

Renata Bieżanowska-Kopeć, Paweł M. Pisulewski,
Magdalena Surma-Zadora¹⁾

ZAWARTOŚĆ KWASU FOLIOWEGO I FOLINOWEGO W SOKACH, NEKTARACH I NAPOJACH OWOCOWYCH NATURALNYCH I FORTYFIKOWANYCH KWASEM FOLIOWYM

Katedra Żywienia Człowieka Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie
Kierownik: prof. dr hab. P.M. Pisulewski

¹⁾ Małopolskie Centrum Monitoringu i Badań Żywności
Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie
Kierownik: prof. dr hab. E. Cieślak

Spośród analizowanych produktów owocowych firmy Hortex, istotnie ($P < 0,05$) wyższą zawartością kwasu foliowego charakteryzował się sok pomarańczowy. W sokach, napojach i nektarach owocowych naturalnych i fortyfikowanych kwasem foliowym, dostępnych na polskim rynku, zawartość kwasu foliowego i folinowego jest znacznie zróżnicowana. W 50% przeanalizowanych produktów, zawartość kwasu foliowego była zgodna lub wyższa z deklarowaną przez producenta.

Hasła kluczowe: kwas foliowy, soki, nektary, napoje owocowe, fortyfikacja, HPLC.

Key words: folic acid, fruit juices, fruit nectars, fruit drinks, enrichment, HPLC.

Aktualne badania żywieniowe w Polsce oraz w krajach Europy Środkowej i Północnej, wskazują na istnienie znacznych niedoborów kwasu foliowego w diecie (1). Niedobór kwasu foliowego jest jedną z najczęściej występujących awitaminoz (2). Wiąże się to z coraz częściej dyskutowanymi problemami dotyczącymi takich chorób, jak: układu sercowo-naczyniowego, nowotwory, zaburzenia neurologiczne oraz wady cewy nerwowej u dzieci (3, 4, 5, 6, 7).

Rozwiązaniem problemu niedoboru kwasu foliowego jest zwiększenie spożycia żywności naturalnie bogatej w ten związek oraz wzbogaconej w niedoborowy składnik, jak również suplementacja (8). Wzbogacanie żywności jest w ostatnich latach najchętniej wybieranym rozwiązaniem problemu występujących niedoborów.

Celem przeprowadzonych badań było oznaczenie zawartości kwasu foliowego w wybranych sokach, nektarach i napojach owocowych dostępnych na rynku polskim.

Wybrano następujące produkty: soki, nektary i napoje firmy *Hortex*, niewzbogacone soki, nektary i napoje o smaku pomarańczowym różnych firm, oraz wzbogacone soki, nektary i napoje multiwitaminowe różnych firm.

Ponadto, porównano oznaczoną zawartość kwasu foliowego z deklarowaną przez producenta na opakowaniu.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem badawczym były wybrane, dostępne na polskim rynku napoje, nektary i soki owocowe (tab. I), zakupione w krakowskich placówkach handlowych w okresie od stycznia do marca 2008 r.

Wyekstrahowanie kwasu foliowego z analizowanych produktów przeprowadzono wg *Hyun i Tamura* (9), stosując analizę trójenzymatyczną (koniugaza, α -amylaza, proteza).

