

URSZULA SAMOTYJA, TOMASZ ZDZIEBŁOWSKI,
MIROŚLAWA SZLACHTA, MARIA MAŁECKA

PRZECIWUTLENIAJĄCE WŁAŚCIWOŚCI EKSTRAKTÓW Z KIEŁKÓW ROŚLIN

Streszczenie

Celem pracy była ocena właściwości przeciwutleniających etanolowych ekstraktów z kielków pszenicy, soczewicy, słonecznika, rzodkwi i fasoli mung. W ekstraktach oznaczono zawartość związków fenolowych metodą Folina-Ciocalteu'a oraz oceniono właściwości przeciwutleniające testem FRAP oraz z rodnikiem DPPH. Zawartość związków fenolowych w badanych ekstraktach była zróżnicowana i mieściła się w przedziale od 4,1 do 31,7 mg/g s.m. ekstraktu (w przeliczeniu na kwas kawowy). Największą zawartość związków fenolowych stwierdzono w ekstrakcie z kielków słonecznika, a następnie z rzodkwi, które jednocześnie charakteryzowały się najsilniejszymi właściwościami przeciwutleniającymi. Przeprowadzone badania pozwoliły na stwierdzenie wysokiej korelacji pomiędzy zawartością związków fenolowych a właściwościami przeciwutleniającymi badanych ekstraktów.

Słowa kluczowe: pszenica, soczewica, słonecznik, rzodkiew, fasola mung, kielki, naturalne przeciwutleniacze, aktywność przeciwutleniająca, DPPH, FRAP

Wprowadzenie

Wiele uwagi poświęcono przeciwutleniającym właściwościom różnych części roślin. Powszechnie dostępne preparaty roślinne są akceptowane ze względu na naturalne pochodzenie surowca, a ich możliwe korzystne oddziaływanie na zdrowie człowieka jest związane m.in. ze wspomaganie sił obronnych organizmu przeciw stresowi oksydacyjnemu. Przypuszcza się, że szkodliwe oddziaływanie wolnych rodników przyczynia się do wystąpienia zmian miażdżycowych, schorzeń układu sercowo-naczyniowego oraz wielu innych stanów chorobowych [1].

Związki wykazujące działanie przeciwutleniające występują w wielu częściach roślin – owocach, nasionach, skórkach, liściach, korzeniach [15]. Naturalnym źródłem

Dr inż. U. Samotyja, mgr inż. T. Zdziebłowski, mgr inż. M. Szlachta, dr hab. M. Malecka, prof. AE, Katedra Towaroznawstwa Żywności, Wydz. Towaroznawstwa, Akademia Ekonomiczna, al. Niepodległości 10, 60-967 Poznań

przeciwutleniaczy są także kielki roślin, cenione ponadto jako źródło witamin, składników mineralnych i błonnika [3, 6]. Ze względu na dostępność oraz łatwość i niewielki koszt hodowania, kielki mogą być częścią składową codziennej diety, a obecność dodatkowych składników wykazujących korzystny wpływ na zdrowie człowieka pozwala zaliczyć je do żywności funkcjonalnej.

Asortyment nasion, które można poddać kiełkowaniu jest bardzo szeroki. Hodować można np. kielki pszenicy, owsa, prosa, jęczmienia, rzodkwi, fasoli mung, gryki, lucerny, rzeżuchy, dyni, słonecznika, groszku zielonego, soczewicy, żyta, ryżu, soi, kapusty, kukurydzy. Poszczególne ziarna charakteryzują się zróżnicowanym czasem oraz wydajnością kiełkowania, różne są też walory sensoryczne kielków. Stwierdzono, że w czasie kiełkowania wzrasta zawartość tokoferoli, kwasu askorbinowego oraz związków fenolowych, w tym wolnych kwasów fenolowych [5, 7, 16]. Aktywność przeciwutleniająca kielków zależy od warunków hodowli [8, 17]. Zróżnicowanie składu chemicznego nasion poszczególnych odmian sugeruje, że po skiełkowaniu będą one stanowiły zróżnicowane źródło związków wykazujących działanie przeciwutleniające.

Celem pracy było porównanie właściwości przeciwutleniających ekstraktów uzyskanych z kielków wybranych roślin.

