

Wstępna ocena ekstraktów owoców i pędów *Actinidia arguta* za pomocą profilowania TLC

Preliminary evaluation of fruit and shoot extracts of *Actinidia arguta* using TLC profiling

Anna Kondej✉

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy

✉a.kondej@ihar.edu.pl

Owoce od wieków są nieodłącznym elementem diety człowieka. Jednym z bardzo popularnych owoców o wyjątkowym, aromatycznym smaku, zawierającym wiele składników odżywczych jest owoc *Actinidia*, popularnie zwany owocem kiwi. Do rodzaju *Actinidia* należy wiele gatunków, część z nich jest od wielu lat dostępna handlowo, a niektóre są nowym owocem na rynku. Przykładem takiego gatunku jest *Actinidia arguta* (Siebold et Zucc.) Planch. ex. Miq. (tzw. minikiwi), który wyróżnia się względnie małym (około 5 cm długości), w porównaniu do owoców gatunku *Actinidia chinensis* rozmiarem owoców oraz możliwością spożywania ich wraz ze skórką. *A. arguta* jest jednym z najbogatszych źródeł wielu związków biologicznie aktywnych, które pozytywnie wpływają na ludzki organizm; są to m.in. witamina C, witaminy z grupy B i związki fenolowe (flawonoidy oraz kwasy fenolowe). W celu oceny składu chemicznego rośliny *A. arguta* zbadano części zielone tej rośliny oraz jej owoce, metodami chromatografii cienkowarstwowej. W badaniu zastosowano profilowanie chemiczne, które potwierdziło wysoką zawartość związków fenolowych oraz naturalnie występujących cukrów.

Słowa kluczowe: *Actinidia arguta*, Aktinidia, chromatografia cienkowarstwowa, profilowanie chemiczne, związki fenolowe

Fruits have been an integral part of the human diet for centuries. One very popular fruit, with a unique taste and containing many nutrients is the Actinidia fruit, commonly known as the kiwi fruit. The *Actinidia* genus includes many species, some of which have been commercially available for many years and some are new fruits on the market. An example of such a species is *Actinidia arguta* (Siebold et Zucc.) Planch. ex. Miq. (the so-called kiwiberry), which is distinguished by its relatively small fruit size (about 5 cm long) compared to the fruit of the species *Actinidia chinensis* and the possibility of eating it with the skin. The *A. arguta* is one of the largest sources of many biologically active compounds that positively affect the human body; these include vitamin C, B vitamins and phenolic compounds (flavonoids and phenolic acids). To evaluate the chemical composition of the *A. arguta* plant, the green parts of the plant and its fruits were examined by thin-layer chromatography methods. Chemical profiling was used to confirm the high content of phenolic compounds and naturally occurring sugars.

Key words: *Actinidia arguta*, *Actinidia*, thin-layer chromatography, chemical profiling, phenolic compounds

Wstęp

We współczesnym świecie, w którym mimo postępu cywilizacyjnego, ludziom nadal towarzyszą różne choroby, coraz więcej osób, chcąc zminimalizować ryzyko ich wystąpienia, decyduje się na prowadzenie tzw. „zdrowego stylu życia”. Pojęcie „zdrowego stylu życia” może być postrzegane na różne sposoby, gdyż składa się ono z wielu czynników, takich jak np. aktywność fizyczna, odpowiednia dieta, higiena snu i komfort psychiczny.

Odpowiednia dieta wiąże się ze świadomym doбором produktów. Z każdym rokiem rośnie świadomość ludzi i ich wiedza na temat żywienia. Szczególną uwagę przyciągają produkty pochodzenia naturalnego, a zwłaszcza te nieprzetworzone np. zboża, warzywa i owoce. Popularnymi owocami, zawierającymi wiele składników odżywczych są owoce actinidii.

