

Organinių rūgščių ir cukrų tyrimai paprastosios spanguolės *Vaccinium oxycoccos* uogose

Laima Česonienė¹, Remigijus Daubaras¹, Ina Jasutienė², Inga Miliauskienė²

¹Vytauto Didžiojo universiteto Kauno botanikos sodas, ²Kauno technologijos universiteto Maisto institutas

Spanguolių uogų vartojimas turi senas tradicijas, o dabartiniiais laikais susidomėjimas jomis didėja, nes šios uogos yra labai vertinamos dėl didelių kiekių biologiškai aktyvių medžiagų. Paprastosios spanguolės (*Vaccinium oxycoccos*) veislės ir atrinkti klonai pasižymi didele produktyvumu, cheminių medžiagų ir nusispalvinimo įvairove. Šių tyrimų tikslas buvo atlikti VDU Kauno botanikos sode auginamų paprastosios spanguolės veislių ir klonų uogų cheminius tyrimus ir išskirti genotipus, sukaupiančius didelius kiekius organinių rūgščių ir monosacharidų. Ištyrus 40 paprastosios spanguolės genotipų, auginamų vienodose ekologinėse sąlygose, išskirti patys vertingiausi, pasižymintys didesniais biologiškai aktyvių medžiagų kiekiais. Didžiausiu bendru organinių rūgščių kiekiu išsiskyrė paprastosios spanguolės klonai 98-Č-15 ir 98-Č-17 bei estiška veislė 'Maima'. Daugiausia fruktozės sukaupė veislės 'Soontagana' uogos (56,8 g kg⁻¹), gliukozės – veislės 'Maima' uogos (62,9 g kg⁻¹).

Spanguolės, genotipai, organinės rūgštys, fruktozė, gliukozė

Įvadas

Paprastoji spanguolė (*Vaccinium oxycoccos* L.) yra gana plačiai paplitęs Lietuvoje uoginis augalas, kurio natūralios augimvietės – aukštapelkės, tarpinio tipo pelkės, ir pelkiniai pušynai. Jos nuo seno yra plačiai naudojamos maistui: gaminamos uogienės, sultys, drebučiai, gaivieji gėrimai. Liaudies medicinoje uogos naudojamos virškinimo sistemos negalavimams gydyti, o sultys geriamos, gydant reumatą, gerklės ligas, esant bendram nusilpimui. Tradicinė medicina taip pat pripažįsta, kad šios uogos pasižymi įvairiu poveikiu žmogaus organizmui, taip pat jos yra rekomenduojamos, sergant onkologinėmis ir širdies bei kraujagyslių ligomis (Česonienė et al., 2013; Namiesnik et al., 2013).

Atlikti biocheminiai kitos rūšies - stambiauogių spanguolių uogų tyrimai patvirtino, kad jose taip pat dideliais kiekiais susikaupia įvairūs biologiškai aktyvūs junginiai: polifenoliai (antocianinai, flavonoidai, flavonoliai), organinės rūgštys bei mineralinės medžiagos. Vertinant dviejų spanguolių rūšių antimikrobines savybes nustatyta, kad spanguolių sultys stabdo kai kurių patogeninių bakterijų bei grybų augimą ir vystymąsi (Česonienė et al., 2011; Pappas and Schaich, 2009; Viškelis et al., 2009). Perdirbtos spanguolės, ypač spanguolių sultys, taip pat yra ypač vertinamos, gydant šlapimo takų infekcijas (Terris et al., 2001; Viškelis et al., 2009).

Įvairių organinių rūgščių kiekiai ir jų santykis apsprendžia tiek šviežių, tiek perdirbtų spanguolių uogų savybes. Organinės rūgštys ne tik suteikia šioms uogoms specifinį skonį, bet ir yra naudojamos, reguliuojant įvairių maisto pramonės gaminių pH, jos taip pat yra produktų kokybės rodiklis. Organinės rūgštys yra vertinamos maisto pramonėje dėl antioksidacinių, antimikrobinių, skonį gerinančių savybių, o jų naudojimas dažnai sumažina produkto savikainą (Raybaudi-Massilia et al., 2009).