Material i metody badań

Przedmiotem badań były etanolowe ekstrakty kielków pszenicy, soczewicy, słonecznika, rzodkwi i fasoli mung. Zakres badań obejmował oznaczenie zawartości związków fenolowych oraz ocenę właściwości przeciwutleniających w teście z rodnikiem DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylhydrazyl) i w teście oceny siły redukującej FRAP (ang. Ferric-Reducing Antioxidant Power).

Nasiona zakupiono w sklepie z żywnością naturalną w Poznaniu. Przy wyborze nasion kierowano się ich popularnością oraz walorami smakowymi. Kielki hodowano w kiełkownicy, nawadniano dwa razy dziennie i zbierano w trzecim, czwartym albo piątym dniu, tj. w czasie osiągnięcia optymalnych właściwości konsumpcyjnych kielków. Zebrane kielki liofilizowano, rozdrabniano w młynku laboratoryjnym i poddawano 3-krotnej ekstrakcji etanolem [10].

Zawartość związków fenolowych ogółem w ekstraktach kielków oznaczano metodą Folina-Ciocalteu'a, przy użyciu odczynnika firmy Sigma-Aldrich, przy długości fali 725 nm [14]. Krzywą wzorcową wykonano z użyciem kwasu kawowego (Sigma-Aldrich).

Aktywność przeciwrodnikową ekstraktów badano według Sanchez–Moreno i wsp. [13] przy długości fali 515 nm, z modyfikacją polegającą na użyciu etanolowego roztworu DPPH (Sigma-Aldrich, 0,025 g/1000 cm³ 96% etanolu). Procent niewygaszonego rodnika DPPH obliczano na podstawie krzywej wzorcowej. Miarę aktywności przeciwrodnikowej stanowił parametr AE, wyznaczony zgodnie z równaniem:

$$AE = \frac{1}{EC_{50} \cdot T EC_{50}}$$

w którym:

AE – aktywność przeciwrodnikowa,

EC₅₀ – stężenie przeciwutleniacza potrzebne do obniżenia początkowej zawartości rodnika DPPH o połowę,

T EC₅₀ – czas potrzebny do osiągnięcia stałego stężenia rodnika DPPH przy stężeniu ekstraktu wynoszącym EC₅₀.

Właściwości redukujące ekstraktów oceniono na podstawie testu FRAP przy długości fali 725 nm [2]. Tripyridylotriazyna (TPTZ) pochodziła z firmy Fluka. Wyniki wyrażono w przeliczeniu na aktywność Troloxu (Sigma-Aldrich).

Pomiary absorbancji dokonywano za pomocą spektrofotometru Genesys 6 (Thermo Spectronic).

Wyniki stanowią średnią arytmetyczną z trzech powtórzeń testów przeprowadzonych na dwóch równoległych próbkach.