Tab e l a I. Soki, nektary i napoje owocowe wykorzystane podczas analizy

Tab l e I. Analysed fruit juices, fruit nectars and fruit drinks

Hortex		Niewzbogacane		Wzbogacane	
Rodzaj produktu	Smak produktu	Rodzaj produktu	Firma	Rodzaj produktu	Firma
sok	ananasowy	sok pomarańczowy	Capy	sok pomarańczowy	Clippo
sok	grejfrutowy	sok pomarańczowy	<i>Dr Witt</i>	sok multiwitamina	<i>Hortex</i>
sok	jabłkowy	sok pomarańczowy	<i>Hortex</i>	sok multiwitamina	<i>Tymbark</i>
sok	pomarańczowy	sok pomarańczowy	<i>Pascual</i>	nektar multiwitamina	<i>Granini</i>
nektar	brzoskwiniowy	sok pomarańczowy	<i>Sam sok</i>	nektar multiwitamina	<i>Jupi</i>
nektar	czarnej porzeczki	sok pomarańczowy	<i>Tarczyn</i>	napój multiwitamina	<i>Costa</i>
nektar	wiśniowy	sok pomarańczowy	<i>Toma</i>	napój multiwitamina	<i>Dr Witt</i>
napój	winogronowy	sok pomarańczowy	<i>Tymbark</i>	napój multiwitamina	Fortuna
		nektar pomarańczowy	<i>Fortuna</i>	napój multiwitamina	<i>Garden</i>
		napój pomarańczowy	<i>Garden</i>	napój multiwitamina	<i>Tarczyn</i>

Analiza chromatograficzna. Oznaczenia prowadzono metodą chromatografii cieczowej, stosując wysokosprawy chromatograf cieczowy (La ChromElite, Hitachi) z detektorem UV/VIS. Rozdział prowadzono na kolumnie LichroCART 250-4 Lichrosphere 100 RP-18 o dł. 250 mm, średnicy wewnętrznej 4 mm i grubości fazy stacjonarnej 5 μm w temperaturze pokojowej. Jako eluentów użyto bufor fosforanowy o pH 5,2 (faza A) i acetonitryl (faza B), przy przepływie 1 cm^3/min . Rejestrację prowadzono przy dł. fali $\lambda = 290 \text{ nm}$. Zastosowano następującą elucję: 0 min. (100% bufor), 0–10 min. gradient do 90% bufor, 10–17 min. izokretycznie 90% bufor, w 18 min. 100% bufor, 18–25 min. 100% bufor. Kwas foliowy ($\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_7\text{O}_6$, Fluka 47620) i kwas folinowy ($\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{CaN}_7\text{O}_7$ calcium salt, Fluka 47612) identyfikowano na podstawie porównania czasów retencji badanych próbek i wzorców. Analiza ilościowa oparta była na metodzie wzorca zewnętrznego. W celu przeprowadzenia analizy ilościowej sporządzano roztwory wzorcowe kwasu foliowego i folinowego w zakresie stężeń 1–50 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$. Każdy roztwór wzorcowy trzykrotnie poddawano analizie chromatograficznej HPLC – UV/VIS. Na podstawie uzyskanych rezultatów wyznaczono równanie krzywej kalibracyjnej dla kwasu foliowego ($y = 3,87 \times 10^{-6}x$) i dla pochodnej ($y = 4,15 \times 10^{-6}x$) metodą regresji liniowej. Wyznaczono także wartość współczynnika korelacji liniowej, który wynosił 0,999.

Uzyskane wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji (ANOVA) przy użyciu programu *Statistica* 8.0. Istotność różnic pomiędzy zawartością folianów w produktach owocowych oceniono przy użyciu testu *Duncana* dla poziomu istotności $P = 0,05$.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Spośród przeanalizowanych soków, nektarów i napojów owocowych firmy *Hortex* (tab. II), zawartość kwasu foliowego stwierdzono jedynie w soku pomarańczowym – $27,12 \mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$. W pozostałych próbkach nie uzyskano wartości mierzalnych. W przypadku kwasu folinowego wartości wahały się w granicach od $339,61 \mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$ (sok jabłkowy) do $775,67 \mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$ (napój winogronowy). Oznaczona zawartość kwasu foliowego w soku pomarańczowym jest zgodna z danymi tabelarycznymi składu i wartości odżywczej żywności (10), natomiast dla soku grejpfrutowego oraz nektaru z czarnych porzeczek wartości te były wyższe od uzyskanych w niniejszej pracy. W piśmiennictwie brak jest danych dotyczących zawartości kwasu folinowego. Soki, nektary i napoje sporządzone z pomarańczy odznaczają się stosunkowo wysokimi wartościami kwasu foliowego, w porównaniu z sokami, nektarami i napojami wyprodukowanymi z innych surowców. Wyniki takie potwierdzają badania *Öhrvik* i *Wittgöft* (11) mówiące o tym, że sok pomarańczowy może być rozpatrywany jako dobre źródło naturalnych folianów. Inną opinię przedstawił w swojej pracy *Uhusan* (12), wg którego sok pomarańczowy nie jest dobrym źródłem tej witaminy, jednakże wysokie spożycie tychże soków ma duży wpływ na końcową zawartość folianów w organizmie człowieka.

