (monosacharydu), zwykle β-D-glukozy (lub jej oligomerów). Uważa się, że niektóre prozdrowotne właściwości elagotanin związane są ze zdolnością do uwalniania z ich cząsteczek wolnego kwasu elagowego i jego dalszego metabolizmu w organizmach ludzi i zwierząt. Następstwem metabolizmu elagotanin przez florę bakteryjną przewodu pokarmowego jest wydłużone uwalnianie kwasu elagowego do krwi [8]. Cennym źródłem elagotanin jest m.in. jeżyna. Udokumentowano pośredni efekt obniżania ciśnienia krwi u szczurów cierpiących na nadciśnienie dzięki diecie bogatej we flawan-3-ole [6].

Właściwości prozdrowotne jeżyn skłoniły do podjęcia badań, których celem było określenie składu polifenolowego owoców pochodzących z sześciu odmian jeżyny uprawnej oraz wyznaczenie zmienności głównych grup polifenoli w nich zawartych.

Material i metody badań

Materiał do badań stanowiły świeże owoce sześciu odmian jeżyny: 'Gaj', 'Ruczaj', 'Orkan', 'Polar', 'Brzezina' i 'Leśniczanka'. Owoce pochodziły z plantacji doświadczalnych Sadowniczego Zakładu Doświadczalnego Instytutu Ogrodnictwa w Brzeznej, z sezonu 2012. Jeżyny w ilości 2 ÷ 4 kg zebrano w stanie dojrzałości zbiorczej, zamrożono w temp. -18 °C i utrzymywano w tej temperaturze do czasu wykonania badań przez 6 miesięcy. Zamrożone próbki owoców, w ilości po około 200 g, pobierano z każdej odmiany jeżyny, rozdrabniano w młynku IKA A11B przez kilka minut, a następnie używano do oznaczeń antocyjanów, elagotanin i flawanoli.

Oznaczenie zawartości antocyjanów prowadzono metodą opracowaną przez Sójkę i wsp. [26]. Postępowanie analityczne wykonywano w dwóch powtórzeniach w każdej badanej próbce materiału.

Elagotaniny w owocach oznaczano zgodnie z Klimczak i wsp. [18]. Substancjami wzorcowymi były: kwas elagowy (Extrasynthese, Genay, Francja), sanguina H-6 o czystości wynoszącej 90 % (wyznaczona na podstawie analizy HPLC), lambertianina C o czystości 95-procentowej (wyznaczona na podstawie analizy HPLC) wyekstrahowane z owoców malin i wyodrębnione metodą chromatografii preparatywnej według postępowania opisanego przez Sójkę i wsp. [27]. Materiałem do wyodrębniania lambertianiny C i sanguiny H6 był acetonowy ekstrakt z wycieków malinowych.

Do ilościowego oznaczenia flawan-3-oli w jeżynach zastosowano metodę katalizowanej kwasowej hydrolizy z nadmiarem floroglucynolu. Reakcję floroglucynolizy prowadzono zgodnie z procedurą opisaną przez Kennedy'ego i wsp. [17] w modyfikacji własnej. Naważkę 40 mg liofilizowanych i zmielonych w ciekłym azocie owoców odważano do plastikowych probówek o poj. 2 ml (Eppendorf), a następnie dodawano do niej 800 µl roztworu floroglucynolu (75 g/l) i kwasu askorbinowego (15 g/l) w odwodnionym metanolu. Reakcję rozpoczynano po dodaniu 400 µl 0,4 M roztworu kwasu solnego w odwodnionym metanolu. Tak przygotowane próbki wstawiano do łaźni wodnej o temp. 50 °C na 30 min. Po tym czasie próbki natychmiast umieszczano w łaźni z lodem na 3 min, a następnie dodawano do próbek po 600 µl 40 mM wodnego roztworu octanu sodu w celu zatrzymania reakcji. Po zatrzymaniu reakcji próbki rozcieńczano dwukrotnie 40 mM octanu sodu. Powyższe postępowanie analityczne wykonywano w dwóch powtórzeniach w każdej badanej próbce. Produkty kwasowej degradacji flawan-3-oli rozdzielano przy użyciu chromatografu Knauer (Berlin, Niemcy) złożonego z dwu pomp (K-501) działających w układzie gradientowym i sprzężonego z detektorem fluorescencyjnym (FD), który skonfigurowano tak, by długość fali wzbud-