Kitose studijose pateikiami tyrimų rezultatai, kurie patvirtina, kad organinės rūgštys (daugiausia tai yra vadinamosios karboksirūgštys - obuolių, citrinos, gintaro ir kt.) ne tik veikia kaip antioksidantai, bet ir suriša metalus, t.y., pasižymi gyvus organizmus apsaugančiomis savybėmis ir sinergetiniu poveikiu (Pero et al., 2008). Atlikti stambiauogės spanguolės (*Vaccinium macrocarpon*

Aiton) uogų tyrimai patvirtino, kad citrinų, obuolių ir chino rūgštys yra pagrindinės, t.y., uogose yra aptinkami didžiausi būtent šių rūgščių kiekiai, jose taip pat yra benzoinės rūgšties, kuri yra priskiriama prie natūralių konservantų (Miller et al., 2009).

Tirpūs angliavandeniai gliukozė ir fruktozė lemia natūralų spanguolių uogų ar jų produktų saldumą. Jų kiekių tyrimai yra aktualūs, nes būtent šie cukrūs yra greitai ir lengvai pasisavinami žmogaus organizme. Nustatyta, kad giminingos rūšies – stambiauogės spanguolės veislių uogose bendras cukrų kiekis siekia nuo 4,57 iki 8,04% (Povilaitytė ir kt., 1998).

Šių tyrimų tikslas buvo nustatyti chino, obuolių citrinos ir benzoinės rūgščių bei fruktozės ir gliukozės kiekius paprastosios spanguolės *V. oxycoccos* genotipų uogose.

Tyrimų metodai

Tyrimams atrinkta 40 *V. oxycoccos* genotipų - veislių ir klonų. Šie genotipai yra auginami Vytauto Didžiojo universiteto Kauno botanikos sode, Pomologijos sektoriaus kolekcijoje. Kolekcijoje auginamos ir tiriamos estiškos, rusiškos veislės bei Lietuvos aukštapelkėse surinkti klonai ir penkios lietuviškos veislės 'Vaiva', 'Reda', 'Žuvinta', 'Amalva' ir 'Vita', kurios jau yra pateiktos veislių patvirtinimui. Visi genotipai atrinkti, apibendrinus agrobiologinių savybių (produktyvumo, atsparumo ligoms ir kenkėjams, sezoninio vystymosi ypatybių) daugiamečių tyrimų rezultatus (Česonienė et al., 2013).

Uogų pavyzdžiai cheminiams tyrimams surinkti techninės brandos stadijoje, kai uogos įgyja veislei būdingą spalvą, o sėklos paruduoja. Uogos buvo supakuotos polietilenuose maišeliuose iš užšaldytos iki analizės šaldiklyje, -28°C temperatūroje.

Atliekant benzoinės rūgšties tyrimus, uogos homogenizuotos, o benzoinės rūgšties kiekiai nustatyti pagal tarptautinį standartą ISO 22855 "Fruit and vegetable products – Determination of benzoic acid and sorbic acid concentrations – High-performance liquid chromatography method". Chino, obuolių ir citrinų rūgšties nustatymui buvo naudojama Shimadzu Prominence LC20AD chromatografinė įranga su diodų matricos detektoriumi ir Lab Solutions programine įranga, atvirkščių fazių kolonėlė

Hydrosphere C18 (5 μ m, 12nm), 150 \times 4.6 I.D. (YMC Co., Ltd., Japan) ir Eclipse XDB-C18 (5 μ m), 150 \times 4.6 (Agilent, USA). Sulčių mėginiai buvo skiedžiami vandeniu (1:50), nuskaidrinami Carrez reagentais ir filtruojami per popierinį filtrą, po to – per 0,22 μ m porų dydžio membraninį filtrą. Judančioji fazė: 20mM Na₂HPO₄ buferis, kurio pH acto rūgštimi privedamas iki 2.8. Tekėjimo greitis: 1.0 ml/min., temperatūra: 30°C, injekcijos tūris: 20 μ l, UV detekcijos bangos ilgis: 220 nm.