Tabela II. Zawartość kwasu foliowego i folianów w sokach, nektarach i napojach owocowych firmy *Hortex* ($\mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$)

Table II. Concentration of folic and folinic acid in fruit juices, fruit nectars and fruit drinks manufactured by *Hortex* ($\mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$)

Smak produktu	Rodzaj produktu	Liczba próbek	Kwas foliowy ($\mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$) x	Kwas folinowy ($\mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$) x
Ananasowy	sok	4	$0 \pm 0,00^a$	$678,54 \pm 66,57^a$
Grejpfrutowy	sok	4	$0 \pm 0,00^a$	$486,48 \pm 15,30^b$
Jabłkowy	sok	4	$0 \pm 0,00^a$	$339,61 \pm 10,48^c$
Pomarańczowy	sok	4	$27,12 \pm 3,69^b$	$391,40 \pm 17,41^{bc}$
Brzoskwinowy	nektar	4	$0 \pm 0,00^a$	$392,28 \pm 40,25^{bc}$
Czarnej porzeczeki	nektar	4	$0 \pm 0,00^a$	$706,97 \pm 55,59^a$
Wiśniowy	nektar	4	$0 \pm 0,00^a$	$475,90 \pm 43,36^b$
Winogronowy	napój	4	$0 \pm 0,00^a$	$775,67 \pm 51,36^a$

\pm SEM błąd odchylenia standardowego; a,b,c – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $P < 0,05$.

W tab. III zestawiono wyniki oznaczeń zawartości folianów w niewzbogacanych sokach, nektarach i napojach pomarańczowych różnych firm. Zawartość kwasu foliowego w badanych produktach była zróżnicowana i wynosiła od 25,83 μg (*Tymbark*) do 114,78 μg (*Sam sok*) w 100 cm^3 soku, 55,26 μg w 100 cm^3 nektaru, natomiast w napoju pomarańczowym *Garden* zawartość kwasu foliowego była poniżej wartości mierzalnych. Poziom kwasu folinowego dla omawianych soków wynosił od 284,93 μg (*Sam sok*) do 708,73 μg (*Tarczyn*) w 100 cm^3 produktu. Uzyskane różnice w zawartości folianów związane są m. in. z procesem technologicznym. Napoje, produkowane są przy wykorzystaniu najniższej zawartości wsadu wynoszącej 20%, nektary 25–50%, a soki owocowe 100%. Ponadto soki naturalnie mętne oraz te z cząstkami owoców, w sposób naturalny zawierają wyższe ilości kwasu foliowego w stosunku do produktów klarowanych. Potwierdzają to nasze wyniki, w których najwyższe zawartości kwasu foliowego uzyskano w sokach owocowych z cząstkami owoców, natomiast niższe w przypadku nektarów i napoju.

