

Aleksandra Wilczyńska

OZNACZANIE ZAWARTOŚCI FLAWONOIDÓW I FENOLOKWASÓW W ODMIANOWYCH MIODACH PSZCZELICH

Katedra Towaroznawstwa i Zarządzania Jakością, Akademia Morska w Gdyni

Kierownik: prof. dr hab. inż. *P. Przybyłowski*

Celem niniejszej pracy było określenie profili polifenolowych miodów pszczelich zaliczanych do różnych odmian. Badania wykazały, iż wszystkie miody zawierają w różnych ilościach zarówno fenolokwasy, jak i flawonoidy, przy czym najczęściej występują: kwas p-hydroksybenzoesowy, syringowy, p-kumarowy i ferulowy. Nie zaobserwowano istotnej zależności pomiędzy pochodzeniem botanicznym próbek a występowaniem poszczególnych polifenoli.

Hasła kluczowe: miód pszczeli, zawartość polifenoli, fenolokwasy, flawonoidy
Key words: honey, phenolics content, phenolic acids, flavonoids

Właściwości profilaktyczne i prozdrowotne miodów pszczelich wykorzystywane są przez człowieka od tysięcy lat. Miód stosowany jest jako środek wspomagający leczenie wielu chorób, działa przeciwzapalnie, bakteriobójczo oraz bakteriostatycznie, przyspiesza gojenie ran i owrzodzeń, jest zalecany ludziom starszym, dzieciom, rekonwalescentom jako czynnik regenerujący, jest źródłem łatwo przyswajalnej energii, a także łagodzi stres (1-4).

Czynnikami decydującymi o tych właściwościach są między innymi związki o działaniu przeciwutleniającym. W miodach występują niektóre enzymy (oksydaza, katalaza) oraz witaminy (kwas askorbinowy, karotenoidy, tokoferole). O aktywności antyoksydacyjnej miodów w największym stopniu decydują jednak związki fenolowe: fenolokwasy i flawonoidy (5,6). Zawartość tych związków zależy przede wszystkim od pochodzenia botanicznego miodu oraz od czynników środowiskowych i klimatycznych (7-10). Celem niniejszej pracy było oznaczenie i identyfikacja związków fenolowych w miodach pszczelich, zaliczanych do różnych odmian.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły 43 próbki miodów różnych odmian pochodzących ze zbiorów w 2010 r., pozyskanych bezpośrednio od pszczelarzy. Tożsamość odmianową analizowanych próbek potwierdzono za pomocą analizy pyłkowej. Zawartość kwasów fenolowych i flawonoidów oznaczono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detektorem DAD. Próbki do oznaczeń

przygotowywano zgodnie z procedurą zaproponowaną przez Yao i wsp. (11). Analiza statystyczna obejmowała obliczenie podstawowych miar: wartości średniej i odchylenia standardowego. W celu określenia wpływu odmiany miodu na zawartość poszczególnych związków fenolowych, przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA. W przypadku niespełnienia założeń do analizy wariancji, stosowano test *Kruskala-Wallis*a. Wszystkie obliczenia wykonano przy użyciu programu Statistica 10.0 (Statsoft Inc.). Hipotezy statystyczne weryfikowano na poziomie istotności $\alpha=0,05$.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wyniki przeprowadzonych analiz zaprezentowano w tabeli I. We wszystkich próbkach zidentyfikowano w różnych ilościach fenolokwasów: p-hydroksybenzoesowy, syringowy, ferulowy i p-kumarowy, natomiast tylko w niektórych miodach występowały kwas wanilinowy (w 93% próbek), kawowy (w 27% próbek), benzoesowy (w 83% próbek) i cynamonowy (w 60% próbek). W największych ilościach występowały kwasy benzoesowy i p-hydroksybenzoesowy (średnio $5,12\pm 7,65$ i $3,01\pm 4,43$ mg/kg). Łączna zawartość fenolokwasów w poszczególnych próbkach wyniosła od 0,45 do 47,87 mg/kg, średnio $7,87\pm 7,43$ mg/kg. Najwięcej fenolokwasów łącznie występowało w miodach wrosowych, wielokwiatowych i gryczanych, średnie zawartości w tych odmianach wyniosły odpowiednio $12,86\pm 0,00$, $12,12\pm 15,69$ i $9,14\pm 3,90$ mg/kg, najmniej zaś w nawłociowych – $5,11\pm 1,38$ mg/kg.