Ze źródeł historycznych wiemy, że rośliny z rodzaju *Actinidia* od dawna były i są stosowane w Chińskiej Medycynie Ludowej (Tan i in.,

2021). Charakteryzuje je duża zawartość składników odżywczych, takich jak: błonnik pokarmowy, cukry, witamina C oraz witamina E, minerały, kwasy tłuszczowe omega-3 i przeciwutleniacze, które pozytywnie wpływają na zdrowie człowieka, a szczególnie na układ pokarmowy oraz sercowo-naczyniowy (Ma i in., 2017). Ponadto właściwości enzymatyczne kiwi sprzyjają poprawie kondycji układu pokarmowego poprzez wspomaganie trawienia. Mogą też służyć jako naturalne antyoksydanty, chroniące organizm przed utleniającymi czynnikami zewnętrznymi oraz jako dodatki do żywności (Tan i in., 2021).

Niektóre gatunki z rodzaju *Actinidia* są dobrze znane człowiekowi i spożywane od wielu lat, a inne są nowym owocem na rynku. Gatunkiem stosunkowo niedawno wprowadzonym na większą skalę jest *Actinidia arguta* (Aktinidia ostrolistna), należąca do sekcji *Leiocarpae* (Latocha, 2019). Owoce tego gatunku znane są w różnych krajach pod nazwą: kiwiberry, minikiwi, kiwi winogronowe, kiwi północne, kiwi młode lub jagody kiwi (Wojdyło, 2019). *A. arguta* pochodzi z Syberii,

Rosyjskiego Dalekiego Wschodu i krajów Azji Wschodniej (m.in. Chin). Spośród innych gatunków popularnie uprawianych (np. *A. chinensis*) wyróżnia się mniejszym rozmiarem owoców oraz możliwością spożywania ich wraz ze skórką. Dzięki tym cechom owoce *A. arguta* sprzedawane są w małych pojemnikach (zwykle 125g) i traktowane jako zdrowa przekąska „super snack” (Latocha, <https://www.clematis.com.pl/informacje-o-roslinach/eksperci-radza/dr-hab-piotr-latocha/971-towarowa-produkcja-owocow/>).

Ze względu na walory smakowe owoców *A. arguta*, ale przede wszystkim zawartość związków bioaktywnych (m.in. witaminy C, witamin z grupy B, związków fenolowych i naturalnie występujących cukrów) (Zhang i in., 2021) podjęto wstępne badania dotyczące porównania dwóch sposobów ekstrakcji poszczególnych składników z wysuszonych pędów oraz zliofilizowanych owoców tego gatunku. Materiał poddano także wstępnej, ogólnej ocenie dotyczącej obecności grup związków bioaktywnych. W przeprowadzonych badaniach wykorzystano chromatografię cienkowarstwową do profilowania chemicznego związków występujących w wyżej wymienionych częściach różnych odmian *A. arguta*.

Material i metody

Materiał badawczy stanowiły próbki pędów *in vivo* dwóch odmian *A. arguta* oraz dwie próbki owoców tych samych odmian *A. arguta*. Analizowane metodami chromatografii cienkowarstwowej (TLC), około 5-6-letnie, pędy zebrano w czerwcu i wysuszono w temperaturze pokojowej, w przewiewie, a następnie zmielono. Owoce, zebrane w październiku, w fazie dojrzałej, poddano kolejno mrożeniu i liofilizacji. Materiał został dostarczony przez firmę Clematis (<https://www.clematis.com.pl>). Badaniom poddano dwie odmiany żeńskie – *A. arguta* „Geneva” oraz *A. arguta* „Weiki”.

W celu ustalenia optymalnego czynnika ekstrakcyjnego, w buteleczkach z ciemnego szkła przygotowano po dwie naważki każdej z prób, po 0,5g. Do pierwszej części dodano 5ml roztworu metanol:woda (70:30 v/v) (4 próby), a do drugiej części 5ml metanolu (4 próby). Tak przygotowane roztwory umieszczono w ciemnym miejscu i macerowano przez 3 doby. Po zakończonym procesie maceracji próby przesączono w celu oddzielenia ekstraktu od próbki stałej. Przygotowane ekstrakty nanoszono na płytki pokryte żelazem krzemionkowym wykorzystując automatyczny aplikator Linomat 5, sterowany programem komputerowym winCATS wersja 1.4.2. (Camag, Muttenz, Szwajcaria). Do rozdzielania chromatograficznego wykorzystano poziome komory typu DS-L oraz typu DS-II -20 × 10 (Chromdes, Lublin, Polska). Fazą ruchomą wykorzystaną w prowadzonych badaniach była mieszanina: octan etylu:metanol:woda

(70:20:10 v/v/v). Zdjęcia wykonano z użyciem kamery wideo firmy Camag.