Table III. Zawartość kwasu foliowego i folianów w niewzbogacanych sokach, nektarach i napojach pomarańczowych różnych firm ($\mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$)

Table III. Concentration of folic and folinic acid in non-fortified orange juices, orange nectars and orange drinks manufactured by various producers ($\mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$)

Firma	Rodzaj produktu	Liczba próbek	Kwas foliowy ($\mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$) x	Kwas folinowy ($\mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$) x
Capy	sok	4	95,19 \pm 5,05 ^c	679,49 \pm 69,95 ^c
Dr Witt	sok	4	40,56 \pm 0,76 ^d	295,75 \pm 16,96 ^a
Hortex	sok	4	27,12 \pm 3,69 ^e	391,40 \pm 17,41 ^{ab}
Pscual	sok	4	68,98 \pm 4,34 ^f	343,36 \pm 40,48 ^a
Sam sok	sok	4	114,78 \pm 7,44 ^g	284,93 \pm 25,57 ^a
Tarczyn	sok	4	99,28 \pm 4,62 ^{gh}	708,73 \pm 15,09 ^c
Toma	sok	4	108,43 \pm 6,38 ^{gh}	514,29 \pm 14,53 ^b
Tymbark	sok	4	25,83 \pm 0,51 ^{ej}	402,78 \pm 14,35 ^{ab}
Fortuna	nektar	4	55,26 \pm 6,87 ^b	474,91 \pm 40,07 ^b
Garden	napój	4	0 \pm 0,00 ^a	300,40 \pm 52,43 ^a

\pm SEM błąd odchylenia standardowego; a,b,c,... – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $P < 0,05$.

Tabela IV prezentuje wyniki oznaczeń zawartości kwasu foliowego i folinowego w dostępnych na polskim rynku sokach, nektarach i napojach multiwitaminowych oraz soku pomarańczowym wzbogacanego kwasem foliowym. Oznaczona zawartość kwasu foliowego była zróżnicowana i wahała się od 23,10 μg (*Hortex*) do 45,67 μg (*Clippo*) w 100 cm^3 soku, 28,96 μg (*Jupi*) i 38,55 μg (*Granini*) w 100 cm^3 nektaru oraz od 22,62 μg (*Fortuna*) do 41,96 μg (*Dr Witt*) w 100 cm^3 napoju. W przypadku kwasu folinowego wartości w przeanalizowanych produktach wahały się w granicach od 239,09 μg (nektar *Granini*) do 448,26 μg (napój *Tarczyn*) w 100 cm^3 . Zawartość kwasu foliowego deklarowana przez producenta w większości przypadków

wynosiła 30 $\mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$ produktu, z wyjątkiem napoju multiwitaminowego *Tarczyn* i nektaru *Granini* (odpowiednio 40 i 50 $\mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$). Spośród dziesięciu fortyfikowanych produktów, w pięciu zawartość kwasu foliowego osiągała wartość zbliżoną (Costa – 99%, Jupi – 96%) lub wyższą (*Clippo* – 152%, *Tymbark* – 142%, *Dr Witt* – 140%) w porównaniu z deklarowaną przez producenta. W pozostałych sokach, nektarach i napojach oznaczony poziom kwasu foliowego stanowił od 75 do 89% wartości deklarowanej. Podobne rozbieżności w wynikach uzyskali *Lebiedzińska* i współpr. (13), którzy po przeanalizowaniu siedmiu wzbogacanych soków i napojów uzyskali od 51 do 116% zawartości kwasu foliowego deklarowanej przez producenta, natomiast *Breithaupt* (14), po przeanalizowaniu dziewięciu rodzajów soków wzbogacanych otrzymał wyniki od 37 do 107% wartości deklarowanej. Folacyna jest bardzo wrażliwa na działanie wysokiej temperatury, promieni słonecznych, a także kwasowości poniżej pH 7. Znaczne straty tej witaminy, sięgające 50–90% zawartości, mają miejsce w czasie przetwarzania i gotowania żywności (15), stąd mogą wynikać tak duże ubytki zawartości kwasu foliowego w przeanalizowanych produktach.