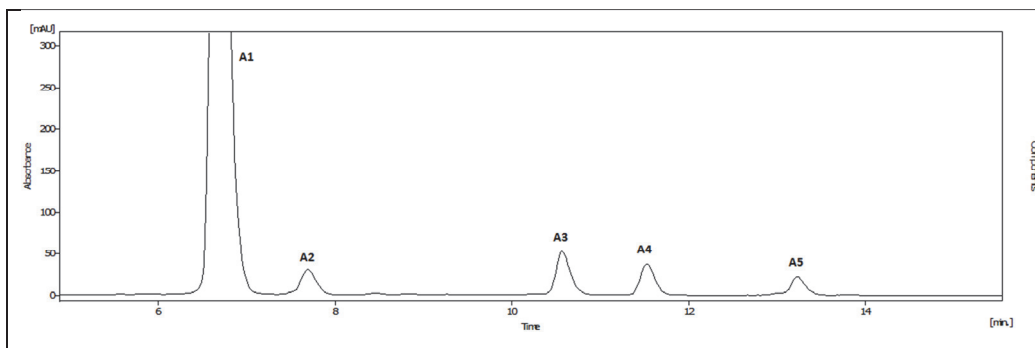
dzenia $\lambda = 278$ nm, a długość fali emisji $\lambda = 360$ nm. Rozdział wykonywano w kolumnie Phenomenex Gemini 5u C18 110A ($250 \times 4,6$ mm, $5 \mu\text{m}$). Kolumnę termostatowano w temp. 25°C . Przepływ fazy ruchomej wynosił 1 ml/min. Fazę A stanowił 2,5-procentowy wodny roztwór kwasu octowego, fazę B stanowiła mieszanina acetonitrylu i wody w stosunku objętościowym 4 : 1. Program rozdziału: 0 - 10 min 4 ÷ 7 % fazy B; 10 - 27 min 7 ÷ 30 % fazy B; 27 - 29 min 30 ÷ 70 % fazy B; 29 - 34 min 70 % fazy B; 34 - 35 min 70 ÷ 4 % fazy B; 35 - 40 min 4 % fazy B. Dane rejestrowano za pomocą programu do rejestracji i obróbki danych chromatograficznych Eurochrom 2000. Substancjami wzorcowymi były: (+)-katechina, (-)-epikatechina (Sigma-Aldrich, Steinheim, Niemcy) oraz procyanidyna B2 (Sigma-Aldrich, Steinheim, Niemcy) po przeprowadzonej florogluzinolizie według procedury zastosowanej do badanych próbek.

Zawartość wolnej (+)-katechiny i (-)-epikatechiny oznaczano w ekstraktach stosowanych wcześniej do analizy antocyjanów. Stosowano identyczny układ chromatograficzny oraz program rozdziału jak w przypadku oznaczania sumy flawan-3-oli. Średni stopień polimeryzacji wyznaczano na podstawie stosunku molowego wszystkich jednostek flawan-3-oli, tj. adduktów floroglucynolu i jednostek terminalnych do sumy jednostek terminalnych. Przy czym za jednostki terminalne uznaje się (+)-katechinę i (-)-epikatechinę, uwolnione z procyanidyn [11].

Wyniki badań poddano analizie statystycznej, stosując jednoczynnikową analizę wariancji oraz test Duncana na poziomie istotności $p \leq 0,05$. Obliczenia wykonano w programie Statistica 9.

Wyniki i dyskusja

We wszystkich jeżynach stwierdzono występowanie pięciu antocyjanów, z których dwa zidentyfikowano na podstawie wzorców jako cyjanidyno-3-*O*-glukozyd oraz cyjanidyno-3-*O*-rutynozyd (rys. 1). Na podstawie danych literaturowych [14], uwzględniając kolejność poszczególnych pików i czasy retencji, pozostałe trzy antocyjany zidentyfikowano jako: cyjanidyno-3-ksylozyd, cyjanidyno-3-(6''-malonyloglukozyd) oraz cyjanidyno-3-(6''-(3-hydroksy-3-metyloglutaro)glukozyd). Zgodnie z tymi danymi zawartość cyjanidyno-3-*O*-glukozydu stanowiła 77 % sumy antocyjanów zawartych w owocach jeżyny. Według Kaume'go i wsp. [16] oraz autorów innych prac dotyczących antocyjanów jeżynowych [2, 14], w owocach tych występują także glikozydy, takie jak: cyjanidyno-3-arabinozyd, cyjanidyno-3-galaktozyd, cyjanidyno-3-soforozyd, malwidyno-3-arabinozyd, pelargonidyno-3-glukozyd, lecz głównym składnikiem antocyjanowym, niezależnie od pochodzenia owoców, zawsze pozostaje cyjanidyno-3-*O*-glukozyd. W tab. 1. przedstawiono wyniki zawartości antocyjanów, cyjanidyno-3-*O*-glukozydu, cyjanidyno-3-*O*-rutynozydu oraz pozostałych antocyjanów w owocach sześciu odmian jeżyny.



Rys. 1. Chromatogram UV-VIS przy długości fali 520 nm, przedstawiający obecność antocyjanów w świeżych owocach jeżyny odmiany 'Brzezina', gdzie: A1 – cyjanidyno-3-*O*-glukozyd, A2 – cyjanidyno-3-*O*-rutynozyd, A3 – cyjanidyno-3-ksylozyd, A4 – cyjanidyno-3-(6"-malonylogluukozyd) i A5 – cyjanidyno-3-(6"-(3-hydrokso-3-metyloglutaro)glukozyd).

Fig. 1. UV-VIS chromatogram at 520 nm wavelength showing occurrence of anthocyanins in fresh fruits of *Brzezina* cultivar, where: A1 – cyanidin-3-*O*-glucoside, A2 – cyanidin-3-*O*-rutinoside, A3 – cyanidin-3-xyloside, A4 – cyanidin-3-(6"-malonyloglucooside) to A5 – cyanidin-3-(6"-(3-hydrokso-3-metyloglutaro)yl) glucoside).