Cukrų nustatymui atšildytos sultys buvo skiedžiamos vandeniu, santykiu 1:10. Bandiniuose esantys baltymai nusodinti reagentais Carrez-I (natrio heksacianoferatas (II) (ferocianidas), 85mM = 3.60 g K₄[Fe(CN)₆] \times 3H₂O/100 ml) ir Carrez-II (cinko sulfatas, 250 mM = 7.20 g ZnSO₄ \times 7H₂O/100 ml), abiejų reagentų įpilant po 1 ml. Iškritusios nuosėdos atskiriamos, bandinius nufiltravus pirmiausia per popierinį filtrą, o antrą kartą buvo filtruojama per 0,45 μ m porų membraninį filtrą. Etaloninis 4 mg/ml tirpalas paruoštas distiliuotame vandenyje 100 ml matavimo kolbutėje ištirpinus 0,4 g fruktozės (Sigma-Aldrich, Vokietija), gliukozės (Sigma-Aldrich, Vokietija) ir sacharozės (Sigma-Aldrich, Vokietija). Iš jo, atitinkamai praskiedus vandeniu, paruošti etaloniniai 2 mg/ml ir 0,4 mg/ml sacharidų mišinio tirpalai. Visi mėginiai prieš analizę filtruoti per 0,45 μ m porų membraninį filtrą.

Duomenys statistiškai apdoroti naudojant programų paketą XLSTAT-PRO, kuris veikia programoje „Excel“.

Rezultatai ir aptarimas

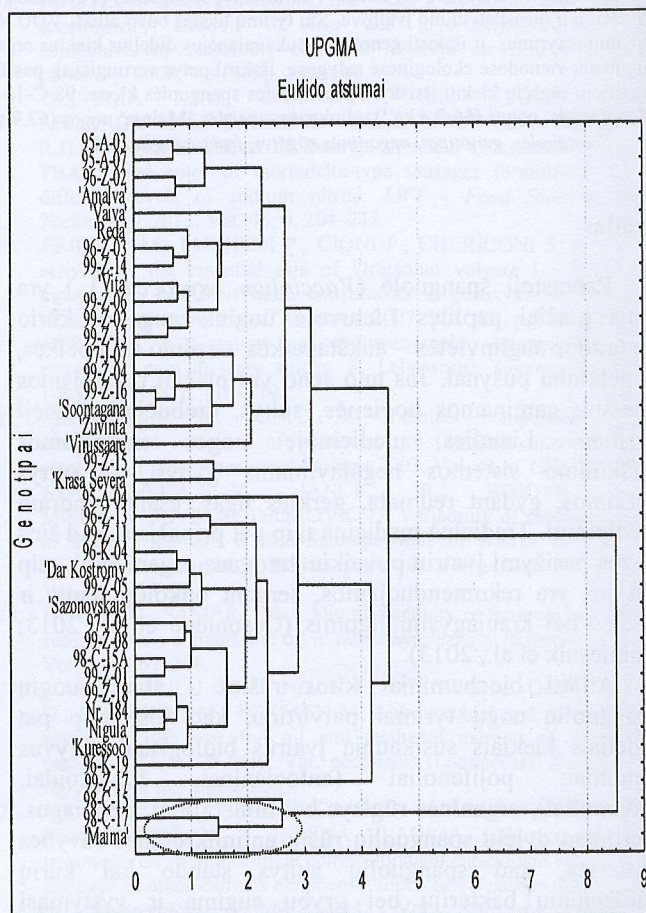
Tiriant benzoinės rūgšties kiekius, nustatyta, kad uogų sultyse yra tik 26% benzoinės rūgšties, lyginant su uogų ekstraktais. Daugiausia benzoinės rūgšties rasta paprastosios spanguolės uogų odelėse. Nustatyta, kad klonų 98-Č-15 ir 98-Č-17 bei veislės 'Maima' uogų ekstraktuose buvo išskirtinai dideli benzoinės rūgšties kiekiai, atitinkamai 147,1 \pm 6 mg kg⁻¹, 115, 2 \pm 11 mg kg⁻¹ ir 130,4 \pm 2 mg kg⁻¹.

