

*Justyna Dobrowolska-Iwanek, Joanna Chłopiccka, Dominika Grabka*

## KWASY ORGANICZNE OBECNE W KIEŁKACH GROCHU

Zakład Bromatologii, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum  
Kierownik: dr hab. P. Zagrodzki

*W pracy przedstawiono wyniki badań, których celem było wyznaczenie profilu i stężenia kwasów organicznych w poszczególnych częściach kiełków grochu. Oznaczenia przeprowadzono z wykorzystaniem izotachoforezy kapilarnej z detekcją konduktometryczną.*

Hasła kluczowe: kiełki grochu, kwasy organiczne  
Keywords: pea sprouts, organic acids

Kiełki roślin w odpowiednim stadium rozwoju, spożywane na surowo stanowią bogate źródło podstawowych składników diety człowieka, takich jak: aminokwasy, składniki mineralne, witaminy, błonnik czy nienasycone kwasy tłuszczowe. Ponadto, zawierają one związki o charakterze polifenoli, które posiadają właściwości antyoksydacyjne (1).

W literaturze przedmiotu można znaleźć stosunkowo niewiele informacji dotyczących profilu i stężenia kwasów organicznych w kiełkach roślin. Składniki te mogą korzystnie wpływać na organizm człowieka (2), np. poprzez chelatowanie jonów metali o właściwościach prooksydacyjnych (np. kwas cytrynowy, kwas jabłkowy), ale z drugiej strony mogą przyczyniać się do tworzenia trudno rozpuszczalnych soli kwasów organicznych, np. szczawianu wapnia, co może sprzyjać rozwojowi kamicy nerkowej.

Celem pracy było wyznaczenie profilu i stężenia zidentyfikowanych kwasów organicznych w poszczególnych częściach kiełków grochu.

### MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły kiełki grochu zwyczajnego, wyhodowane z ziaren do kiełkowania. Badaniu poddano również ziarna grochu. Zbioru materiału badawczego dokonano w 5 i 7 dniu hodowli. W kolejnym etapie, kiełki zostały podzielone na następujące części: ziarna, łuski, korzonki oraz zielone i zielono-żółte części kiełków. Ekstrakcję kwasów organicznych przeprowadzono trzykrotnie z tego samego materiału (0,5 g), wykorzystując jako rozpuszczalnik 5 ml 0,01 M NaOH i wytrząsając każdorazowo próbkę wraz z roztworem zasady przez 20 min.

Rozdzielenie i oznaczenie kwasów organicznych w poszczególnych próbkach przeprowadzono z wykorzystaniem izotachoforezy kapilarnej z detekcją kondukto-

metryczną. Zawartość poszczególnych kwasów organicznych w każdej próbce została oznaczona trzykrotnie. Analizę statystyczną wyników wykonano przy użyciu programu „STATISTICA 5.1” (firmy StatSoft Polska). W celu znalezienia istotnych statystycznie różnic pomiędzy wybranymi parametrami zastosowano dwa testy: *Kolmogorowa – Smirnowa* oraz *U Manna – Whitneya*. Jako krytyczny poziom istotności przyjęto  $p \leq 0,05$ .

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W badanych ekstraktach z poszczególnych części kiełków grochu zidentyfikowano następujące kwasy organiczne: szczawiowy, winowy, cytrynowy, jabłkowy, glukonowy oraz octowy. Wyznaczone stężenie zidentyfikowanych kwasów w ekstraktach z korzonków w przeliczeniu na świeżą masę kiełków grochu przedstawiono w tab. I.

Tab e l a I. Stężenie kwasów organicznych w ekstraktach z korzonków kiełków grochu (w przeliczeniu na mg/g świeżej masy).

Tab l e I. Concentration of organic acids in extracts of rootlets of the pea sprouts (in terms of mg/g wet sample).

Kwas organiczny	Stężenie kwasów organicznych w korzonkach [mg/g ś.m]	
	5 dzień kiełkowania	7 dzień kiełkowania
szczawiowy	0,01 ± 0,00	0,03 ± 0,00
winowy	0,03 ± 0,02	0,08 ± 0,01
cytrynowy	0,45 ± 0,04	0,63 ± 0,06
jabłkowy	0,28 ± 0,01	0,69 ± 0,06
glukonowy	0,62 ± 0,41	0,43 ± 0,03
octowy	0,41 ± 0,03	0,53 ± 0,05

W korzonkach większość oznaczonych kwasów (z wyjątkiem kwasu glukonowego) odznaczała się wyższym stężeniem w materiale pobranym w 7 dniu niż w 5 dniu kiełkowania. Przy czym najwyższe stężenie stwierdzono dla kwasu jabłkowego (0,69±0,06 mg/g ś.m.) a najniższe dla kwasu szczawiowego (0,03 ± 0,00 mg/g ś.m.). Różnicę statystycznie istotną w stężeniu kwasów organicznych w korzonkach kiełków grochu, w zależności od dnia kiełkowania, stwierdzono dla kwasu jabłkowego ( $p < 0,01$ ), cytrynowego i octowego ( $p < 0,05$ ).