Tabela IV. Zawartość kwasu foliowego i folianów w wzbogacanych sokach, nektarach i napojach owocowych różnych firm ($\mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$)

Table IV. Concentration of folic and folinic acid in fortified fruit juices, fruit nectars and fruit drinks manufactured by various producers ($\mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$)

Firma	Rodzaj produktu	Liczba próbek	Kwas foliowy ($\mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$) x	Wartość deklarowana ($\mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$)	% deklarowanej wartości	Kwas folinowy ($\mu\text{g}/100 \text{ cm}^3$) x
Clippo	sok	4	45,67 \pm 6,17 ^{df}	30	152	313,92 \pm 29,39 ^{ac}
Hortex	sok	4	23,10 \pm 0,91 ^a	30	77	348,64 \pm 2,51 ^{acd}
Tymbark	sok	4	42,49 \pm 1,49 ^{bf}	30	142	336,93 \pm 15,59 ^{ac}
Granini	nektar	4	38,55 \pm 4,28 ^{bde}	50	77	239,09 \pm 91,21 ^a
Jupi	nektar	4	28,96 \pm 2,45 ^{ac}	30	96	301,36 \pm 15,82 ^a
Costa	napój	4	29,83 \pm 7,84 ^{ace}	30	99	296,71 \pm 29,67 ^a
Dr Witt	napój	4	41,96 \pm 3,07 ^{bf}	30	140	302,19 \pm 13,86 ^{ac}
Fortuna	napój	4	22,62 \pm 0,71 ^a	30	75	414,04 \pm 21,56 ^{cd}
Garden	napój	4	26,68 \pm 1,71 ^{ac}	30	89	335,90 \pm 13,69 ^{ac}
Tarczyn	napój	4	35,03 \pm 0,96 ^{bc}	40	87	448,26 \pm 26,88 ^{bd}

\pm SEM błąd odchylenia standardowego; a,b,c,... – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $P < 0,05$.

Soki, nektary i napoje o smaku pomarańczowym są bogate w foliany i mogą stać się dobrym źródłem kwasu foliowego w diecie człowieka. Produkty te mogą poprawić stan odżywienia organizmu folianami, a co za tym idzie poprawić ogólny stan zdrowia społeczeństwa i pomóc w zapobieganiu występowania wielu chorób związanych z niedoborem tej witaminy w organizmie człowieka.

WNIOSKI

1. Spośród soków, nektarów i napojów owocowych firmy *Hortex*, istotnie ($P < 0,05$) najwyższą zawartością kwasu foliowego odznaczał się sok pomarańczowy.
2. W sokach, napojach i nektarach owocowych naturalnych i wzbogacanych kwasem foliowym, dostępnych na polskim rynku, zawartość kwasu foliowego i folinowego jest znacznie zróżnicowana.
3. Tylko w 50% przeanalizowanych produktów owocowych, zawartość kwasu foliowego była zgodna lub wyższa z deklarowaną przez producenta.

R. Bieżanowska-Kopeć, P.M. Pisulewski, M. Surma-Zadora

THE CONTENT OF FOLIC AND FOLINIC ACID IN NATURAL AND FOLIC ACID FORTIFIED FRUIT JUICES, FRUIT NECTARS AND FRUIT DRINKS

Summary

The present study provides information about the content of folic and folinic acid in fruit juices, fruit nectars and fruit drinks manufactured by *Hortex Co.* and in natural and other folic acid fortified fruit juices, fruit nectars and fruit drinks available in the Polish market. The extraction of folic acid from the fruit juice, fruit nectar and fruit drink samples was as described by Hyun and Tamura, using trienzyme extraction (conjugase, α -amylase, protease) procedure. The determinations were made using HPLC (La ChromElite, Hitachi) with UV/VIS detector. Among the fruit juices, fruit nectars and fruit drinks manufactured by *Hortex*, the content folic acid was highest in orange juices. The content of folic and folinic acid in natural and folic acid fortified fruit juices, fruit nectars and fruit drinks from various suppliers differed widely. In 50% of the analysed samples, folic acid content was equal to, or above the value specified by the manufacturer. The results show that natural and folic acid fortified fruit juices, fruit nectars and fruit drinks may be good sources of folic acid.

