Całkowita zawartość polifenoli i aktywność antyoksydacyjna nasion, kaszy i kiełków gryki

Total polyphenol content and antioxidant activity of seeds, groats and buckwheat sprouts

Joanna Chłopicka, Karolina Bonarska

Zakład Bromatologii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków,
e-mail: joanna.chlopicka@uj.edu.pl

Słowa kluczowe: całkowita zawartość polifenoli, aktywność antyoksydacyjna, kiełki, gryka,
Keywords: total polyphenols content, antioxidant activity, sprouts, buckwheat

Streszczenie

Gryka (*Fagopyrum esculentum* Moench) jest jednoroczną rośliną należącą do rodziny rdestowatych (*Polygonaceae*). Spożywa się ją głównie w postaci kaszy, a w zależności od procesu wytwarzania otrzymujemy następujące kasze: prażona, nieprażona (biała), kaszka krakowska (nieprażone łamane ziarna). Nasiona gryki doskonale nadają się do hodowli kiełków, które są cennym produktem spożywczym, zawierającym mało kalorii, a dużo składników mineralnych, kwasów organicznych, witamin oraz polifenoli. Celem pracy było oznaczenie w nasionach gryki, w kaszy gryczanej i w kiełkach gryki (w różnym dniu kiełkowania i w różnych częściach kiełków) aktywności antyoksydacyjnej metodą FRAP oraz całkowitej zawartości polifenoli, metodą Folina-Ciocalteu'a. Najmniej polifenoli zawierała kasza gryczana i wykazywała najmniejszą aktywność antyoksydacyjną. Kiełkowanie wpłynęło na zwiększenie aktywności antyoksydacyjnej i całkowitej zawartości polifenoli. Liścienie uzyskanych kiełków charakteryzowały się najsilniejszymi właściwościami antyoksydacyjnymi i najwyższą całkowitą zawartością polifenoli. Stwierdzono silną korelację pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną a całkowitą zawartością polifenoli we wszystkich badanych próbach.

Summary

Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) is one-year-old plant belonging to the *Polygonaceae* family. It is mainly consumed in the form of groats. Depending on the process of preparation we distinguish: buckwheat groats roasted, unroasted (white), "krakowska cereal" (unroasted broken grain). Buckwheat seeds can also be used to produce sprouts that appear to be valuable food products, are low in calories and rich in minerals, organic acids, vitamins and polyphenols. This study examined the antioxidant properties and total polyphenol content in extracts from buckwheat seeds, groats, and sprouts (and their parts) obtained after different days of germination. Antioxidant activity measured by the ferric ion reducing antioxidant power assays (FRAP), and total polyphenol content estimated

using Folin-Ciocalteu reagent. Buckwheat groats extract showed the lowest antioxidant activity and lowest total polyphenols content. Total phenol content and antioxidant activity was found to increase after sprouting. The leaves of the sprouts were characterized by the strongest antioxidant properties and the total polyphenol content. There were significant positive correlations between antioxidant activity and total polyphenol content for all samples tested.

Wstęp

Gryka (*Fagopyrum esculentum* Moench) jest przedstawicielem pseudozboż, jednak ze względu na sposób jej uprawiania i wykorzystanie, bywa niekiedy zaliczana do grupy roślin zbożowych. W składzie chemicznym ziarniaków gryki na uwagę zasługuje białko, które cechuje się zbilansowanym składem aminokwasowym z dość dużą ilością lizyny, która dla większości roślin zbożowych jest aminokwasem ograniczającym jakość białka.

Białko zawarte w gryce ma właściwości obniżające cholesterol, co jest spowodowane mniejszym niż w innych zbożach stosunkiem ilościowym aminokwasów: lizyny do argininy i metioniny do glicyny; wpływa też na regulację wątrobowych receptorów lipoproteinowych (LDL). Grykę charakteryzuje niska strawność, co jest związane z obecnością w niej garbników, kwasów fitynowych i inhibitorów proteaz [1–3]. Nasiona gryki i wytworzona z niej kasza jest bogata w składniki mineralne, szczególnie w magnez, witaminy (głównie z grupy B), błonnik oraz w inne związki o dużej aktywności biologicznej [4, 5]. Obecność substancji prozdrowotnych w gryce sprawia, że jest ona obecnie wykorzystywana w przemyśle: spożywczym, farmaceutycznym i kosmetycznym. Produkty z gryki (mąka, otręby) są coraz częściej wykorzystywane jako dodatek do produkcji chleba, makaronów, naleśników, kleików gryczano-ryżowych czy herbatek prozdrowotnych. W ostatnim czasie coraz bardziej popularna staje się także produkcja kiełków roślinnych, ze względu na zwiększenie atrakcyjności diety przez nowe produkty żywnościowe. Podczas kiełkowania w wyniku uaktywnienia się enzymów zwiększa się zarówno stężenie, jak i biodostępność wielu składników zawartych w nasionach. Kiełki gryki, w porównaniu do nasion, charakteryzują się większym stężeniem rutyny, kwercetyny, witaminy C, kwasu aminomasłowego, wykazują też bardzo silne działanie antyoksydacyjne. W kiełkach zmniejsza się także zawartość związków antyodżywczych, np. kwasu fitynowego utrudniającego wchłanianie wielu składników mineralnych. Kiełki gryki wykazują działanie przeciwzapalne, antyoksydacyjne, hipotensyjne, hipoglikemizujące oraz obniżające stężenie

cholesterolu we krwi, dlatego też zaleca się, aby produkt ten wzbogacał codzienną dietę [6-12].