Zawartość sumy antocyjanów w badanych owocach wahała się w granicach 210 ÷ 465 mg/100 g ś.m. Jednocześnie zawartość cyjanidyno-3-*O*-glukozydu wynosiła 177 ÷ 404 mg/100 g ś.m., a jego udział w sumie antocyjanów zmieniał się od 79 do 91 %. Jest to znacznie więcej niż w innych owocach jagodowych, np. w malinach wynosi on około 30 % [5], a w truskawkach – około 10 % [4]. Wyniki własne są wyższe od zawartości sumy antocyjanów w jeżynach z plantacji towarowych stanu Georgia w USA (110,5 ÷ 122,7 mg/100 g ś.m.) [24] i jeżynach dziko rosnących w Norwegii (323 mg/100 g ś.m.) [14]. Warunki środowiska mogą więc mieć wpływ na sumę zawartości antocyjanów, co wykazano też na przykładzie szarłat (*Amaranthus* spp.) [28].

Pod względem zawartości antocyjanów w owocach poszczególnych odmian wyróżniono trzy grupy homogenne. Odmiany 'Ruczaj', 'Gaj' i 'Leśniczanka' cechowały się istotnie wyższą ($p \leq 0,05$) zawartością antocyjanów (średnio 429 mg/100 g ś.m.), a odmiana 'Polar' istotnie niższą (210 mg/100 g ś.m.) ($p \leq 0,05$) w porównaniu z pozostałymi dwoma odmianami tj. 'Orkanem' i 'Brzezina' (średnio 341 mg/100 g ś.m.).

We wszystkich badanych owocach jeżyn stwierdzono występowanie dwóch elagotanin: lambertianiny C oraz sanguiny H-6 (rys. 2). Hager i wsp. [10] podają, że w miąższu jeżyn pochodzących z USA (Arkansas) występują tylko dwie wyżej wymienione elagotaniny. Natomiast nasiona oraz torus (rozrośnięte dno kwiatowe) zawierają oprócz wymienionych elagotanin również monomery, takie jak pedunculaginę, kastalaginę/weskalaginę oraz tetramer lambertianinę D.

Tabela 1. Zawartość sumy antocyjanów oraz cyjanidyno-3-*O*-glukozydu, cyjanidyno-3-*O*-rutynozydu oraz pozostałych antocyjanów w owocach jeżyny w zależności od odmiany i pochodzenia [mg/100 g ś.m.].

Table 1. Content of total anthocyanins, cyanidin-3-*O*-glucoside, cyaniding-3-*O*-rutinoside, and of other anthocyanins in blackberry fruits depending on cultivar type and origin [mg/100 g FW]

Odmiana jeżyn Blackberry cultivar	Suma antocyjanów Total anthocyanins	Cyjanidyno-3- <i>O</i> -glukozyd Cyanidin-3- <i>O</i> -glucoside	Cyjanidyno-3- <i>O</i> -rutynozyd* Cyanidin-3- <i>O</i> -rutinoside*	Pozostałe antocyjany* Other anthocyanins*
	[mg/100 g ś.m.] / [mg/100 g FW]			
‘Gaj’	415,7 ^{cd} ± 39,1	346,9 ^{cd} ± 32,6	1,2 ^c ± 0,2	67,5 ^b ± 6,3
‘Ruczaj’	465,4 ^d ± 27	403,9 ^d ± 24,1	1,8 ^d ± 0,1	59,8 ^b ± 3,6
‘Orkan’	334,0 ^b ± 17,5	262,5 ^b ± 9,5	0,9 ^c ± 0,1	70,6 ^b ± 7,9
‘Polar’	209,5 ^a ± 13,0	177,2 ^a ± 11,0	0,6 ^a ± 0,1	31,7 ^a ± 1,9
‘Brzezin’	347,2 ^{bc} ± 5,4	315,3 ^{bc} ± 4,9	1,0 ^c ± 0,1	30,9 ^a ± 0,6
‘Leśniczanka’	407,3 ^{bcd} ± 15,2	364,3 ^{cd} ± 10,4	0,6 ^{ab} ± 0,2	42,5 ^a ± 4,7

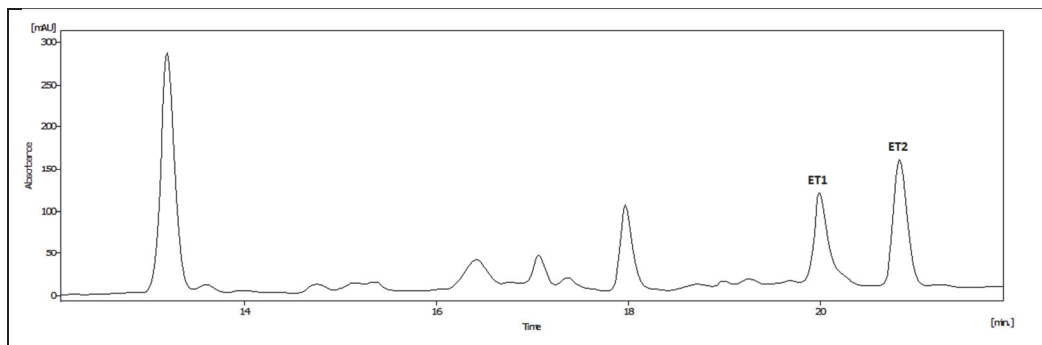
Objaśnienia: / Explanatory notes:

wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean value ± standard deviation; n = 2;

a, b, c – wartości w kolumnie oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie $p \leq 0,05$ / values in the same column and denoted by the same letter do not differ statistically significantly at $p \leq 0,05$;