Do wykrycia określonych grup związków zastosowano metodę profilowania chemicznego, w której wykorzystano następujące odczynniki derywatywacyjne: odczynnik NP-PEG (NP – odczynnik będący naturalnym produktem, PEG – roztwór glikolu polietylenowego) oraz PABA (kwas p-aminobenzoowy). W celu pokrycia płytki odczynnikiem derywatywacyjnym użyto ręczny i automatyczny spryskiwacz do płytek TLC (Camag, Muttenz, Szwajcaria), w przypadku odczynnika PABA płytkę po derywatacji podgrzewano płytą grzewczą do płytek TLC (Camag, Muttenz, Szwajcaria).

Zastosowanie odczynnika NP-PEG pozwala na wykrycie związków fenolowych oraz związków należących do grupy chlorofili. Dzięki zróżnicowaniu kolorystycznemu plamek dokonujemy identyfikacji typu związku. Płytki zawierające rozwinięte chromatogramy spryskano ręcznie 1% roztworem NP i po wyschnięciu 5% roztworem PEG. Obrazy chromatogramów TLC uzyskano wykonując zdjęcia z podświetleniem lampą UV – długość fali 366 nm.

W celu detekcji cukrów i koniugatów cukrowych wykonano derywatację odczynnikiem PABA. Rozwinięte na płytkach chromatogramy spryskano odczynnikiem, a po wyschnięciu podgrzewano płytki na płycie grzewczej przez 5min w temperaturze 140°C. Obrazy chromatogramów TLC zarejestrowano z podświetleniem lampą UV – długość fali 366 nm.

Uzyskane wyniki nie były poddane analizie statystycznej. Oceny dokonano w sposób subiektywny, ujawnione poszczególne strefy na chromatogramach porównano pod względem wielkości oraz intensywności koloru.