Vidutiniai chino, obuolių ir citrinos rūgščių kiekiai spanguolių uogose buvo, atitinkamai 7,7 \pm 1,2 g kg⁻¹, 26,5 \pm 6,5 g kg⁻¹ ir 32,8 \pm 10,2 g kg⁻¹. Tirti genotipai reikšmingai skyrėsi šių karboksirūgščių kiekiais, pavyzdžiui, chino rūgšties kiekiai siekė nuo 3,8 iki 13,3 g kg⁻¹, obuolių rūgšties – nuo 14,4 iki 43,3 g kg⁻¹, o citrinų rūgšties – nuo 10,8 g iki 54,3 g kg⁻¹. Didžiausia chino rūgšties koncentracija buvo nustatyta 96-Ž-03 klonu uogose (13,3 g kg⁻¹), obuolių rūgšties – 96-K-04 klonu uogose (43,3 g kg⁻¹) ir citrinų rūgšties – 96-K-19 klonu uogose (54,3 g kg⁻¹). Mažiausia chino rūgšties koncentracija buvo nustatyta 99-Ž-17 (3,8 g kg⁻¹), obuolių rūgšties - 99-Ž-17 (14,4 g kg⁻¹) ir citrinų rūgšties - 95-A-03 (10,8 g kg⁻¹) genotipų uogose.

Rezultatai patvirtino, kad ir kitos rūšies –stambiauogės spanguolės uogose šios trys rūgštys aptinkamos didžiausiais kiekiais. Tai kitų autorių buvo patvirtinta, tiriant stambiauogės spanguolės uogas (Miller et al. 2009). Viljakainen et al. (2002) nurodė, kad bendras rūgščių kiekis paprastosios spanguolės uogų sultyse yra didžiausias, lyginant jas su kitomis miško uogomis - mėlyne, brukne, tekše ir juodąja varnauoge. Kaip teigia kiti autoriai, bendras karboksirūgščių kiekis stambiauogės

spanguolės uogose svyruoja nuo 3,81 mg/g iki 12,6 mg/g ir smarkiai keičiasi uogų laikymo metu (Wang and Wang, 2009).

Atlikus hierarchinę klasterinę analizę, vertinant visų tirtų 40 paprastosios spanguolės klonų ir veislių karboksirūgščių (chino, obuolių, citrinų ir benzoinės) kiekius, UPGMA grupavimo metodu sudaryta dendrograma. Išsiskyrė trys genotipai 98-Č-15, 98-Č-17 ir 'Maima', kurių uogos sukaupta didžiausius šių rūgščių kiekius (1 pav.).



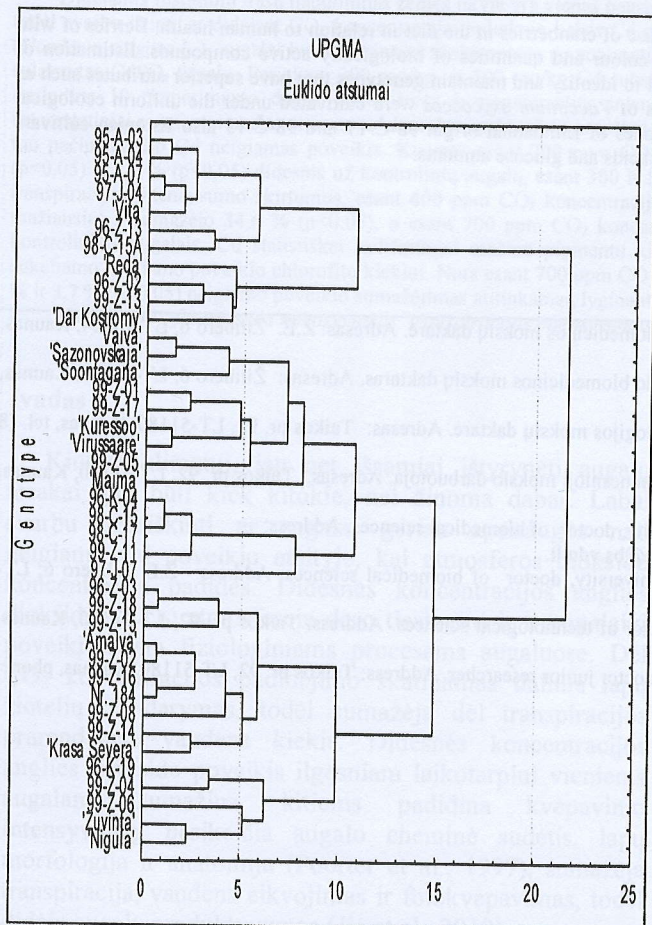
1 pav. *V. oxycoccus* genotipų klasterinė analizė, atlikta UPGMA grupavimo metodu, vertinant chino, obuolių, citrinų ir benzoinės rūgščių kiekius (Euklido atstumai)