Analiza statystyczna wykazała, iż pochodzenie botaniczne wpływa na zawartość kwasów: p-hydroksybenzoesowego (test *Kruskala-Wallis*a, $H=20,98$, $p=0,072$), p-kumarowego (test ANOVA I, $F=4,28$, $p=0,01$) i ferulowego (test *Kruskala-Wallis*a, $H=18,54$, $p=0,0175$). Odmiana nie ma istotnego wpływu na zawartość innych fenolokwasów oraz na łączną ilość wszystkich kwasów fenolowych.

W zdecydowanie mniejszych ilościach występowały w badanych miodach flawonoidy, łączna ich ilość wahała się w granicach 0,14-29,94 mg/kg, średnio $4,17\pm 7,71$ mg/kg. Najczęściej identyfikowanymi flawonoidami były chryzyna (w 83% próbek, średnio $0,38\pm 0,49$ mg/kg), kwercetyna (w 63% próbek, średnio $5,28\pm 9,09$ mg/kg), kempferol (w 63% próbek, średnio $0,50\pm 0,69$ mg/kg) oraz apigenina (w 49% próbek, średnio $0,39\pm 0,29$ mg/kg). W żadnej z analizowanych próbek nie wykryto hesperytyny, myricetyny i luteoliny. Najwięcej flawonoidów łącznie zawierały miody nektarowo-spadziowe (średnio $10,2\pm 10,19$ mg/kg) i faceliowe (średnio $9,5\pm 10,19$ mg/kg), najmniej zaś spadziowe (średnio $0,46\pm 10,19$ mg/kg). Nie zaobserwowano istotnej zależności pomiędzy zawartością poszczególnych flawonoidów a botanicznym pochodzeniem próbek miodów.

Ze względu na niewielką liczbę danych literaturowych dotyczących zawartości związków fenolowych w polskich miodach odmianowych weryfikacja uzyskanych wyników jest praktycznie niemożliwa. Zgodnie z doniesieniem *Michalkiewicz i in.* (12) dominującym fenolokwasem w polskich miodach jest kwas p-hydroksybenzoesowy, w nieco mniejszych ilościach występują kwasy: kawowy, wanilinowy i syryn-

Tabela 1. Średnia zawartość związków fenolowych w miodach różnych odmian [mg/kg]
 Table 1. Average phenolics content in different types of honey [mg/kg]