Odmienne wyniki otrzymano dla badanych łusek oraz ziaren kiełków grochu (tab. II.), które charakteryzowały się wyższym stężeniem większości oznaczonych w nich kwasów organicznych w 5 dniu niż w 7 dniu (z wyjątkiem kwasu octowego w przypadku łusek i kwasu winowego w przypadku ziaren). W najwyższym stężeniu w łuskach występował kwas glukonowy (5 dzień: 2,05±0,02 mg/g ś.m), w ziarnach kwas octowy (0,35±0,01 mg/g ś.m). Stężenie kwasu szczawiowego w ekstraktach z łusek i kwasu glukonowego w ekstraktach z ziaren było poniżej granicy oznaczalności (<LOD) wykorzystywanej metody.

Różnicę statystycznie istotną ( $p < 0,001$ ) w zależności od dnia kiełkowania stwierdzono dla stężenia kwasu glukonowego w łuskach grochu, nastąpiło znaczne zmniejszenie

szenie stężenia tego kwasu. Różnica w stężeniu kwasu jabłkowego w łuskach grochu w czasie kiełkowania wykazywała istotność statystyczną, wartość ta zmniejszyła się z  $0,24 \pm 0,01$  do  $0,04 \pm 0,00$ ; ( $p < 0,01$ ). Zmniejszenie stężenia w czasie procesu kiełkowania stwierdzono dla kwasu winowego obecnego w łuskach kiełków grochu ( $p < 0,05$ ).

Tab e l a II. Stężenie kwasów organicznych w ekstraktach z łusek i ziaren kiełków grochu (w przeliczeniu na mg/g świeżej masy).

Tab l e II. Concentration of organic acids in extracts of shells and seeds of the pea sprouts (in terms of mg/g wet sample).

Kwas organiczny	Stężenie kwasów organicznych [mg/g ś.m]			
	łuski		ziarna	
	5 dzień kiełkowania	7 dzień kiełkowania	5 dzień kiełkowania	7 dzień kiełkowania
szczawiowy	<LOD	<LOD	$0,27 \pm 0,01$	$0,17 \pm 0,01$
winowy	$0,06 \pm 0,00$	$0,01 \pm 0,00$	$0,05 \pm 0,00$	$0,10 \pm 0,00$
cytrynowy	$0,64 \pm 0,01$	<LOD	<LOD	$0,63 \pm 0,01$
jabłkowy	$0,24 \pm 0,01$	$0,04 \pm 0,00$	$0,23 \pm 0,01$	$0,11 \pm 0,01$
glukonowy	$2,05 \pm 0,02$	$0,04 \pm 0,00$	<LOD	<LOD
octowy	$1,54 \pm 0,01$	$2,20 \pm 0,01$	$0,35 \pm 0,01$	$0,14 \pm 0,01$

Stężenie kwasu szczawiowego, jabłkowego i octowego w ziarnach grochu zmniejszało się w czasie procesu kiełkowania, różnice w stężeniach tych kwasów były statystycznie istotne ( $p < 0,05$ ).

Analizy zielono-żółtych i zielonych części kiełków dokonano w siódmym dniu kiełkowania. Wyniki przeprowadzonych badań przedstawiono w tab. III. Zielono-żółte i zielone części kiełka okazały się być najbogatsze w kwas glukonowy, odpowiednio:  $0,44 \pm 0,03$ ,  $0,37 \pm 0,08$  mg/g ś.m, a najuboższe w kwas szczawiowy (udało się go jedynie oznaczyć jakościowo). Różnice w stężeniu kwasu winowego i octowego w kiełkach w zależności od ich koloru nie wykazały istotności statystycznej. Natomiast różnica w zawartości kwasu cytrynowego w zależności od koloru kiełka była największa i znamienna statystycznie ( $p < 0,01$ ). W zielonych częściach kiełka zaobserwowano większe stężenie kwasu jabłkowego w porównaniu do zielono-żółtych części ( $p < 0,05$ ) i mniejsze kwasu glukonowego ( $p < 0,05$ ).