Fig.1 The UPGMA cluster analysis based on Euclidean distance of the contents of amounts of quinic, benzoic, malic, and citric acids in genotypes of *V. oxycoccus*

Visose tirtose spanguolių uogų sultyse nerasta sacharozės, o fruktozės kiekiai siekė nuo 25,0 g kg⁻¹ ('Dar Kostromy') iki 56,8 g kg⁻¹ ('Soontagana'), gliukozės – nuo 26,6 g kg⁻¹ (99-Ž-13) iki 62,9 g kg⁻¹ ('Maima'). Bendras cukraus kiekis (bendras gliukozės ir fruktozės kiekis) svyravo nuo 54,8 iki 114,6 g kg⁻¹, o vidutinis cukrų kiekis siekė 87,5 \pm 16,4 g kg⁻¹. Iš tirtų 40 paprastosios spanguolės veislių ir klonų, didžiausią grupę sudarė Žuvinto rezervate surinktų klonų spanguolių uogos – 19 genotipų. Juose nustatytas fruktozės kiekis buvo nuo 28,5 iki 52,4 g kg⁻¹ (vidutiniškai 40,8 \pm 6,24 g kg⁻¹), o gliukozės – nuo 26,6 iki 54,2 g kg⁻¹ (vidutiniškai 43,6 \pm 8,01 g kg⁻¹).

Atlikus klasterinę analizę, visi tirti paprastosios spanguolės genotipai sugrupuoti UPGMA metodu. Devyni

genotipai (estiškos veislės 'Virussaare', 'Soontagana', 'Kuessoo' ir 'Maima', lietuviška veislė 'Vaiva', rusiška veislė 'Sazonovskaja' ir klonai 99-Ž-01, 99-Ž-05 bei 99-Ž-17 buvo išskirti kaip geriausi dėl didžiausių gliukozės ir fruktozės kiekių. Išskirtas ir kitas subklasteris, kurį sudarė veislės 'Dar Kostromy', 'Reda', klonai 99-Ž-13 ir 96-Ž-02. Šie genotipai pasižymėjo mažiausiais cukrų kiekiais, ir vidutiniškai sukaupė 27,8 g kg⁻¹ fruktozės bei 29,5 g kg⁻¹ gliukozės (2 pav.).



2 pav. *V. oxycoccus* genotipų klasterinė analizė, atlikta UPGMA grupavimo metodu, vertinant fruktozės ir gliukozės kiekius (Euklido atstumai)

Fig. 3. The UPGMA cluster analysis based on Euclidean distance of the contents of glucose and fructose in berries of *V. oxycoccus*

Atrinkti paprastosios spanguolės genotipus pagal fruktozės ir gliukozės kiekius yra svarbu, nes dabar vykdamas spanguolių selekcija, siekiama išvesti naujas veisles, kurių uogos sukaupė didesnius cukrų kiekius. Todėl perdurbant šias uogas būtų papildomai naudojami mažesni cukraus kiekiai, o daugiausia cukrų sukaupiančių veislių uogas galima būtų tiekti šviežias (Trehane, 2004).

Kitų autorių atliktų stambiauogės spanguolės uogų tyrimų rezultatai rodo, kad jos sukaupia nuo 45,7 iki 80,4 g kg⁻¹ cukrų (Povilaitytė ir kt., 1998).

