

TOMASZ KRUPA, PIOTR LATOCHA

AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCA ORAZ ZAWARTOŚĆ WITAMINY C I ZWIĄZKÓW FENOLOWYCH W OWOCACH RÓŻNYCH GENOTYPÓW AKTINIDII (*ACTINIDIA* Lindl.)

Streszczenie

Materiał badawczy stanowiły owoce dwóch genotypów *Actinidia arguta* (L1, M1) i trzech mieszańców *A. arguta* × *A. purpurea* (D8, D11, D14). Jako materiał porównawczy użyto odmiany *A. arguta* ‘Ananasnaja’ (=‘Anna’), najpowszechniej uprawianej na świecie aktinidii ostrolistnej. Wszystkie rośliny uzyskano w programie hodowlanym SGGW, a owoce pochodziły z roślin uprawianych na polu doświadczalnym SGGW na Ursynowie w Warszawie. Badania prowadzono w latach 2005-2006. W owocach badanych genotypów oznaczono zawartość: witaminy C i polifenoli, a także określono aktywność przeciwutleniającą.

Uzyskane wyniki potwierdziły, że owoce aktinidii ostrolistnej są bogatym źródłem witaminy C, jednak jej zawartość zależy od indywidualnych cech genotypu. W owocach mieszańców *A. arguta* × *A. purpurea* stwierdzono większą zawartość witaminy C w porównaniu z genotypami *A. arguta*. Mieszańce D11 i D14 wykazały istotnie wyższą aktywność przeciwutleniającą, silnie skorelowaną z zawartością witaminy C. Charakteryzowały się też większą zawartością związków fenolowych niż owoce pozostałych badanych aktinidii.

Słowa kluczowe: *Actinidia arguta*, *Actinidia purpurea*, aktywność przeciwutleniająca, witamina C, DPPH, związki fenolowe

Wprowadzenie

Najbardziej znanymi gatunkami aktinidii są aktinidia smakowita (*Actinidia deliciosa* (A.Chev.) C.F.Liang et A.R.Ferguson) – zwana Kiwi oraz bardzo podobna do niej aktinidia chińska (*A. chinensis* Planch). W wielu placówkach naukowych na świecie prowadzone są badania, których celem jest wprowadzenie do uprawy także innych, mniej znanych gatunków aktinidii. Najważniejszym z nich jest aktinidia ostrolistna (*A. arguta* (Siebold et Zucc.) Planch. ex Miq.), nazywana w wielu krajach ‘mini kiwi’,

Dr inż. T. Krupa, Katedra Sadownictwa, dr inż. P. Latocha, Katedra Ochrony Środowiska, Wyzd. Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

'baby-kiwi' czy 'grape-kiwi'. Wyróżnia się niewielkimi owocami (mniej więcej wielkości orzecha włoskiego), o gładkiej, jadalnej skórce i ciekawym smaku przypominającym mieszankę owoców tropikalnych [7]. Ich pora dojrzewania przypada w Polsce na wrzesień/październik. Gatunek ten uprawiany jest na małą skalę na plantacjach towarowych w Nowej Zelandii, Kanadzie, USA, Chile i w Europie. Także w Polsce powstały już pierwsze, niewielkie plantacje. W SGGW, od 1996 roku, prowadzony jest program hodowlany, którego celem jest uzyskanie nowych odmian aktinidii, o cechach dostosowanych do polskich warunków klimatycznych. W ramach tego programu prowadzono hodowlę w obrębie dwóch gatunków *A. arguta* i *A. purpurea*, a ich wynikiem są obiecujące genotypy.