* – przeliczono na cyjanidyno-3-*O*-glukozyd / calculated as cyanidin-3-*O*-glucoside equivalents.

Zawartość sumy elagotanin w badanych owocach wynosiła od 53 (odmiana ‘Brzezina’) do 320 mg/100 g ś.m. (odmiana ‘Polar’) (tab. 2). Pod względem zawartości elagotanin wykazano statystycznie istotną ($p \leq 0,05$) homogenność wyników odnoszących się do odmian ‘Orkan’ i ‘Polar’ (odpowiednio: 282 i 320 mg/100 g ś.m.). Odmiany ‘Ruczaj’ i ‘Leśniczanka’ również stanowiły grupę homogenną o istotnie mniejszej ($p \leq 0,50$) zawartości elagotanin (średnio zawierały ich o 55 % mniej w porównaniu z odmianami wyżej wymienionymi). Dane te są zbliżone do wyników zawartości elagotanin w jeżynach z plantacji towarowych Ameryki Środkowej i Południowej (Kostaryka, Ekwador), które wynoszą od 168,0 do 549,4 mg/100 g ś.m. [21]. Według innych źródeł [7] jeżyny odmian ‘Apache’, ‘Chesapeake’, ‘Loch Ness Thornfree’ i ‘Triple Crown’, uprawiane we Włoszech, charakteryzują się mniejszą zawartością elagotanin (70,4 do 155,6 mg/100 g ś.m.). Oprócz lambertianiny C i sanguiny H-6 Gasperotti i wsp. [7] zidentyfikowali również inne elagotaniny, takie jak: trzy izomery sanguiny H-10, sanguinę H-6 bez reszty kwasu galusowego, sanguinę H-2, lambertianinę C bez reszty kwasu elgowego, lambertianinę C z dodatkową resztą kwasu galusowego, których w niniejszych badaniach nie wykryto. Jednocześnie autorzy ci stwierdzili, że zawartość lambertianiny C i sanguiny H-6 stanowi średnio 67 % sumy elagotanin.



Rys. 2. Chromatogram UV-VIS przy długości fali 210 nm przedstawiający obecność elagotaniny w owocach jeżyny, gdzie: ET1 – lambertianina C, ET2 – sanguina H-6.

Fig. 2. UV-VIS chromatogram at 210 nm wavelength showing occurrence of ellagitannins, where: ET1 – C lambertianin C, ET2 –H-6 sanguiin.

Tabela 2. Zawartość lambertianiny C, sanguiny H-6 oraz ich sumy w badanych owocach jeżyny; stosunek zawartości sanguiny H-6 do lambertianiny C w owocach poszczególnych odmian jeżyny.

Table 2. Content of C lambertianin, H-6 sanguiin, and of their total in blackberry fruits studied; ratio of H-6 sanguin content to C lambertianin content in fruits of individual blackberry cultivars.

Odmiana jeżyny Blackberry cultivar	Lambertianina C C Lambertianin	Sanguina H-6 H-6 Sanguiin	Suma elagotanin Total ellagitannins	Stosunek zawartości lambertianiny C do sanguiny H-6 Ratio of C Lambertianin content to H-6 Sanguiin content
	[mg/100 g ś.m.] / [mg/100 g FM]			
‘Gaj’	98,3 ^c ± 8,3	98,8 ^c ± 7,5	197,1 ^c ± 15,8	1,00
‘Ruczaj’	61,8 ^b ± 4,4	60,3 ^b ± 5,0	122,1 ^b ± 9,4	1,02
‘Orkan’	120,0 ^d ± 11,4	162,2 ^d ± 13,3	282,2 ^d ± 24,6	0,74
‘Polar’	163,1 ^e ± 6,6	156,4 ^d ± 12,7	319,5 ^d ± 19,3	1,04
‘Brzezina’	32,1 ^a ± 5,4	21,1 ^a ± 0,5	53,2 ^a ± 5,9	1,52
‘Leśniczanka’	58,7 ^b ± 0,2	89,5 ^c ± 2,3	148,2 ^b ± 2,5	0,66

Objaśnienia jak pod tab. 1 / Explanatory notes as in Tab. 1.