Atlikti tyrimai patvirtino, kad organinių rūgščių (karboksirūgščių) ir cukrų kiekiai paprastosios spanguolės genotipų uogose labai įvairuoja. Kadangi visos tirtos veislės ir klonai VDU Kauno botanikos sodo kolekcijoje yra auginami vienodose ekologinėse sąlygose, galima teigti, kad šių cheminių medžiagų kiekiai priklauso nuo

genotipo. Perspektyvių paprastosios spanguolės genotipų atranka čia yra vykdoma nuo 1995 m. Spanguolių selekcijoje genotipų atranka, siekiant išvesti veisles su didesniu cukrų ar karboksirūgščių (chino, bezoinės, obuolių ir citrinų) kiekiu, yra perspektyvi.

Išvados

1. Nustatyta, kad paprastosios spanguolės uogose citrinų, obuolių ir chino rūgštys yra sukaupiamos didžiausiais kiekiais. Didžiausiu bendru šių rūgščių kiekiu išsiskyrė paprastosios spanguolės klonai 98-Č-15 ir 98-Č-17 bei estiška veislė 'Maima'.

2. Paprastosios spanguolės uogos vidutiniškai sukaupia 52 mg/kg bezoinės rūgšties. Sultyse nustatytas bezoinės rūgšties kiekis vidutiniškai sudaro tik 26% kiekio, nustatyto uogų ekstraktuose. Daugiausia bezoinės rūgšties rasta klonų 98-Č-15 ir 98-Č-17 bei veislės 'Maima' uogų ekstraktuose.

3. Visose tirtose spanguolių uogų sultyse nerasta sacharozės. Daugiausia fruktozės nustatyta veislės 'Soontagana' uogose (56,8 g kg⁻¹), gliukozės – Maima' uogose (62,9 g kg⁻¹). Vidutinis bendras sacharidų kiekis spanguolių uogose buvo 87,5±16,4 g kg⁻¹.

Literatūra

1. ČESONIENĖ, L., DAUBARAS, R., JASUTIENĖ, I., VENSLOVIENĖ, J., MILIAUSKIENĖ, I. Evaluation of the biochemical components and chromatic properties of the juice of *Vaccinium macrocarpon* Aiton and *Vaccinium oxycoccos* L. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2011, Vol. 66, Iss. 3, p. 238-244.
2. ČESONIENĖ, L., DAUBARAS, R., PAULASKAS, A., ŽUKAUSKIENĖ, J., ZYCH, M. Morphological and genetic diversity of European cranberry (*Vaccinium oxycoccos* L. Ericaceae) clones in Lithuanian reserves. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 2013, Vol. 82, p. 211-217.
3. MILLER, S., SCALZO, J., BOLDINGH, H. Cranberry cultivars in the New Zealand Industry. *Acta Horticulturae*, 2009, Vol. 810, p. 199-204.
4. NAMIESNIK, J., VEARASILP, K., KUPSKA, M., HAM, K-S., KANG, S-G., PARK, Y-K., BARASCH, D., NEMIROVSKI, A., GORINSTEIN, S. Antioxidant activities and bioactive components in some berries. *European Journal of Food Research and Technologies*, 2013, Vol. 237, p. 819-829.
5. PAPPAS, E., SCHAICH, K.M. Phytochemicals of cranberries and cranberry products: characterization, potential health effects, and processing stability. *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*, 2009, Vol. 49, p. 741-781.
6. PERO, R.W., LUND, H., LEANDERSON, T. Antioxidant metabolism induced by quinic acid increased urinary excretion of tryptophan and nicotinamide. *Phytotherapie Research*, 2009 Vol. 23, p. 335-346.
7. POVILAITYTĖ, V., BUDRIŪNIENĖ, D., RIMKIENĖ, S., VIŠKELIS, P. Investigations of *Vaccinium macrocarpon* Ait. fruits chemical composition. *Dendrologia Lithuaniae*, 1998, Iss. IV, p. 55-62.
8. RAYBAUDI-MASSILIA, R. M., MOSQUEDA-MELGAR, J., MARTÍN-BELLOSO, O. Antimicrobial activity of malic acid against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* O157:H7 in apple, pear and melon juices. *Food Control*, 2009, Vol. 20, p. 105-112.
9. TERRIS, M.K., ISSA, M.M., TACKER, J.R. Dietary supplementation with cranberry concentrate tablets may increase the risk of nephrolithiasis. *Urology*, 2001, Vol. 57, p. 26-29.
10. TREHANE, J. *Blueberries, Cranberries and Other Vacciniums*. Portland, London, 2004.
11. VILJAKAINEN, S., VISTI, A., LAAKSO S. Concentrations of organic acids and soluble sugars in juices from Nordic berries. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science*, 2002, Vol. 52, p. 101-109.