Wyniki i dyskusja

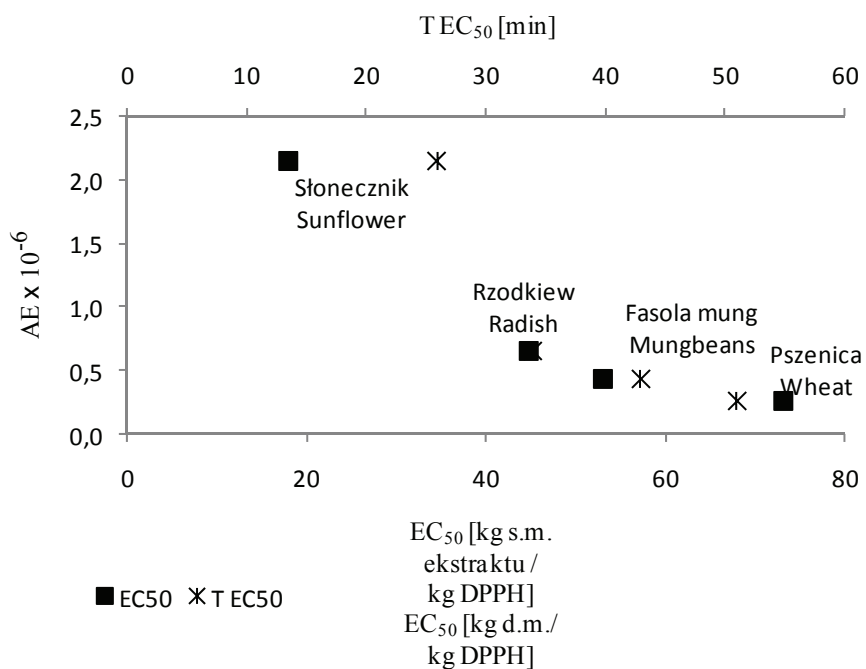
W tab. 1. przedstawiono zawartość związków fenolowych oraz aktywność przeciwutleniającą etanolowych ekstraktów kielków. Badane ekstrakty znacznie różniły się zarówno pod względem ogólnej zawartości związków fenolowych, jak również właściwości przeciwutleniających. Najbogatsze źródło przeciwutleniaczy stanowił ekstrakt z kielków słonecznika. Zawierał on największą ilość związków fenolowych spośród badanych ekstraktów, prawie dwukrotnie więcej niż ekstrakt z kielków rzodkwi i kilkakrotnie (5,5-7,7) razy więcej niż ekstrakty z kielków fasoli mung, pszenicy i soczewicy. Ekstrakt z kielków słonecznika charakteryzował się również najwyższymi właściwościami przeciwutleniającymi, ocenionymi w teście FRAP oraz z rodnikiem DPPH. Drugi pod względem właściwości przeciwutleniających był ekstrakt z kielków rzodkwi. Pozostałe ekstrakty wykazały relatywnie niską, zbliżoną do siebie aktywność w teście FRAP, zaś przeciwrodnikowo w najniższym stopniu działał ekstrakt z kielków soczewicy, który po 40 min inkubacji wygasił zaledwie 5,5% rodnika DPPH.

Parametr aktywności przeciwrodnikowej (AE) uwzględnia zarówno siłę (EC₅₀), jak i szybkość działania (T EC₅₀) przeciwutleniaczy. Ekstrakt z kielków słonecznika najsilniej i w najkrótszym czasie dezaktywował rodnik DPPH, co w ogólnej klasyfikacji AE umiejscawia go na pierwszym miejscu (rys. 1). W pozostałych badanych ekstraktach stwierdzono podobną zależność siła-szybkość działania.

Tabela 1

Zawartość związków fenolowych oraz właściwości przeciwutleniające ekstraktów kielków.
Phenolic compounds content and antioxidant properties of sprouts extracts.

Pochodzenie ekstraktu Extract origin	Związki fenolowe ogółem [mg/g s.m.] Total phenolics [mg/g d.m.]	FRAP [$\mu\text{mol Troloxu/g s.m.}$] [$\mu\text{mol of Trolox/g d.m.}$]	[%] wygaszonego DPPH po 40 min inkubacji [%] of DPPH scavenged after 40 min of incubation
Słonecznik Sunflower	31,7 \pm 0,6	23,8 \pm 0,1	84,1 \pm 0,0
Rzodkiew Radish	16,5 \pm 0,5	9,0 \pm 0,0	69,6 \pm 0,1
Fasola mung Mungbeans	5,7 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1	18,1 \pm 0,3
Pszenica Wheat	5,1 \pm 0,1	1,6 \pm 0,1	19,7 \pm 0,2
Soczewica Lentil	4,1 \pm 0,1	1,3 \pm 0,1	5,5 \pm 0,1



Rys. 1. Parametry aktywności przeciwrodnikowej ekstraktów kielków.

Fig. 1. Parameters of antiradical activity of sprouts extracts.

W celu oceny aktywności przeciwutleniającej związków fenolowych zawartych w ekstraktach, parametr EC_{50} wyrażono również z uwzględnieniem ich zawartości jako ilość związków fenolowych (a nie ekstraktu) potrzebna do obniżenia początkowej zawartości DPPH o połowę (tab. 2).