Stosunek zawartości lambertianiny C do sanguiny H-6 w owocach sześciu badanych odmian jeżyny był zmienny: od 0,66 do 1,52 (średnio 1,00) (tab. 2). Wartość zbliżoną do jedności osiągnęły odmiany ‘Gaj’, ‘Ruczaj’ i ‘Polar’, co może być wskaźnikiem ich podobieństwa biologicznego. Wartością stosunku lambertianiny C do sanguiny H-6 powyżej jedności (1,52) charakteryzowała się tylko odmiana ‘Brzezina’. Sto-

sunek zawartości lambertianiny C do sanguiny H-6 w jeżynach uprawianych we Włoszech był wyższy niż w odmianach polskich i mieścił się w przedziale $0,9 \div 3,4$ (średnio 1,7) [7].

Zawartość flawan-3-oli w badanych jeżynach wynosiła od 121 do 282 mg/100 g ś.m. (tab. 3). Wykazano statystyczną istotność różnic ($p \leq 0,05$) pod względem zawartości flawan-3-oli oraz wolnych katechin. Zawartość procyanidyn mieściła się w przedziale od 27 mg/100 g ś.m. (odmiana 'Gaj') do 60 mg/100 g ś.m. (odmiana 'Leśniczanka') – średnio 51 mg/100 g ś.m. i w porównaniu z zawartością wolnych katechin była około trzykrotnie mniejsza (średnia zawartość wolnych katechin to 154 mg/100 g ś.m.). Owoce odmiany 'Gaj' cechowały się istotnie mniejszą ($p \leq 0,05$) zawartością procyanidyn w porównaniu z pozostałymi odmianami. Dane literaturowe dotyczące zawartości flawan-3-oli w jeżynach są nieliczne i rozbieżne. Jeżyny z Niemiec zawierały flawan-3-oli średnio 40,9 mg/100 g ś.m. [23], wobec 312,9 mg/100 g ś.m. samej katechiny w jeżynach pochodzących ze stanu Georgia w USA [24]. Odmiana 'Orkan' charakteryzowała się istotnie wyższym stopniem polimeryzacji procyanidyn ($n = 6,4$, gdzie n oznacza stopień polimeryzacji). Reszta odmian wykazywała stopień polimeryzacji procyanidyn bliski 3, z wyjątkiem odmiany 'Gaj' ($n = 2$). Według Gu i wsp. [9], średni stopień polimeryzacji flawan-3-oli w jeżynie wynosi 3,2, a dominującą jednostką jest (-)-epikatechina.

Tabela 3. Zawartość wolnych katechin, procyanidyn, flawan-3-oli (suma wolnych katechin i procyanidyn) oraz stopień polimeryzacji procyanidyn w owocach poszczególnych odmian jeżyn.

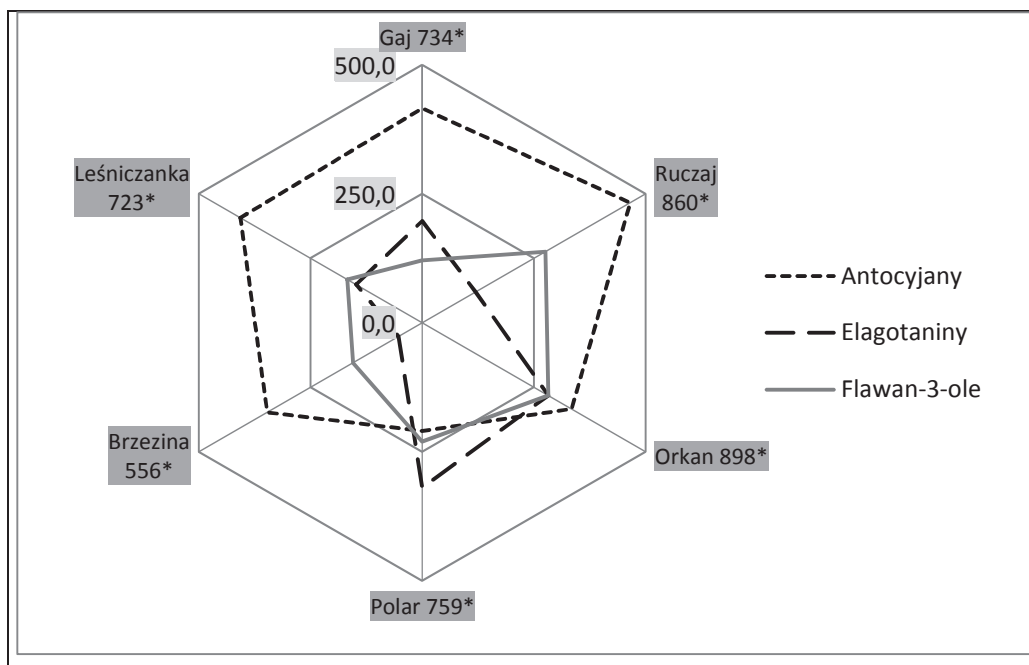
Table 3. Content of free catechins, procyanidins, flavan-3-ols (total of free catechins and procyanidins), and polymerization degree of procyanidins in fruits of individual blackberry fruits.