12. VIŠKELIS, P., RUBINSKIENĖ, M., JASUTIENĖ, I., ŠARKINAS, A., DAUBARAS, R., ČESONIENĖ, L. Anthocyanins, antioxidative, and antimicrobial properties of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) and their press cake. *Journal of Food Science*, 2009, Vol. 74, p. C157–C161.

13. WANG, CH.Y., WANG, S.Y. Effect of storage temperature on fruit quality of various cranberry cultivars. *Acta Horticulturae*, 2009, Vol. 810, p. 853–861.

Laima Česonienė, Remigijus Daubaras, Ina Jasutienė, Inga Miliauskienė

Investigations of organic acids and sugars in berries of European cranberry *Vaccinium oxycoccos*

Summary

Increased interest of consumers on nutraceuticals rich foods reasoned the use of cranberries in the diet in relation to human health. Berries of wild *Vaccinium oxycoccos* clones and cultivars provide large variability for yield, colour and quantities of biologically active compounds. Estimation of different phytochemical components was fulfilled in this study with a main goal to identify and maintain genotypes that have superior attributes such as high organic acids and easy digestible carbohydrates amounts. Forty genotypes of *Vaccinium oxycoccos* were cultivated under the uniform ecological conditions and the most prospective of them were distinguished. The wild clones of Lithuanian origin 98-Č-17 and 98-Č-15 also Estonian cultivars 'Maima' and 'Soontagana' were selected as the most valuable regarding organic acids and glucose amounts.

Cranberries, genotypes, organic acids, fructose, glucose

Gauta 2015 m. kovo mėn., atiduota spaudai 2015 m. balandžio mėn.

Laima ČESONIENĖ. Vytauto Didžiojo universiteto Kauno botanikos sodo biomedicinos mokslų daktarė. Adresas: Ž.E. Žiliberio 6, LT-46324, Kaunas, tel. (8 37) 298272, el. paštas: l.cesoniene@bs.vdu.lt.

Remigijus DAUBARAS. Vytauto Didžiojo universiteto Kauno botanikos sodo biomedicinos mokslų daktaras. Adresas: Žiliberio 6, LT-46324, Kaunas, tel. (8 37) 298272, el. paštas: r.daubaras@bs.vdu.lt

Ina JASUTIENĖ. Kauno technologijos universiteto Maisto instituto technologijos mokslų daktarė. Adresas: Taikos pr. 92, LT-51180, Kaunas, tel. (8 37) 312393, el. paštas: ina.jasutiene@lmai.lt

Inga MILIAUSKIENĖ. Kauno technologijos universiteto Maisto instituto jaunesnioji mokslo darbuotoja. Adresas: Taikos pr. 92, LT-51180, Kaunas, tel. (8 37) 312393, el. paštas: inga.miliauskiene@lmai.lt

Laima ČESONIENĖ. Kaunas Botanical Garden of Vytautas Magnus University, doctor of biomedical sciences. Address:

Ž.E. Žiliberio 6, LT-46324, Kaunas, phone: (8 37) 298272, e-mail: l.cesoniene@bs.vdu.lt.

Remigijus DAUBARAS. Kaunas Botanical Garden of Vytautas Magnus University, doctor of biomedical sciences. Address: Ž.E. Žiliberio 6, LT-46324, Kaunas, phone: (8 37) 298272, e-mail: r.daubaras@bs.vdu.lt.

Ina JASUTIENĖ. Food Institute of Kaunas University of Technology, doctor of technological sciences. Address: Taikos pr. 92, LT-51180, Kaunas, phone: (8 38-37) 312393, e-mail: ina.jasutiene@lmai.lt.

Inga MILIAUSKIENĖ. Food Institute of Kaunas University of Technology, doctor junior researcher. Address: Taikos pr. 92, LT-51180, Kaunas, phone: (8 38-37) 312393, e-mail: inga.miliauskiene@lmai.lt