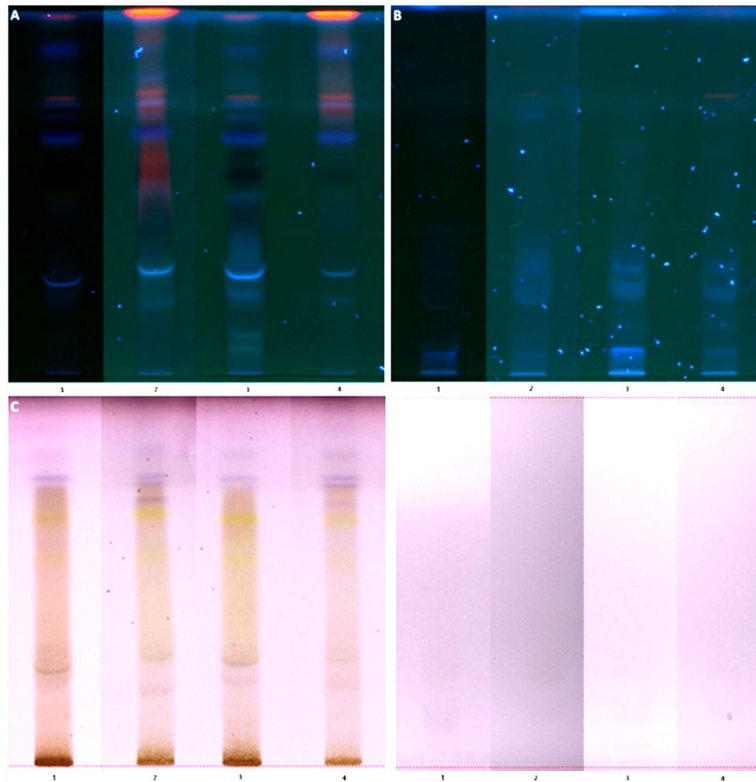
Wyniki i dyskusja

W celu porównania czynników ekstrahujących rozwinięto chromatogramy z ekstraktów dwóch odmian pędów *in vivo* oraz dwóch odmian owoców. Otrzymane chromatogramy, bez zastosowania odczynnika derywatywacyjnego, sfotografowano przy długości fali 366 nm dla pędów (Rys. 1A) i dla owoców (Rys. 1B) oraz w świetle widzialnym, dla pędów (Rys. 1C) i dla owoców (Rys. 1D). Na chromatogramach sporządzonych z ekstraktów pędów (Rys. 1A i 1C) zaobserwowano wiele plamek pojawiających się w szerokim zakresie. W przypadku próbek owoców na chromatogramach (Rys. 1B i 1D) uzyskano znacznie mniej plamek występujących w całym zakresie. Porównując uzyskane chromatogramy można stwierdzić, że ekstrakty pędów *in vivo* zawierały większą ilość różnego rodzaju związków chemicznych.

Na chromatogramach uzyskanych z ekstraktów pędów (Rys. 1A i 1C) materiał ekstrahowany roztworem metanol:woda (70:30 v/v) ujawnił pa-

sma o większej intensywności zabarwienia oraz o większej ilości plamek w porównaniu do materiału ekstrahowanego metanolem. W przypadku

prób owoców sposób ekstrakcji nie wpłynął istotnie na ilość obserwowanych plamek na chromatogramach (Rys. 1B i 1D).



Rys. 1. Chromatogramy TLC ekstraktów z pędów *in vivo* *Actinidia arguta* (A – długość fali 366 nm, C – światło widzialne) oraz z owoców *Actinidia arguta* (B – długość fali 366 nm, D – światło widzialne): 1 – „Geneva” (ekstrahowane metanol:woda 70:30 v/v), 2 – „Geneva” (ekstrahowane 100% metanolem), 3 – „Weiki” (ekstrahowane metanol:woda 70:30 v/v), 4 – „Weiki” (ekstrahowane 100% metanolem).

Fig. 1. TLC chromatograms of *in vivo* extracts from *Actinidia arguta* shoots (A – wavelength 366 nm, C – visible light) and *Actinidia arguta* fruits (B – wavelength 366 nm, D – visible light): 1 – „Geneva” (extracted methanol:water 70:30 v/v), 2 – „Geneva” (extracted with 100% methanol), 3 – „Weiki” (extracted methanol:water 70:30 v/v), 4 – „Weiki” (extracted with 100% methanol).

W przeprowadzonych badaniach wykonano również profilowanie chemiczne dla uzyskanych ekstraktów z pędów *in vivo* oraz z owoców *A. arguta*, wykorzystując w tym celu derywatyzację odczynnikami NP-PEG oraz PABA.

Test z zastosowaniem odczynnika NP-PEG

Otrzymane chromatogramy z ekstraktów pędów (Rys. 2A) oraz owoców (Rys. 2B) znacznie różniły się intensywnością kolorów plamek. Chromatogram sporządzony z ekstraktów pędów (Rys. 2A) posiadał szerokie, wyraźne dwie strefy – żółtą oraz niebieską. Według Choma i in. (2022), w opisanych powyżej warunkach derywatyzacji, zabarwienia żółte, niebieskie i czerwone odpowiadają występowaniu, odpowiednio: flawonoidów, kwasów fenolokarboksylowych, chlorofilów. Chromatogram sporządzony z ekstraktów owoców (Rys. 2B) zawierał strefy o względnie małej intensywności koloru, co najprawdopodobniej świadczy o niższej zawartości związków fenolowych i chlorofilów w owocach niż w pędach.