Odmiana (n)	miara	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
NW (1)	Średnia	2,47	0,00	1,67	0,28	3,78	2,94	5,73	0,41	0,91	0,72	0,33	0,14
	±SD	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
NR (11)	Średnia	0,80	0,00	1,27	0,58	2,12	0,64	3,42	0,08	0,69	0,28	0,85	0,39
	±SD	0,37	0,00	0,88	0,74	2,23	0,28	1,69	0,07	0,38	0,18	1,10	0,25
NN (3)	Średnia	1,22	0,00	1,26	0,25	2,44	2,06	0,93	0,03	0,56	0,42	0,19	0,16
	±SD	0,09	0,00	0,21	0,04	0,67	0,83	0,16	0,00	0,00	0,11	0,09	0,02
NKw (8)	Średnia	1,86	0,24	0,88	0,41	1,29	0,89	13,14	0,17	8,75	0,50	0,50	0,24
	±SD	2,39	0,03	0,48	0,35	0,64	0,48	16,93	0,07	13,92	0,36	0,54	0,14
NL (2)	Średnia	0,75	0,14	0,65	0,21	1,02	0,42	11,12	0,26	1,68	0,00	0,41	0,57
	±SD	0,03	0,00	0,31	0,02	0,27	0,06	0,00	0,20	0,37	0,00	0,00	0,00
NS (3)	Średnia	2,20	0,00	1,89	0,60	2,23	1,35	4,11	0,11	13,73	0,76	0,30	0,36
	±SD	1,08	0,00	0,11	0,29	0,99	0,56	2,34	0,09	17,81	0,57	0,01	0,11
SI (3)	Średnia	1,11	0,00	1,28	0,28	1,98	1,12	3,40	0,14	0,00	0,18	0,12	0,17
	±SD	0,67	0,00	0,00	0,00	1,22	0,70	1,53	0,14	0,00	0,19	0,12	0,10
NG (5)	Średnia	12,99	0,48	1,63	0,58	6,20	1,02	2,19	0,29	2,33	0,41	0,41	0,97
	±SD	3,81	0,26	0,99	0,10	2,06	0,64	1,37	0,40	1,64	0,10	0,00	1,44
NF (7)	Średnia	3,33	0,55	1,08	1,21	2,90	0,45	3,57	0,09	8,86	0,24	0,41	0,40
	±SD	4,59	0,14	0,30	1,83	1,50	0,18	2,23	0,07	11,03	0,17	0,29	0,22
ogółem	Średnia	3,01	0,43	1,23	0,57	2,57	0,93	5,12	0,16	5,29	0,39	0,50	0,38
	±SD	4,43	0,21	0,66	0,81	2,06	0,67	7,65	0,16	9,09	0,27	0,69	0,49

n-liczna prób, 1- kwas p-hydroksybenzoesowy, 2 – kwas kawowy, 3- kwas wanilinowy, 4 – kwas syryngowy, 5 – kwas p-kumarowy, 6 – kwas ferulowy, 7 – kwas benzoesowy, 8 – kwas cynamonowy, 9- kwercetyna, 10- apigenina, 11- kempferol, 12 – chryzyna; NW- miód wrzosewy, NL- miód lipowy, NS – miód nektarowo-spadzziowy, NKw – miód wielokwiatowy, NG – miód gryczany, SI- miód spadziowy ze spadzi iglastej, NF – miód faceliowy, NN – miód nawłociowy, NR – miód rzepakowy.

gowy, natomiast flawonoidem występującym w największych ilościach w miodach jest rutyna (1,6-5 mg/kg), nieco mniej jest w nich kwercetyny i kempferolu.

Z kolei wg *Świetlikowskiej i in.* (13) czynnikiem różnicującym zawartość poszczególnych fenolokwasów jest pochodzenie: miody pochodzące z produkcji konwencjonalnej zawierają istotnie więcej kwasów: ferulowego, kawowego i galusowego, niż miody ekologiczne. Z kolei te drugie są bardziej zasobne w kwasy synapinowy i cynamonowy. Spośród badanych przez nich odmian miodów na uwagę zasługuje miód leśny, zawierający wszystkie analizowane fenolokwasy. Z kolei zawartość flawonoidów, w zależności od pochodzenia, może wahać się w granicach od niespełna jednego do 17 mg/kg. Miody ekologiczne, w porównaniu z miodami konwencjonalnymi, zawierają więcej myricetyny, luteoliny i naringeniny. Pochodzenie botaniczne również przyczynia się do zróżnicowania zawartości flawonoidów – miód leśny zawiera istotnie więcej rutyny, z kolei miód gryczany – kempferolu, a wrzosowy istotnie więcej myricetyny, naringeniny i luteoliny. W odniesieniu do tych danych wyniki uzyskane w niniejszej pracy można uznać za miarodajne.

Weryfikacja hipotez statystycznych o równości średnich zawartości poszczególnych związków fenolowych wykazała, iż jedynie zawartość kwasów: p-hydroksybenzoesowego, ferulowego i p-kumarowego zależy od pochodzenia botanicznego miodów. Spośród badanych odmian miodów największą zawartością kwasów p-hydroksybenzoesowego i p-kumarowego wyróżnił się miód gryczany, zaś miody wrzosowe i nawłociowe zawierały kilkakrotnie więcej kwasu ferulowego, niż miody innych odmian. Jednakże miód wrzosowy zawierał też znaczne ilości innych fenolokwasów, m.in. benzoowego i p-kumarowego. Nie ma więc podstaw, aby jednoznacznie wskazać tzw. wskaźnikowe związki fenolowe, których występowanie jest charakterystyczne tylko i wyłącznie dla jednej odmiany. Można jedynie stwierdzić, iż miody gryczane i wrzosowe odróżniają się od pozostałych pod względem zawartości fenolokwasów.