Tabela 2

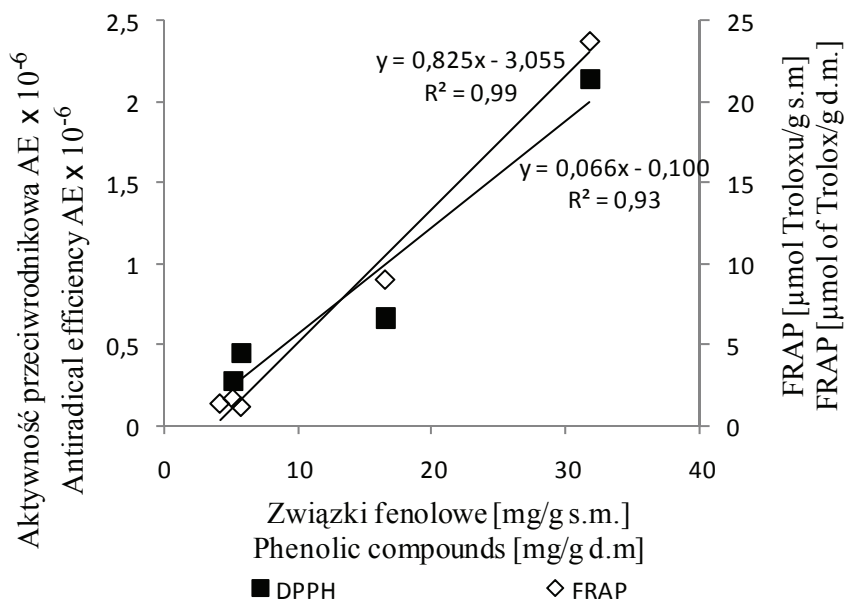
Parametry aktywności przeciwrodnikowej przeciwutleniaczy w ekstraktach kiełków.

Parameters of antiradical activity of antioxidant present in sprouts extracts.

Pochodzenie ekstraktu Extract	EC_{50} [g związków fenolowych /kg DPPH] EC_{50} [g phenolic compounds /kg DPPH]	TEC_{50}	$AE \times 10^{-3}$
Słonecznik Sunflower	569	26	0,47
Rzodkiew Raphanus	735	34	0,53
Fasola mung Mungbeans	303	43	1,73
Pszenica Wheat	374	51	1,62

W takim ujęciu, najwyższą aktywność przeciwrodnikową wykazały czynne związki ekstraktu z kiełków fasoli mung ($1,73 \times 10^{-3}$) i pszenicy ($1,62 \times 10^{-3}$), porównywalną z aktywnością kwasu kawowego ($1,72 \times 10^{-3}$) i ferulowego ($1,80 \times 10^{-3}$) [12], a aktywność przeciwutleniaczy z kiełków słonecznika i rzodkwi można porównać do aktywności tokoferolu ($0,52 \times 10^{-3}$) [13] i czynnych składników ekstraktu z rozmarynu ($0,25-0,45 \times 10^{-3}$) [11]. Odwrócona sekwencja ekstraktów (w porównaniu z przedstawioną na rys. 1) świadczy o wysokiej aktywności związków zawartych w pszenicy i fasoli mung.

Wyniki badań wskazują na istnienie pozytywnej korelacji między zawartością związków fenolowych a aktywnością przeciwrodnikową (AE) badanych ekstraktów (rys. 2), która może świadczyć o wpływie tych związków na właściwości przeciwutleniające kiełków roślin. Badania prowadzone przez innych autorów dowiodły znaczącego udziału związków fenolowych w całkowitej pojemności przeciwutleniającej kiełków sojowych [18] i aktywności przeciwutleniającej kozieradki [4].



Rys. 2. Zależność między zawartością związków fenolowych i właściwościami przeciwutleniającymi ekstraktów z kielków roślin.

Fig. 2. Relationship between content of phenolic compounds and antioxidant properties of extracts of germinated seeds.

Wnioski

1. Ekstrakty kielków wykazują właściwości przeciwutleniające, które zależą od rodzaju surowca.
2. Istnieje dodatnia korelacja między właściwościami przeciwutleniającymi badanych ekstraktów a zawartością związków fenolowych.
3. Kielki badanych roślin, a zwłaszcza słonecznika i rzodkwi, mogą stanowić cenne uzupełnienie diety w substancje o działaniu przeciwutleniającym.