Porównując chromatogram z ekstraktów sporządzonych dla pędów (Rys. 2A) stwierdzono, że

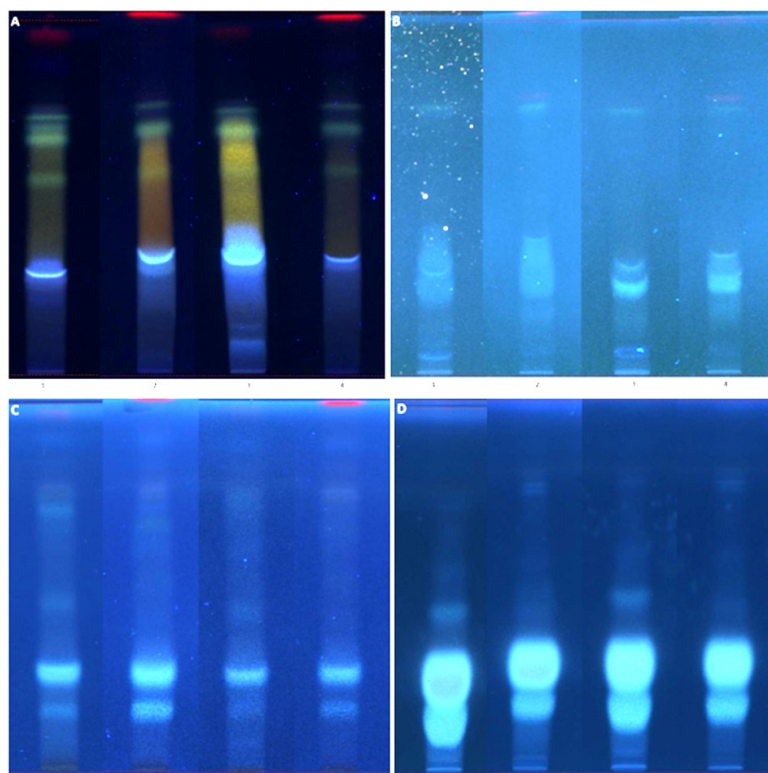
próbki ekstrahowane metanolem cechowały się bardziej intensywną czerwoną strefą w porównaniu do próbek ekstrahowanych roztworem metanol:woda (70:30 v/v), w przypadku stref żółtych i niebieskich różnica ta nie była zauważalna. Natomiast na chromatogramie z ekstraktów sporządzonych dla owoców (Rys. 2B) sposób ekstrakcji nie wpłynął na wielkość i intensywność poszczególnych stref. Próbki ekstrahowane roztworem metanol:woda (70:30 v/v) wykazały większą ilość wyodrębnionych stref w całym zakresie pasma.

Test z zastosowaniem odczynnika PABA

Zgodnie z danymi literaturowymi, obecność cukrów w badanym materiale ujawnia się w postaci jasno i intensywnie świecących stref (Szeremeta, 2019). Na chromatogramie sporządzonym z ekstraktów pędów (Rys. 2C) zaobserwowano jasno i intensywnie świecące podwójne strefy. Dla próbek ekstrahowanych metanolem strefy te były bardziej wyraźne. Próbki owoców na chromatogramie (Rys. 2D) wykazały znacznie bardziej intensywne i większe strefy niż te na chromatogramie uzyskanym z ekstraktów pędów

(Rys.2C). W przypadku owoców dla próbek ekstrahowanych roztworem metanol:woda 70:30 (v/v) strefy były wyraźniejsze i większe, a dodatko-

wo pojawiła się trzecia strefa, ale o mniejszej intensywności.



Rys. 2. Chromatogramy TLC wykonane przy UV 366 nm dla ekstraktów z pędów *in vivo* *Actinidia arguta* (A – derywatywacja NP-PEG, C – derywatywacja PABA) oraz z owoców *Actinidia arguta* (B – derywatywacja NP-PEG, D – derywatywacja PABA): 1 – „Geneva” (ekstrahowane metanol:woda 70:30 v/v), 2 – „Geneva” (ekstrahowane 100% metanolem), 3 – „Weiki” (ekstrahowane metanol:woda 70:30 v/v), 4 – „Weiki” (ekstrahowane 100% metanolem).