Celem pracy było oznaczenie aktywności antyoksydacyjnej oraz całkowitej zawartości polifenoli w nasionach, kaszy i kielkach gryki zwyczajnej.

Materiał i metody

Materiałem badawczym były: ziarna gryki, kasza gryczana, 4-, 7- i 9-dniowe świeże oraz 10-dniowe świeże i liofilizowane kielki gryki zwyczajnej *Fagopyrum esculentum* Moench. Ziarna gryki, odmiany Panda, przeznaczone do kiełkowania uzyskano z Zakładu Hodowlano-Produkcyjnego Palikije. Ziarna zostały wstępnie namoczone w wodzie, a następnie umieszczone w dwupoziomowych naczyniach do kiełkowania (Bio-Natura) i podlewane dwa razy dziennie wodą o temperaturze pokojowej. Kielki hodowano w temperaturze pokojowej (22-24°C) w warunkach naturalnego oświetlenia oraz równolegle bez dostępu światła. Następnie zebrano w 4, 7, 9 oraz 10 dniu kiełkowania (kielki zebrane w 10 dniu zliofilizowano). W kielkach zebranych w 7 i 9 dniu wzrostu oddzielono: liścienie, korzonki i łodyżki, dodatkowo zebrano łupiny nasienne ziaren, z których wyrosły kielki. Kasza gryczana prażona została zakupiona w sklepie, na terenie Krakowa, producentem była spółka MELVIT S.A.

Z odważonych i roztartych w moździerzu materiałów do badań (2 g), wykonano sekwencyjnie ekstrakty acetonem (40 ml) i metanolem (40 ml) przy użyciu wytrząsarki laboratoryjnej (Laboratory Shaker typ 358S) przez 3 godziny. Połączone ekstrakty odwirowano w ciągu 15 minut (11000 obr/min) za pomocą wirówki High Speed Brushless Centrifuge (MPW-350). Liofilizację kielków gryki wykonano za pomocą liofilizatora laboratoryjnego STERIS Lyovac GT2 z pompą próżniową. Przed liofilizacją próbki kielków zamrażano w temperaturze -20°C przez 12 godzin. Liofilizację prowadzono pod zmniejszonym ciśnieniem (<0,1 mbar) przez 72 godziny. Aktywność antyoksydacyjną uzyskanych roztworów zbadano metodą FRAP, która oparta jest na tworzeniu związku o intensywnie niebieskim zabarwieniu, w wyniku redukcji jonów Fe^{3+} , tworzących kompleks z TPTZ (2,4,6-tris(2-pyridylo)-1,3,5-triazyną), do jonów Fe^{2+} . Związek ten wykazuje maksimum absorpcji przy długości fali $\lambda = 593\text{nm}$. Pomiarów wykonano w 30 minucie od zapoczątkowania reakcji [11].

Całkowitą zawartość polifenoli oznaczono kolorymetrycznie przy użyciu odczynnika Folina-Ciocalteu'a, który stanowi mieszaninę wolframianu sodu

(Na_2WO_4), molibdenianu sodu (Na_2MoO_4), siarczanu litu (Li_2SO_4), wody bromowej oraz stężonego kwasu solnego i fosforowego. W wyniku reakcji redukcji, jaka zachodzi pomiędzy związkami polifenolowymi a związkami Mo i W, w środowisku alkalicznym, powstają tlenki Mo i W o intensywnym, niebieskim zabarwieniu. Absorpcję odczytano przy dwóch długościach fali $\lambda = 725 \text{ nm}$ i $\lambda = 760 \text{ nm}$ i wyrażono jako ekwiwalent kwasu galusowego (GAE) [12]. Analizę statystyczną wykonano z wykorzystaniem programu Statistica 5.1 firmy Stat-Soft. Do zbadania istotności otrzymanych wyników zostały wykorzystane testy nieparametryczne Kołgomorowa-Smirnowa oraz U Manna-Whitneya. Jako krytyczny poziom istotności przyjęto $p \leq 0,05$.