Owoce aktinidii są bogatym źródłem przeciwutleniaczy determinujących ich właściwości prozdrowotne. Wspomagają one naturalne mechanizmy obronne organizmu. Zawartość związków przeciwutleniających w owocach zależy od cech genetycznych gatunku i odmiany, jednak warunki środowiskowe mogą ją modyfikować. Owoce aktinidii są powszechnie uznawane za bogate źródło witaminy C. Ferguson i Ferguson [2] informują, że jej średnia zawartość w owocach odmian Harvard (*A. deliciosa*) i Hort 16A (*A. chinensis*) wynosi odpowiednio 85 i 100 mg/100 g ś.m., zaś Rassam i Laing [12] w swoich badaniach nad sześcioma odmianami *A. chinensis* oznaczyli jej zawartość w granicach od 98 do 163 mg/100 g ś.m. Podobnie wysoką zawartość witaminy C w owocach różnych gatunków aktinidii stwierdzili także Nishiyama i wsp. [8]. Uzyskane przez nich wyniki wskazują na podobny lub wyższy poziom tej witaminy w owocach *A. arguta* niż w *A. deliciosa* i *A. chinensis*. Owoce aktinidii charakteryzują się również wysokim poziomem aktywności przeciwutleniającej. Z badań Park i wsp. [10] wynika, że aktywność przeciwutleniająca, wyrażona jako skuteczność inhibicji rodników DPPH, owoców kiwi odmiany Hayward osiąga bezpośrednio po zbiorze 57,1%, a po 6 dniach dojrzewania i traktowania etylenem aż 81,3%. Na wysoką aktywność przeciwutleniającą *A. arguta* wskazują także Okamoto i Goto [9], którzy dowiedli, że owoce odmian uprawianych w Japonii mają większe właściwości przeciwutleniające (DPPH) niż kiwi czy jabłka.

Celem pracy było określenie właściwości przeciwutleniających owoców 6 genotypów aktinidii ostrolistnej i jej mieszańców w odniesieniu do zawartości w nich związków fenolowych i witaminy C.

Material i metody badań

Badania prowadzono w latach 2005 i 2006 na owocach 3 genotypów *A. arguta* – M1, L1 i 'Ananasnaja' (= 'Anna') oraz 3 mieszańcach *A. arguta* × *A. purpurea* – D8, D11 i D14. Wszystkie genotypy oznaczone numerami uzyskano w programie hodowlanym SGGW. Odmiana Ananasnaja jest obecnie najpowszechniej na świecie uprawianą odmianą tego gatunku [15] i z tego względu można ją uznać za standard. Od-

mianę tę sprowadzono do kolekcji roślin SGGW w 1994 r. ze Szwajcarii. Owoce wszystkich badanych genotypów zbierano w fazie dojrzałości konsumpcyjnej z dorosłych, w pełni owocujących krzewów rosnących na polu doświadczalnym SGGW na Ursynowie w Warszawie. Wszystkie analizy wykonywano w trzech powtórzeniach, każdorazowo z partii 0,5 kg owoców. Owoce przed wykonaniem analiz (1-2 dni) przechowywano w chłodziarce (5°C).

Analizę zawartości witaminy C prowadzono według Kalt i wsp. [4] z modyfikacjami. Uzyskaną w procesie ekstrakcji próbkę oczyszczano na filtry 0,45 µm Millex®-HV (Millipore). Analizę ilościową witaminy C prowadzono przy użyciu chromatografu cieczowego firmy PerkinElmer serii 200 z detektorem Diode Array Detektor (DAD). Rozdział prowadzono z zastosowaniem kolumny Symmetry C18, 5µ, 150 x 4,6 mm przy przepływie 0,8 ml/min. Temp. termostataowania kolumny wynosiła 25°C. Fazę ruchomą stanowiła mieszanina woda (A) : fosforan amonu (B) : kwas metafosforowy (C) w proporcjach 498,75 g (A) : 1,15 g (B) : 0,1 g (C).

Analizę jakościową i ilościową fenolokwasów i flawonoidów prowadzono techniką HPLC według zmodyfikowanej metody Gao i Mazza [3]. Homogenizat owocowy ekstrahowano 25 ml metanolu zakwaszonego 1 cm³ 36% HCl, następnie wirowano w wirówce Eppendorf 4250, a z klarownego przesącza odparowywano pod próżnią w temp. 40°C metanol. Pozostały osad rozcieńczano 5 ml metanolu. Analizę rozdziału i zawartości fenolokwasów wykonywano w zestawie HPLC firmy PerkinElmer serii 200 z detektorem Diode Array Detektor (DAD). Rozdział prowadzono z zastosowaniem kolumny Spheri-5 RP-18, 5µ, 220 x 4,6 mm przy przepływie 1 ml/min. Temp. termostataowania kolumny wynosiła 22°C. Fazę ruchomą stanowiła mieszanina woda (A) : kwas mrówkowy (B) : acetonitryl (C) o zmiennych parametrach gradientu A i C. Identyfikacje związków fenolowych dokonano na podstawie standardów.