PIŚMIENNICTWO

1. Bukowska H., Gorący I.: Żyżniewska-Banaszak E., Chelstowki K., Naruszewicz M.: Ocena wpływu napoju zawierającego sok owocowy, bakterie jogurtowe oraz witaminę C i kwas foliowy na poziom homocysteiny, profil lipidowy i jakość życia ocenianą rotterdamką listą symptomów, u młodych mężczyzn. Żywnienie. Czynniki Ryzyka, 2007; 1-2: 52-55. – 2. Kappler E., Gronowska-Senger A.: Współczesne poglądy w zakresie norm spożycia folianów. Żyw. Człow. Met., 2002; (29) 4: 278-288. – 3. Makarewicz-Wujec M., Kozłowska-Wojciechowska M., Serafin A.: Czy kontrola sposobu żywienia może wpłynąć na poprawę jakości leczenia osób z niewydolnością serca?. Czynniki Ryzyka, 2008; 4: 31-38. – 4. Gertig H., Przysławski J.: Bromatologia. Zarys nauki o żywności i żywieniu. Wydawnictwo Lekarskie, PZWL, Warszawa, 2006; 1: 148-153. – 5. Ravaglia G., Forti P., Maioli F., Martelli M., Servadei L., Brunetti N., Porcellini E., Licastro F.: Homocysteine and folate as risk factors for dementia and Alzheimer disease. Am. J. Clin. Nutr., 2005; 82: 636-643. – 6. Kądziała J., Janas J., Dzielińska Z., Piotrowski W., Rużyłło W.: Niedobór kwasu foliowego a bezpośredni, niezależny od homocysteiny, związek z ryzykiem wystąpienia choroby niedokrwiennej serca. Folia Cardiologica, 2003; 5(10): 619-624. – 7. Eskes T.K.A.B.: Open or Closed? A Word of Difference: A History of Homocysteine Research. Nutr. Reviews, 1998; 8(56): 236-244. – 8. Finglas P.M., de Meer K., Molloy A., Verhoef P., Pietrzik K., Powers H.J., van der Straeten D., Jagerstad M., Varela-Moreiras G., van Vliet T., Havenaar R., Buttriss J., Wright A.J.A.: Short communication. Research goals for folate and related B vitamin in Europe. Eur. J. Clin. Nutr., 2006; 60: 287-294. – 9. Hyun T.H., Tamura T.: Trienzyme extraction in combination with microbiologic assay in food folate analysis: An updated review. Experimental Biol. and Med., 2005; 230: 444-454. – 10. Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K.: Tabele składu i wartości odżywczej żywności. Wydawnictwo Lekarskie, PZWL, Warszawa 2005; 1: 389-429.

11. *Öhrvik V, Withöft C.*: Orange juice is a good source in respect to folate content and stability during storage and simulated digestion. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2008; 2(47): 92-98. – 12. *Uhusan N.*: Assessment of Turkish women's knowledge concerning folic acid and prevention of birth defects. *Public Health Nutr.*, 2003; 7: 851-855. – 13. *Lebiedzińska A., Dąbrowska M., Szefer P.*: Ocena zawartości kwasu foliowego w fortyfikowanych sokach owocowych. *Żyw. Człow. Met.*, 2007; 3-4(34): 1370-1373. – 14. *Breithaupt D.E.*: Determination of folic acid by ion-pair RP-HPLC in vitamin – fortified fruit juices after solid-phase extraction. *Food Chem.* 2001; 4(74): 521-525. – 15. *Gawęcki J., Hryniewiecki L.*: *Żywnie człowieka. Podstawy nauki o żywieniu.* Wydawnictwo Naukowe, PWN, Warszawa 2005; 266-269, 341: 348.

Adres: 30-149 Kraków, ul. Balicka 122.