Dostępne piśmiennictwo zawiera niewiele prac dotyczących identyfikacji kwasów organicznych w kiełkach roślin. Kiełki grochu są materiałem, który po raz pierwszy był wykorzystany do tego typu badań. Sousa i wsp. (3) poddali analizie kiełki jarmużu (*Brassica oleracea* L.) przez okres 12 dni kiełkowania, wykonując między innymi oznaczenia kwasów organicznych. W toku badań, zidentyfikowano i oznaczono ilościowo następujące kwasy: akonitowy, szczawiowy, cytrynowy, jabłkowy, pirogronowy, szikimowy oraz fumarowy. Ponadto, stwierdzono, że zmiany stężeń poszczególnych kwasów były istotne statystycznie, a całkowite stężenie kwasów organicznych podczas okresu kiełkowania (od 2 do 12 dnia) wzrosło o ok. 46%. Poczynione obserwacje przypisano zwiększonej aktywności metabolicznej nasion w czasie kiełkowania, wznowieniem takich procesów jak glikoliza, cykl *Krebsa*,

beta-oksydacja kwasów tłuszczowych. Z kolei *Dobrowolska-Iwanek* i wsp. (4) przeprowadzili badania, w których materiałem analizowanym były kiełki gryki. Otrzymane wyniki potwierdziły obecność w wodnych ekstraktach następujących kwasów organicznych: winowy, cytrynowy, jabłkowy, mlekowy i szczawiowy. *Hara* i wsp. (5) z kolei przeprowadzili badanie młodych korzeni 7 odmian rzodkiewki. Zidentyfikowano w nich takie kwasy organiczne jak: kwas mlekowy, jabłkowy, cytrynowy, pirogronowy i askorbinowy. W najwyższym stężeniu występował kwas jabłkowy, cytrynowy oraz askorbinowy. Zawartość poszczególnych kwasów organicznych różniła się w zależności od odmiany rzodkiewki.

T a b e l a III. Stężenie kwasów organicznych w ekstraktach z zielono-żółtych i zielonych części kiełków (w przeliczeniu na mg/g świeżej masy).

T a b l e III. Concentration of organic acids in extracts of green-yellow part and green part of the pea sprouts (in terms of mg/g wet sample).

Kwas organiczny	Stężenie kwasów organicznych [mg/g ś.m]	
	Zielono-żółte części kiełków	Zielone części kiełków
szczawiowy	<LOD	<LOD
winowy	0,01 ± 0,00	0,04 ± 0,01
cytrynowy	0,08 ± 0,04	0,36 ± 0,02
jabłkowy	0,19 ± 0,06	0,34 ± 0,03
glukonowy	0,44 ± 0,03	0,37 ± 0,08
octowy	0,29 ± 0,03	0,31 ± 0,00

Podsumowując można stwierdzić, że profil kwasów organicznych oraz ich stężenia w kiełkach zależą od rodzaju rośliny wykorzystanej do badań, a także od fazy wzrostu w okresie kiełkowania.

## WNIOSKI

1. Kwasy organiczne w różnym stopniu kumulują się w różnych częściach kiełków grochu.
2. W niejednakowy sposób zmienia się stężenie kwasów organicznych w poszczególnych częściach tej rośliny w zależności od dnia kiełkowania.
3. Kiełki grochu mogą być dobrym źródłem tych związków jako składnik żywności funkcjonalnej.

J. Dobrowolska-Iwanek, J. Chłopicka, D. Grabka

### CONCENTRATION OF ORGANIC ACIDS IN PEA SPROUTS

#### Summary

Organic acids occur naturally in vegetables and fruits, as well as in sprouts. Plant sprouts are also rich in minerals, vitamins and antioxidants. The aim of this study was to determine the concentration of organic acids in pea sprouts. The pea sprouts were germinated for 5 and 7 days. Then they were divided into several parts: roots, shells, seeds, the green part and the green-yellow part of the germ. The samples

were extracted three times and then analyzed by isotachopheresis. The following organic acids were identified in the extracts of pea sprouts: oxalic acid, tartaric acid, citric acid, malic acid, gluconic acid and acetic acid. Their concentration was different, depending on the time of cultivation, and the part of sprout from which the sample was obtained.

#### PIŚMIENNICTWO

1. *Lewicki P.*: Kielki nasion jako źródło cennych składników. *Żywn. Nauka. Technol. Jakość*, 2010; 6 (73): 18–33 – 2. *Seabra R.M., Andrade P. B., Valentão P., Fernandes E., Carvalho F., Bastos M. L.*: Antioxidant compounds extracted from several plant materials. In *Biomaterials from aquatic and terrestrial organisms*. New Hampshire: Science Publishers – Enfield (NH) Jersey Plymouth, 2006 – 3. *Sousa C., Lopesa G., Pereira D.M., Taveiraa M., Valentão P., Seabra R.M.*: Screening of Antioxidant Compounds During Sprouting of *Brassica oleracea* L. var. *costata* DC. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening* 2007; 10: 377-386. – 4. *Dobrowolska-Iwanek J., Chlopicka J., Wojtal K.*: Dobór parametrów ekstrakcji kwasów organicznych z kiełków gryki. *Brom. Chem. Toksykol.*, 2012; 45(3): 371-375. – 5. *Hara M., Torazawa D., Asai T., Takahashi I.*: Variations in the soluble sugar and organic acid contents in radish (*Raphanus sativus* L.) cultivars, *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2011; 46(11): 2387-2392.

Adres: 30-688 Kraków, ul. Medyczna 9