Praca była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.

Literatura

- [1] Aruoma O.I.: Free radicals, antioxidants and international nutrition. *Asia Pacific J. Clin. Nutr.*, 1999, **8**, 53-63.
- [2] Benzie I.F., Strain J.J.: The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as measurement of "antioxidant power": The Frap assay. *Anal. Biochem.*, 1996, **239**, 70-76.
- [3] Chen L.H., Wells C.E., Fordham J.R.: Germinated seeds for human consumption. *J. Food Sci.*, 1975, **40**, 1290-1294.

- [4] Dixit P., Ghaskadbi S., Mohan H., Devasagayam T.P.: Antioxidant properties of germinated fenugreek seeds. *Phytother Res.*, 2005, **19**, 977-983.
- [5] Doblado R., Frias J., Vidal-Valverde C.: Changes in vitamin C content and antioxidant capacity of raw and germinated cowpea (*Vigna sinensis* var. carilla) seeds induced by high pressure treatment. *Food Chem.*, 2007, **101**, 918-923.
- [6] Hanninen O., Kaartinen K., Rauma A.-L., Nenonen M., Torronen R., Hakkinen S., Adlercreutz H., Laakso J.: Antioxidants in vegan diet and rheumatic disorders. *Toxicology*, 2000, **155**, 45-53.
- [7] Kozłowska H., Zieliński H., Buciński A., Piskula M.K.: Składniki biologicznie czynne w kielkach nasion rzepaku. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, 2003, **XXIV**, **1**, 23-32.
- [8] McCue P., Kalidas S.: Clonal herbal extracts as elicitors of phenolic synthesis in dark-germinated mungbeans for improving nutritional value with implications for food safety. *J. Food Biochem.*, 2002, **26**, 209-232.
- [10] Pacholek B., Małecka M.: Pestki z czarnej porzeczki jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, 2000, **XXI**, **2**, 675-682.
- [11] Samotyja U., Małecka M.: Effects of blackcurrant seeds extract and rosemary extracts on oxidative stability of bulk and emulsified lipid substrates. *Food Chemistry*, 2007, **104** (1), 317-323.
- [12] Samotyja U., Małecka M., Klimczak I.: Skład i właściwości przeciwdrobnikowe fenolokwasów słodu. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2002, **3**, 67-76.
- [13] Sanchez -Moreno C., Larrauri J. A., Saura – Calixto F.: A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agric.*, 1998, **76**, 270 – 276.
- [14] Singleton V.L., Rossi J.A. jr.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1965, **16**, 144-158.
- [15] Schwarz K., Bertelsen G., Nissen L.R., Gardner P.T., Heinonen M.I., Hopia A., Huynh – Ba T., Lambelet P., McPhail D., Skibsted L.H., Tijburg L.: Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. *Eur. Food Res. Technol.*, **212**, 2001, 319.
- [16] Tian S., Nakamura K., Kayahara H.: Analysis of phenolic compounds in white rice, brown rice and germinated brown rice. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 4808-4813.
- [17] Yang F., Basu T.K., Ooraikul B.: Studies on germination conditions and antioxidant contents of wheat. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2001, **52**, 319-330.
- [18] Zieliński H., Contribution of low molecular weight antioxidants to the antioxidant screen of germinated soybean seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2003, **58**, 1-20.

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF EXTRACTS OF GERMINATED SEEDS

S u m m a r y

The aim of investigation was the evaluation of antioxidant activity of extracts of germinated seeds of wheat, lentil, sunflower, radish and mungbeans. Total phenolics content was measured by Folin-Ciocalteu method and the antiradical (in test with DPPH[•] radical) and reducing properties (in test FRAP) of extracts were investigated. The content of phenolic compounds content in extracts was various and covered from 4,1 do 31,7 mg/g of d.m. of extract (in caffeic acid equivalent). The extracts from sunflower and radish contained the highest amounts of phenolics and exhibited the highest antioxidant activity. The results show that there is high correlation between phenolic compounds and antioxidant properties of extracts.

Key words: wheat, lentil, sunflower, radish, mungbeans, sprouts, germinated seeds, natural antioxidants, antioxidant activity, DPPH, FRAP ☒