Aktywność przeciwutleniającą owoców określono według metody Saint Criq de Gaulejac i wsp. [11] z użyciem syntetycznego rodnika DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyna, Sigma). Aktywność przeciwutleniającą obliczano na podstawie pomiarów absorbancji próby właściwej (ekstrakt z owoców + DPPH) wykonywanych po 10 min przy $\lambda = 517$ nm w stosunku do próby kontrolnej (metanol + DPPH). Wyniki wyrażano w przeliczeniu na ekwiwalent Troloxu (µmol Troloxu/g).

Wyniki opracowano statystycznie metodą jednoczynnikowej analizy wariancji z wykorzystaniem programu statystycznego Statgraphics® Plus (StatPoint, Inc.). Do oceny istotności różnic między wartościami średnimi zastosowano test Tukey'a, przyjmując poziom istotności $\alpha = 0,05$. W badaniach zależności między aktywnością przeciwutleniającą a zawartością związków fenolowych i witaminy C stosowano metodę regresji liniowej prostej.

Wyniki i dyskusja

Wykazano, że owoce mieszańców *A. arguta* x *A. purpurea* są bogatym źródłem witaminy C. Największą jej zawartość stwierdzono w owocach mieszańca D11 (144,7 mg/100 g ś.m.). Dużą zawartość witaminy C oznaczono w owocach genotypów D14 i M1, a najmniej w genotypie L1 (33,7 mg/100 g ś.m.) (tab. 1). Znaczna zawartość witaminy C genotypów D11 i D14 była zapewne spowodowana czynnikiem genetycznym, choć mieszańcowe pochodzenie genotypów (*A. arguta* × *A. purpurea*) nie musi być jedynym czynnikiem decydującym o ilości tego składnika w owocach, co potwierdza mała zawartość tej witaminy w owocach genotypu D8. Chesoniene [1] oraz Skripczienko i Moroz [14] podają, że zawartość witaminy C w niektórych gatunkach aktinidii może wynosić nawet 1164 mg/100 g ś.m. (*A. kolomikta*), podczas gdy w najpopularniejszej odmianie kiwi Hayward (*A. deliciosa*) jej zawartość nie przekracza 85 mg/100 g ś.m. Nishiyama i wsp. [8] stwierdzili bardzo dużą zmienność zawartości witaminy C pomiędzy poszczególnymi genotypami *A. arguta*. Według autorów zależnie od ocenianego genotypu zawartość tego składnika wynosiła od 37 do 185 mg /100 g ś.m.

Tabela 1

Zawartość witaminy C i zidentyfikowanych związków fenolowych w owocach badanych genotypów aktinidii [mg/100 g ś.m.]

Contents of vitamin C and phenolic compounds identified in fruit of the analyzed genotypes of hardy kiwifruit [mg/100 g f.m.].

| Składnik Component | Genotyp / Genotype | | | | | |
|--|--------------------|---------|---------|---------|--------|------------|
| | D 8 | D 11 | D 14 | M1 | L1 | Ananasnaja |
| Witamina C Vitamin C | 49,5 b | 144,7 e | 84,4 d | 78,8 cd | 33,7 a | 67,4 c |
| Kwas p-hydroksybenzoesowy p-hydroxybenzoic acid | 0,77 a | 2,34 d | 1,93 c | 1,35 b | 0,83 a | 2,88 e |
| Kwas wanilinowy Vanilic acid | 0,79 a | 2,34 d | 0,89 a | 1,04 ab | 1,53 c | 1,25 b |
| Kwas chlorogenowy Chlorogenic acid | ni. | 2,99 b | 5,46 c | 0,77 a | 2,09 b | 8,28 d |
| L-epikatechina L-epicatechin | ni. | ni. | ni. | 1,09 b | ni. | 0,39 a |
| Kwas p-kumarowy p-cumaric acid | ni. | 1,52 b | ni. | ni. | ni. | 0,21 a |
| Kwas galusowy Galic acid | 6,33 a | 7,56 ab | 24,33 e | 11,99 c | 9,09 b | 17,26 d |
| Kwas benzoesowy Benzoic acid | 1,18 c | 1,16 c | 1,22 c | 0,45 a | 0,66 b | 1,28 c |