Odmiana jeżyn Blackberry cultivar	Suma wolnych katechin Total free catechins	Procyanidyn Procyanidins	Flawan-3-ole Flavan-3-ols	Stopień polimeryzacji Polymerization degree
	[mg/100 g ś.m.] / [mg/100 g FM]			[jedn. monomerów] [Units of monomers]
'Gaj'	93,7 ^a ± 0,1*	27,3 ^a ± 1,0	121,0 ^a ± 1,1	2,0 ^a ± 0,0
'Ruczaj'	216,3 ^d ± 0,1*	59,5 ^c ± 2,8	275,8 ^{ef} ± 2,7	2,7 ^b ± 0,1
'Orkan'	235,8 ^c ± 0,3*	46,2 ^b ± 0,1	281,9 ^f ± 0,2	6,4 ^c ± 0,3
'Polar'	173,9 ^c ± 2,7*	56,5 ^c ± 3,9	230,4 ^d ± 6,7	2,0 ^a ± 0,1
'Brzezina'	98,4 ^a ± 2,4*	56,7 ^c ± 0,3	155,1 ^b ± 2,7	2,0 ^a ± 0,0
'Leśniczanka'	108,2 ^b ± 1,3*	59,6 ^c ± 1,0	167,8 ^c ± 2,3	2,8 ^b ± 0,1

Objaśnienia: / Explanatory notes:

* – udział wolnych katechin w sumie flawan-3-oli w owocach poszczególnych odmian jeżyn [%]: 77,4; 78,4; 83,6; 75,5; 63,4; 64,5 / percent content of free catechins in total flavan-3-ols in fruits of individual blackberry cultivars: 77,4; 78,4; 83,6; 75,5; 63,4; 64,5.

Pozostałe objaśnienia jak pod tab. 1 / Other explanatory notes as in Tab. 1.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

w jasnoszarych polach wartości na osi / values on axis in light grey fields

* - suma zawartości badanych polifenoli w owocach poszczególnych odmian jeżyn (ciemnoszare pola) / Total content of polyphenols analyzed in fruits of individual blackberry cultivars (dark grey fields).

Rys. 3. Wykres radarowy obrazujący zawartość badanych grup polifenoli w owocach poszczególnych odmian jeżyn [mg/100 g ś.m.].

Fig. 3. Radar chart showing content of polyphenol groups analyzed in individual cultivars of blackberry fruits [mg/100 g FM].

Na rys. 3. przedstawiono sumaryczną zawartość antocyanin, elagotanin i flawan-3-oli na jednej osi dla owoców poszczególnych odmian. Jeżyny odmiany 'Orkan' i 'Ruczaj' zawierały po ok. 900 mg polifenoli w przeliczeniu na 100 g owoców. Owoce trzech następnych odmian 'Gaj', 'Polar' i 'Leśniczanka' zawierały badane związki w łącznej ilości po około 740 mg/100 g ś.m., zaś odmiana 'Brzezina' nieznacznie powyżej 500 mg polifenoli w 100 g ś.m. Antocyanjany były dominującymi składnikami polifenolowymi w owocach odmiany 'Ruczaj', 'Gaj', 'Leśniczanka' i 'Brzezina'. Odmianę 'Orkan' charakteryzowała podobna zawartość wszystkich trzech grup badanych polifenoli. Natomiast w owocach odmiany 'Polar' elagotaniny były ilościowo największą grupą polifenoli. Z przedstawionych danych wynika, że jeżyny, mimo zbliżonej sumarycznej zawartości polifenoli wśród odmian uprawnych, wyraźnie różnią się udziałem poszczególnych ich grup. Odmiany 'Gaj', 'Polar' i 'Ruczaj' są zalecane do

upraw towarowych i amatorskich [22]. W tym kontekście można zwrócić uwagę, że szczególnie duża zawartość prozdrowotnych elagotanin w owocach odmiany 'Polar' może stanowić dodatkowe kryterium preferencji w upowszechnianiu jej uprawy.

Wnioski

1. Odmiana jeżyn różnicowała je pod względem zawartości związków polifenolowych w owocach. Łączna zawartość antocyjanów, elagotanin i flawan-3-oli wynosiła od 556 do 898 mg /100 g ś.m (odpowiednio w odmianach 'Brzezina' i 'Orkan').
2. Suma zawartości i wzajemne udziały lambertianiny C i sanguiny H-6 w owocach jeżyny były istotnie zróżnicowane ($p \leq 0,05$) w zależności od odmiany i mogą być rozważane jako kryterium podobieństwa.
3. Duża zawartość sumy polifenoli w owocach jeżyny odmian 'Ruczaj', 'Polar' i 'Gaj' może być uwzględniana jako dodatkowa zaleta przy upowszechnianiu ich uprawy.
4. Dużą zawartość elagotanin w jeżynach odmiany 'Polar', z uwagi na znaną aktywność biologiczną i właściwości prozdrowotne tych związków, można uznać za dodatkowe kryterium jej upowszechniania we wszystkich typach uprawy.

Praca naukowa finansowana ze środków budżetowych na naukę w latach 2010-2013 jako projekt naukowy NN 312 360 139.