WNIOSKI

1. W niniejszej pracy wykazano, iż miody różnych odmian różnią się między sobą zawartością poszczególnych fenolokwasów i flawonoidów, jednakże nie stwierdzono występowania tzw. polifenoli wskaźnikowych, charakterystycznych dla poszczególnych odmian.

2. Najczęściej i w największych ilościach występują fenolokwasy: kwas p-hydroksybenzoesowy, syryngowy, p-kumarowy i ferulowy.

A. Wilczyńska

EVALUATION OF PHENOLICS CONTENT IN DIFFERENT TYPES OF HONEYS

Summary

The healing properties of honey are known and used from ancient times. Honey is a source of energy and works in antimicrobial, antioxidant and wound healing way. As generally recognized flavonoids and phenolic acids are the most important components of honey related to its antioxidant power. This work presents the results of evaluation and identification the phenolics content in 43 samples of different types of honey. The results showed, that content of particular phenolics vary widely among different honey types, however these differences are statistically insignificant.

PIŚMIENICTWO:

1. *Molan P.C.*: The antibacterial activity of honey: 1. The nature of the antibacterial activity. *Bee World*, 1992; 73(1): 5-28. – 2. *Molan P.C.*: The antibacterial activity of honey: 2. Variation in the potency of the antibacterial activity. *Bee World*, 1992; 73(2): 59-76. – 3. *Taomina P.J., Niemira B.A., Beuchat L.R.*: Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001; 69(3): 217-225. – 4. *Bogdanow S.*: Nature and origin of the antibacterial substances in honey. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol*, 1997; 30: 748-753. – 5. *Frankel S., Robinson G.E., Berenbaum M.R.*: Antioxidant capacity and correlated characteristic of 14 unifloral honeys. *J. Apicultural Res.*, 1998; 37(1): 27-31. – 6. *Chen L., Mehta A., Berenbaum M., Zangerl A.R., Engeseth N.J.*: Honeys from different floral sources as inhibitors of enzymatic browning in fruit homogenates. *J. Agric. Food Chem.*, 2000; 48: 4997-5000. – 7. *Gheldof N., Wang X.H., Engeseth N.J.*: Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *J. Agric. Food Chem.*, 2002; 50(21): 5870-5877. – 8. *Turkmen N., Sari F., Poyrazoglu E.S., Velioglu S.*: Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. *Food Chem.*, 2006; 959(4): 653-657. – 9. *Aljadi A.M., Kamaruddin M.Y.*: Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chem.*, 2004; 85(4): 513-518 – 10. *Al-Mamary M., Al-Meeri A., Al-Habibi M.*: Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutr. Res.*, 2002; 22(9): 1041-1047.
11. *Yao L., Datta N., Tomas-Barberan, F.A., Ferreres, F., Martos, I., Singanusong, R.*: Flavonoids, phenolic acids and abscisic acid in Australian and New Zealand *Leptospermum* honeys. *Food Chem.*, 2003; 81(2): 159-168. – 12. *Michalkiewicz, A., Biesaga, M., Pyrzyńska, K.*: Solid-phase extraction procedure for determination of phenolic acids and some flavonols in honey. *J. Chrom. A*, 2008; 1187(1-2): 18-24. – 13. *Świetlikowska, K., Hallmann, E., Długolecka, K., Rembalkowska, E.*: Ocena wartości odżywczej i sensorycznej wybranych miodów pochodzących z produkcji ekologicznej i konwencjonalnej. *J. Res. Applic. Agric. Eng.*, 2011; 56(4): 161-164.

Adres: 81-225 Gdynia, ul. Morska 81-87