Objaśnienia / Explanatory notes:

ni. – nie zidentyfikowano / not identified; wartości średnie oznaczone taką samą literą w wierszach nie różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0,05$; Mean values denoted by the same letter in the lines do not differ statistically significant at $\alpha = 0.05$.

Poza witaminą C, właściwości przeciwutleniające wykazuje duża liczba związków z grupy polifenoli. W badanych owocach aktinidii ostrolistnej i jej mieszańcach zidentyfikowano kwas p-hydroksybenzoesowy, wanilinowy, chlorogenowy, p-kumarowy, galusowy, benzoesowy oraz L-epikatechinę, a ich występowanie warunkowane było głównie czynnikiem genetycznym (tab. 1). Zawartość tych związków w owocach poszczególnych genotypów ulegała dużym wahaniom, stąd można podjąć się określenia występujących tendencji. Ogólnie, mieszańce D11 i D14 charakteryzowały się większą zawartością fenolokwasów niż pozostałe genotypy aktinidii. Należy jednak zwrócić uwagę, że odmiana Ananasnaja charakteryzowała się równie wysoką zawartością tych składników i jako jedyna zawierała wszystkie zidentyfikowane związki. Wstępne badania Latochy i Olszewskiej-Kaczyńskiej [6] wykazały, że ogólna zawartość flawonoidów w owocach *A. arguta* może wynosić 20-30 mg/100 g suchej masy.

Tabela 2

Współczynniki korelacji liniowej (r) między aktywnością przeciwutleniającą (DPPH) a zawartością witaminy C i zawartością związków fenolowych.

Coefficients of the (r) linear correlation between the antioxidant activity (DPPH) and the contents of vitamin C and phenolic compounds.

| Parametr Parameter | Witamina C Vitamin C | Kwas p- hydroksybenzoesowy p-hydroxybenzoic acid | Kwas wani- linowy Vanilic acid | Kwas chloro- genowy Chlorogenic acid | Kwas galusowy Galic acid | Kwas benzoesowy Benzoic acid |
|-----------------------|-------------------------|--|--------------------------------------|---|--------------------------------|------------------------------------|
| DPPH | 0,91** | 0,43 | 0,49* | -0,09 | 0,20 | 0,29 |

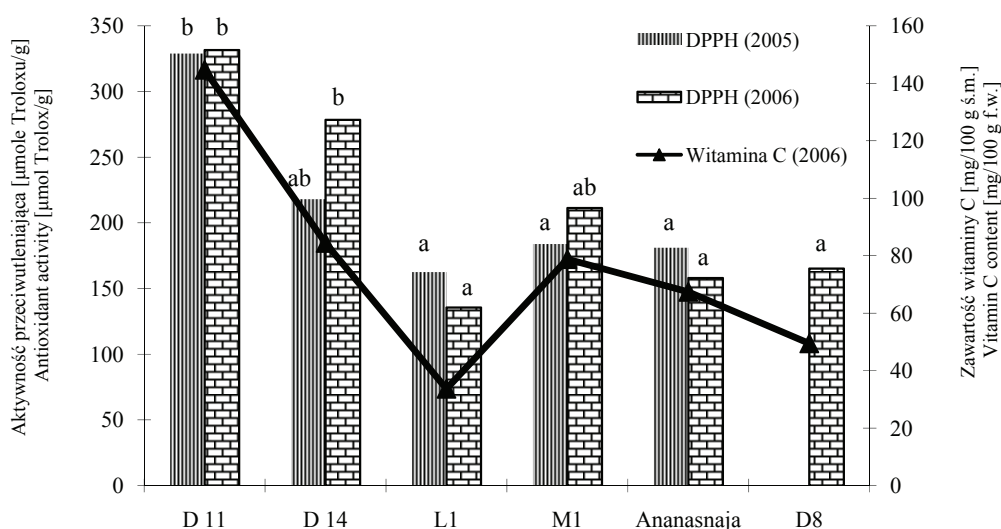
Objaśnienia: / Explanatory notes:

n = 18; *- $r_{0,05} = 0,47$; ** - $r_{0,01} = 0,59$

Aktywność przeciwutleniająca owoców na ogół jest związana z zawartością polifenoli, co potwierdzają badania Velioglu i wsp. [16]. Również Krupa i Tomala [5] uzyskali wysoki współczynnik korelacji pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą, a zawartością polifenoli w owocach borówki wysokiej. W doświadczeniu stwierdzono, że aktywność przeciwutleniająca, wyrażana jako ekwiwalent Troloxu na 1 g owoców istotnie zależała od odmiany i genotypu (rys. 1). Analiza statystyczna wyników wykazała istotnie wyższą aktywność przeciwutleniającą owoców aktinidii uzyskanych w wyniku prac hodowlanych w SGGW (D11 i D14) niż odmiany Ananasnaja. W obu sezonach genotypy L1 i 'Ananasnaja' (*A. arguta*) charakteryzowały się prawie 2-krotnie niższą aktywnością przeciwutleniającą niż genotypy D11 i D14 (*A. arguta* × *A. purpurea*). W kształtowaniu właściwości przeciwutleniających ważną rolę odgrywają nie tylko związki fenolowe, ale i witamina C. Najwyższa zmierzona aktywność prze-

ciwutleniającą genotypu D11 najprawdopodobniej związana była z większą o 50% zawartością witaminy C w owocach od pozostałych badanych genotypów, a najmniejsza zawartość witaminy C w genotypie L1 zapewne wpłynęła na niską aktywność przeciwutleniającą owoców tej odmiany.

Aktywność wszystkich badanych genotypów była dodatnio skorelowana z zawartością witaminy C ($r = 0,91$) i zawartością kwasu wanilinowego ($r = 0,49$), co może oznaczać, że przede wszystkim witamina C decydowała o aktywności przeciwutleniającej badanych owoców aktinidii (tab. 2).



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartości średnie oznaczone taką samą literą, oddzielnie z każdego roku badań, nie różnią się statystycznie istotnie przy $\alpha = 0,05$ / mean values denoted by the same letter, separately for each year of the research conducted, do not differ statistically significant at $\alpha = 0.05$.

Rys. 1. Aktywność przeciwutleniająca i zawartość witaminy C w owocach aktinidii ostrolistnej.

Fig. 1. Antioxidant activity and content of vitamin C in hardy kiwifruit.

Wnioski

1. W owocach aktinidii, mieszańców D11 i D14 (*A. arguta* x *A. purpurea*) uzyskanych w programie hodowlanym SGGW, stwierdzono występowanie znacznych zawartości witaminy C.
2. Owoce mieszańców aktinidii ostrolistnej i purpurowej wykazują wysoką aktywność wiązania wolnych rodników DPPH, wynikającą przede wszystkim z wysokiej zawartości witaminy C.

3. Najwyższą aktywnością przeciwutleniającą, oznaczoną metodą z rodnikiem DPPH, charakteryzowały się owoce aktinidii genotypów D11 i D14, a najniższą L1.