Literatura

- [1] Arozarena Í., Ortiz J., Hermosín-Gutiérrez I., Urretavizcaya I., Salvatierra S., Córdova I., Marín-Arroyo M.R., Noriega M.J., Navarro M.: Color, ellagitannins, anthocyanins, and antioxidant activity of Andean blackberry (*Rubus glaucus Benth.*) Wines. *J. Agric. Food Chem.*, 2012, **60** (30), 7463-7473.
- [2] Cuevas-Rodríguez E.O., Yousef G.G., García-Saucedo P.A., López-Medina J., Paredes-López O., Lila M.A.: Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in wild and domesticated mexican blackberries (*Rubus spp.*). *J. Agric. Food Chem.*, 2010, **58** (12), 7458-7464.
- [3] Danek J., Pierzga K.: Najlepsze krzewy owocowe. Wyd. Działkowiec, Warszawa 2002.
- [4] Da Silva F.L., Escribano-Bailón M.T., Alonso J.J.P., Rivas-Gonzalo J.C., Santos-Buelga C.: Anthocyanin pigments in strawberry. *LWT*, 2007, **40**, 374-382.
- [5] De Ancos B., Ibañez E., Reglero G., Cano M.P.: Frozen storage effects on anthocyanins and volatile compounds of raspberry fruit. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 873-879.
- [6] Galleano M., Bernatova I., Puzserova A., Balis P., Sestakova N., Pechanova O., Fraga C.G.: (-)-Epicatechin reduces blood pressure and improves vasorelaxation in spontaneously hypertensive rats by NO-mediated mechanism. *IUBMB Life*, 2013, **65** (8), 710-715.
- [7] Gasperotti M., Masuero D., Vrhovsek U., Guella G., Mattivi F.: Profiling and accurate quantification of *Rubus* ellagitannins and ellagic acid conjugates using direct UPLC-Q-TOF HDMS and HPLC-DAD analysis. *J. Agric. Food Chem.*, 2010, **58**, 4602-4616.
- [8] Gonzalez-Barrio R., Truchado P., Ito H., Espin J.C., Tomas-Barberan F.A.: UV and MS identification of urolithins and nasutins, the bioavailable metabolites of ellagitannins and ellagic acid in different mammals. *J. Agric. Food Chem.*, 2011, **59** (4), 1152-1162.

- [9] Gu L., Kelm M.A., Hammerstone J.F., Beecher G., Holden J., Haytowitz D., Gebhardt S., Prior R.L.: Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption. *J. Nutr.* 2004, **134**, 613-617.
- [10] Hager T., Howard L.R., Liyanage R., Lay J.O., Prior R.L.: Ellagitannin composition of blackberry as determined by HPLC-ESI-MS. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, **56**, 661-669.
- [11] Hanlin R.L., Kelm M.A., Wilkinson K.L., Downey M.O.: Detailed characterization of proanthocyanidins in skin, seeds, and wine Shiraz and Cabernet Sauvignon wine grapes (*Vitis vinifera*). *J. Agric. Food Chem.*, 2011, **59**, 13265-13276.
- [12] Heber D.: Multitargeted therapy of cancer by ellagitannins. *Cancer Letters*, 2008, **269**, 262-268.
- [13] Jensen G.S., Wu X., Patterson K.M., Barnes J., Carter S.G., Scherwitz L., Beaman, R., Endres J.R., Schauss A.G.: *In vitro* and *in vivo* antioxidant and anti-inflammatory capacities of an antioxidant-rich fruit and berry juice blend. Results of a pilot and randomized, double-blinded, placebo-controlled, crossover study. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, **56**, 8326-8333.
- [14] Jordheim M., Enerstvedt K.H., Andersen Ø.M.: Identification of cyanidin 3-O-β-(6''-(3-Hydroxy-3-methylglutaroyl)glucoside) and other anthocyanins from wild and cultivated blackberries. *J. Agric. Food Chem.*, 2011, **59** (13), 7436-7440.
- [15] Karlsen A., Retterstol L., Laake, P., Paur, I., Kjolsrud-Bohn S., Sandvik L., Blomhoff R.: Anthocyanins inhibit nuclear factor-κB activation in monocytes and reduce plasma concentrations of proinflammatory mediators in healthy adults. *J. Nutr.*, 2007, **137**, 1951-1954.
- [16] Kaume L., Howard L.R., Devareddy L.: The blackberry fruit: A review on its composition and chemistry, metabolism and bioavailability, and health benefits. *J. Agric. Food Chem.*, 2012, **60** (23), 5716-5727.
- [17] Kennedy J.A., Jones G.P.: Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49**, 1740-1746.
- [18] Klimczak E., Rozpara E., Król B.: Rozmieszczenie elagotanu w soku, mięszu i nasionach jako dodatkowe kryterium optymalnego zagospodarowania truskawek. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, **6** (79), 142-154.
- [19] Knekt P., Järvinen R., Seppänen R., Heliövaara M., Teppo L., Pukkala E., Aromaa A.: Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *Am. J. Epidemiol.*, 1997, **146**, 223-230.
- [20] Krikorian R., Shidler M.D., Nash T.A., Kalt W., Vinqvist-Tymchuk M.R., Shukitt-Hale B., Joseph J.A.: Blueberry supplementation improves memory in older adults. *J. Agric. Food Chem.*, 2010, **58**, 3996-4000.
- [21] Mertz C., Cheynier V., Günata Z., Brat P.: Analysis of phenolic compounds in two blackberry species (*Rubus glaucus* and *Rubus adenotrichus*) by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ion trap mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, **55**, 8616-8624.
- [22] Orzeł A., Król K., Jagła J.: Ocena nowo wychodowanych odmian i klonów jeżyny (*Rubus fruticosus* L.) programu hodowlanego sadowniczego zakładu doświadczalnego ISK w Brzeznej. *Zesz. Nauk. Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa*, 2010, **18**, 131-141.
- [23] Rzeppa S., Von Barga C., Bittner K., Humpf H.U.: Analysis of flavan-3-ols and procyanidins in food samples by reversed phase high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry (RP-HPLC-ESI-MS/MS). *J. Agric. Food Chem.*, 2011, **59** (19), 10594-10603.
- [24] Sellappan S., Akoh C.C., Krewer G.: Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-Grown blueberries and blackberries. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50** (8), 2432-2438.
- [25] Siriwoharn, T.; Wrolstad, R.E.; Durst, R.W. Identification of ellagic acid in blackberry juice sediment. *J. Food Sci.*, 2005, **70**, 189-197.