Fig. 2. TLC chromatograms made at UV 366 nm for *in vivo* extracts of *Actinidia arguta* shoots (A – NP-PEG derivatization, C – PABA derivatization) and *Actinidia arguta* fruits (B – NP-PEG derivatization, D – PABA derivatization): 1 – „Geneva” (extracted methanol:water 70:30 v/v), 2 – „Geneva” (extracted with 100% methanol), 3 – „Weiki” (extracted methanol:water 70:30 v/v), 4 – „Weiki” (extracted with 100% methanol).

Wnioski

- 1) W pędach *in vivo* występowały liczne typy związków chemicznych, spośród których dużą grupę mogą stanowić związki fenolowe.
- 2) Ekstrakty owoców minikiwi zawierały znaczne ilości związków fenolowych oraz cukrów.
- 3) Obecność związków fenolowych w analizowanych częściach minikiwi może świadczyć o właściwościach przeciwutleniających owoców i pędów *A. arguta*.
- 4) Pomiędzy profilami próbek ekstrahowanych czystym metanolem oraz ekstrahowanych mieszaniną metanol:woda nie zaobserwowano różnic. Jednak cukry, jako związki polarne lepiej ekstrahowały się mieszaniną

- 5) Przyszłe plany badawcze obejmują dalszą optymalizację metody profilowania chemicznego pod kątem zawartości związków bioaktywnych. Modyfikacje będą dotyczyły zwłaszcza fazy ruchomej.

Badania wykonane w ramach pracy magisterskiej na Uniwersytecie Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie w Katedrze Chromatografii pod kierunkiem dr hab. Ireny M. Chomy, prof. UMCS.

Składam podziękowania dla Pani prof. dr hab. Agnieszki Szopy (Uniwersytet Jagielloński, Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej) za przygotowanie i podarowanie materiału badawczego.

Literatura

Ma T., Sun X., Zhao J., You Y., Lei Y., Gao G., Zhan J., 2017, Nutrient compositions and antioxidant capacity of kiwifruit (*Actinidia*) and their relationship with flesh

color and commercial value, Food Chemistry, 218, 294-304.

- Tan C., Wang Z., Feng X., Irfan M., Changjiang L., 2021, Identification of bioactive compounds in leaves and fruits of *Actinidia arguta* accessions from northeastern China and assessment of their antioxidant activity with a radical-scavenging effect, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 35, 594-607.
- Wojdyło A., Nowicka P., 2019, Anticholinergic effects of *Actinidia arguta* fruits and their polyphenol content determined by liquid chromatography-photodiode array detectorquadrupole/time of flight-mass spectrometry (LC-MS-PDA-Q/TOF), *Food Chemistry*, 271, 216-223.
- Latocha P., 2019, Aktinidia ostrolistna – wartościowy gatunek o dużych walorach ozdobnych i potencjale produkcyjnym, *Rocznik Polskiego Towarzystwa Dendrologicznego*, 67, 61-68.
- Latocha P., Mini kiwi – towarowa produkcja owoców [dokument WWW]. Adres URL <https://www.clematis.com.pl/informacje-o-roslinach/eksperci-radza/dr-hab-piotr-latocha/971-towarowa-produkcja-owocow/>
- Zhang J., Tian J., Gao N., Gong E. S., Xin G., Liu C., Si X., Sun X., Li B., 2021, Assessment of the phytochemical profile and antioxidant activities of eight kiwi berry *Actinidia arguta* (Siebold & Zuccarini) Miquel varieties in China, *Food Science & Nutrition*, 20, 5616-5618.
- Choma I. M., Nikolaichuk H., 2022, TLC bioprofiling – a tool for quality evaluation of medicinal plants w „Evidence-Based Validation of Herbal Medicine” wydanie drugie, edytor Pułok K. Mukherjee, wydawnictwo Elsevier, 16, 407-422.
- Szeremeta D., 2019, Skład chemiczny rośliny leczniczej *Cistus incanus* L. (czystek szary) a jej wybrane właściwości biologiczne, Praca doktorska Uniwersytet Śląski, 6-7.