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

Literatura

- [1] Chesoniene L.: Comparison of some biological features and fruiting potential of *Actinidia kolomikta* cultivars. *Acta Hort.*, 2000, **538**, 769-774.
- [2] Ferguson A.R., Ferguson L.R.: Are kiwifruit really good for you? *Acta Hort.*, 2003, **610**, 132-138.
- [3] Gao L., Mazza G.: Quantitation and distribution of simple and acylated anthocyanins and other phenolic in blueberries. *J. Food Sci.*, 1994, **57**, 1057-1059.
- [4] Kalt W., Forney C.F., Martin A., Prior R.L.: Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruit. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 4638-4644.
- [5] Krupa T., Tomala K.: Zmiany ilościowe związków przeciwutleniających w jagodach borówki wysokiej 'Bluecrop' podczas ich przechowywania. *Zesz. Nauk. ISiK.*, 2004, **12**, 237-243.
- [6] Latocha P., Olszewska-Kaczynska I.: Preliminary morphological, chemical and sensory analyses of fruit of different actinidia genotypes (*Actinidia* Lindl.). *Annals Warsaw Agricultural University – SGGW, Horticulture, Landscape Architecture*, 2003, **24**, 51-57.
- [7] Matich A. J., Young H., Allen J.M., Wang M.Y., Fielder S., Mc Neilage M., Mac Rae E.A.: *Actinidia arguta*: volatile compounds in fruit and flowers. *Phytochemistry* 2003, **63**, 285-301.
- [8] Nishiyama I., Yamashita Y., Yamanaka M., Shimohashi A., Fukuda T., Oota T.: Varietal difference in vitamin C content in the fruit of kiwifruit and other *Actinidia* species. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **452 (17)**, 5472-5475.
- [9] Okamoto G., Goto S.: Juice Constituents in *Actinidia arguta* Fruits Produced in Shinjo, Okayama Scientific Reports of the Faculty of Agriculture Okayama University 2005, **94**, 9-13.
- [10] Park Y.S., Jung S.T., Gorinstein S.: Ethylene treatment of 'Hayward' kiwifruits (*Actinidia deliciosa*) during ripening and its influence on ethylene biosynthesis and antioxidant activity. *Scientia Horticulturae*, 2006, **108**, 22-28.
- [11] Park Y.S., Jung S.T., Kang S.G., Drzewiecki J., Namiesnik J., Haruenkit R., Barasch D., Trakhtenberg S., Gorinstein S.: *In vitro* studies of polyphenols, antioxidants and other dietary indices in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Inter. J. Food Sci. Nutr.*, 2006, **57 (1/2)**, 107-122.
- [12] Rassam M., Laing W.: Variation in ascorbic acid and oxalate levels in the fruit of *Actinidia chinensis* tissues and genotypes. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 2322-2326.
- [13] Saint Crieg de Gaulejac N., Provost C., Viras N.: Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47 (2)**, 425-431.
- [14] Skripczenko I.W., Moroz P.A.: Aktinidia (sorty, wyroszczenia, rozmnożenia). *Nacjonalnyj Botaniczeskij Sad im. M.M. Griszka, NAN Ukrainy, Kijew* 2002.
- [15] Strik B.C., Hummer.: 'Ananasnaya' Hardy Kiwifruit. *J. Am. Pom. Soc.* 2006, **60 (3)**, 106-112.
- [16] Velioglu Y.S., Mazza G., Gao L., Oomah B.D.: Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 4113-4117.

**ANTIOXIDANT ACTIVITY AND CONTENTS OF VITAMIN C AND PHENOLIC
COMPOUNDS IN FRUIT OF VARIOUS HARDY KIWIFRUIT (*ACTINIDIA* Lindl.)
GENOTYPES**

S u m m a r y

The research material constituted fruit of two genotypes of *A. arguta* (L1, M1) and of three hybrid genotypes of *A. arguta* × *A. purpurea* (D8, D11, D14). The material for comparison was an 'Ananasnaja' (= 'Anna') cultivar known as the most commonly cultivated hardy kiwifruit throughout the world. All the plants were obtained under a special plant growing programme at the SGGW University in Warsaw, and the fruit came from plants grown at the SGGW experimental field station in Ursynów in Warsaw. The research was carried out during 2005 and 2006. The contents of vitamin C and polyphenols were determined in the fruit of the genotypes under research, as was the antioxidant activity.

The results obtained confirmed the fruit of *A. arguta* to be a rich source of vitamin C, however, its content depended on individual features of the genotype. It was found that the content of vitamin C was higher in the fruit of hybrid genotypes of *A. arguta* × *A. purpurea* if compared with the genotypes of *A. arguta*. The hybrid genotypes of D11 and D14 showed a significantly higher antioxidant activity that was correlated with the content of vitamin C. They were also characterized by a higher content of phenolic compounds than the fruit of other *Actinidia* species studied.

Key words: *Actinidia arguta*, *Actinidia purpurea*, antioxidant activity, vitamin C, DPPH, phenolic compounds 