- [26] Sójka M., Król B.: Composition of industrial seedless black currant pomace. *Eur. Food Res. Technol.*, 2009, **228**, 597-605.
- [27] Sójka M., Klimczak E., Macierzyński J., Kołodziejczyk K.: Nutrient and polyphenolic composition of industrial strawberry press cake. *Eur. Food Res. Technol.*, 2013, **237** (6), 995-1007.
- [28] Steffensen S.K., Pedersen H.A., Labourian R., Mortnesen A.G., Laursen B., de Troiani R.M., Nollemeier E.J., Janovska D., Stavelikova H., Taberner A., Christophersen C., Formsgaard I.S.: Variation of polyphenols and betaines in aerial parts of young, field-grown *Amaranthus* genotypes. *J. Agric. Food Chem.*, 2011, **59** (22), 12073-12082.
- [29] Strik B.C.: Berry crops: worldwide area and production systems.: In berry fruit value added products for health promotion. Ed. CRC, Boca Raton, 2007, Vol. 1, p. 349.
- [30] Strik B.C., Clark, J.R., Finn, C.E., Banados, M.P.: Worldwide production of blackberries. *Acta Hort.*, 2008, **777**, 209-217.
- [31] Thomasset S., Berry D.P., Cai H., West K., Marczylo T.H., Marsden D., Brown K., Dennison A., Garcea, G., Miller A.: Pilot study of oral anthocyanins for colorectal cancer chemoprevention. *Cancer Prev. Res.*, 2009, **2**, 625-633.
- [32] Volak J., Stodola J.: *Rośliny lecznicze*. PWR i L, Warszawa 1987.
- [33] Informacje własne serwisu fresh-market. [online]. Dostępne w internecie [01.09.2013]: http://www.fresh-market.pl/katalog_produkow/Owoce/runo_lesne;n1544313195.

POLYPHENOLIC COMPOSITION OF *RUBUS FRUTICOSUS* BLACKBERRY FRUITS

Summary

The objective of the study was to determine the polyphenolic composition of six blackberry cultivars, including the prevalently used Orkan and Gaj, and of four novel cultivars: Ruczaj, Polar, Brzezina, and Leśniczanka, as well as to determine the variability of main groups of polyphenols contained therein.

Fruits of the above named cultivars constituted the research material; they were acquired from a Sadowniczy Zakład Doświadczalny Instytut Ogrodnictwa in Brzezina (*Experimental Station for Fruit Growing, Institute of Horticulture in Brzezina, Poland*). In the fruits, the basic groups of polyphenols were determined using a HPLC method: anthocyanins, ellagitannins, and flavan-3-ols. It was found that the contents of those polyphenols in blackberries were as follows: anthocyanins between 210 and 465 mg/100 g FW, ellagitannins between 53 and 320 mg/100 g FW, and flavan-3-ols between 121 - 282 mg/100 g FW; the total polyphenols were between 556 and 898 mg/100 g FW. The fruits of the Ruczaj cultivar were characterized by a significantly higher amount of anthocyanins (465 mg/100 g FW) and the Polar blackberries by a significantly lower amount of anthocyanins (210 mg/100 g FW.); however, the latter cultivar was characterized by a significantly higher amount of ellagitannins (319 mg/100 g FW). In the fruits of all the cultivars, cyanidin-3-*O*-glucoside was the main anthocyanin (79 - 91 % of total anthocyanins). In the blackberry fruits, the total contents of two ellagitannins: lambertianin C and sanguin H-6, and their reciprocal percent contents were significantly different depending on the type of cultivar; thus, they could be considered to be a criterion for similarity. A high content of total polyphenols in the Ruczaj, Polar, and Gaj cultivars could be a further factor when popularizing the cultivation of those cultivars.

Key words: blackberries, cultivar variability, ellagitannins, anthocyanins, flavan-3-ols 