Wyniki badań i dyskusja

Wyniki badań aktywności antyoksydacyjnej nasion kaszy i kiełków przedstawiono na Rysunku 1. Najmniejszą aktywnością antyoksydacyjną cechowała się kasza gryczana (13,17 mM Fe/kg św.m), największą zaś kiełki zliofilizowane (181,93 mM Fe/kg św.m). Różnica ta była znamienna statystycznie $p < 0,0001$. Kiełki charakteryzowały się większą aktywnością antyoksydacyjną niż nasiona, z których wyrosły, podobne zależności uzyskali w swoich pracach Alvarez-Jubete i wsp. [13], Paśko i wsp. [14] i Kim i wsp. [5]. Natomiast kasza gryczana wykazywała małą aktywność antyoksydacyjną, co jest zbieżne z danymi literaturowymi [15-16]. W przypadku kiełków gryki różnice pomiędzy a.a. (aktywność antyoksydacyjna) w kolejnych dniach wzrostu nie były zbyt duże. Większe różnice występowały jedynie pomiędzy nasionami, w których aktywność antyoksydacyjna wynosiła 50,42 mM Fe/kg św.m., a 4-dniowymi kiełkami w których stwierdzono 74,72 i 78,29 mM Fe/kg św.m. odpowiednio dla kiełków hodowanych z dostępem i bez dostępu światła. W kiełkach, jedynie w przypadku łączy, stwierdzono obniżenie aktywności antyoksydacyjnej pomiędzy 7 a 9 dniem hodowli (z 18,68 mM Fe/kg św.m. do 14,02 mM Fe/kg św.m. zmiana istotnie statystyczna $p < 0,05$) w kiełkach rosnących z dostępem światła. W kiełkach rosnących w ciemności, spadek aktywności antyoksydacyjnej pomiędzy 7 a 9 dniem odnotowano jedynie w łupinach nasiennych (z 42,91 mM Fe/kg św.m. do 28,68 mM Fe/kg św.m.). Różnice pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną kiełków rosnących w ciemności i na świetle były nieistotne statystycznie, natomiast wyraźną różnicę aktywności antyoksydacyjnej stwierdzono pomiędzy ekstraktami z korzeni kiełków w 9 dniu wzrostu na świetle (84,48 mM Fe/kg św.m.) w odniesieniu do tych rosnących w ciemności (58,68 mM Fe/kg św.m.).

Całkowitą zawartość polifenoli w nasionach, kaszy gryczanej i kielkach przedstawiono na Rysunku 2. Najwyższą całkowitą zawartością polifenoli odznaczały się ekstrakty ze zliofilizowanych kielków gryki, która wynosiła 22,35 mg GAE/g św.m., natomiast ekstrakt z kaszy gryczanej zawierał ich najmniej (1,9 mg GAE/g św.m.). Niską całkowitą zawartością polifenoli odznaczały się też łodyżki kielków, która mieściła się w zakresie 2,05-2,55 mg GAE/g św.m. Pomędzy 7 a 9 dniem wzrostu odnotowano spadek zawartości polifenoli w łupinach nasiennych kielków rosnących zarówno na świetle, jak i w ciemności oraz w liścieniach rosnących w ciemności. Wzrost zawartości polifenoli stwierdzono w korzeniach i łodyżkach rosnących na świetle i w ciemności oraz w liścieniach rosnących na świetle. Różnice w zawartości polifenoli były statystycznie istotne ($p < 0,05$). Większą zawartością polifenoli odznaczały się ekstrakty z kielków (bądź ich poszczególnych części) rosnących w ciemności niż z kielków rosnących na świetle.

Nasiona gryki wykazały znacznie wyższą całkowitą zawartość polifenoli (990 mg GAE/100 g św. m.) niż podane w pracy Alvarez-Jubete i wsp., gdzie zawierały 320 mg GAE/100 g św. m. [14]. Korelacja wyników pomiarów aktywności antyoksydacyjnej (FRAP) oraz całkowitej zawartości polifenoli była wysoka ($R = 0,86$, $p < 0,05$). Na tej podstawie możemy stwierdzić, że istnieje silna zależność pomiędzy zawartością polifenoli, a tym, jaką aktywność przeciwutleniającą wykazują nasiona, kasza oraz kielki gryki.

Wnioski

1. Kielkowanie gryki było procesem wpływającym na zwiększenie aktywności antyoksydacyjnej i całkowitej zawartości polifenoli w porównaniu do nasion.
2. Liścienie kielków gryki, niezależnie od warunków hodowli i od dnia kielkowania, charakteryzowały się największą aktywnością antyoksydacyjną i całkowitą zawartością polifenoli.
3. Kasza gryczana w porównaniu do nasion i kielków gryki zawierała najmniej związków należących do grupy polifenoli, przez co wykazała niską aktywność antyoksydacyjną.
4. Warunki hodowli, takie jak ekspozycja na światło słoneczne, lub jej brak, w nieznacznym stopniu wpływała na całkowitą zawartość polifenoli oraz na aktywność antyoksydacyjną uzyskanych kielków gryki.
5. Stwierdzono silną korelację pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną i całkowitą zawartością związków o budowie polifenolowej w nasionach i kielkach gryki.

Całkowita zawartość polifenoli i aktywność antyoksydacyjna...

Rysunek 1. Aktywność antyoksydacyjna (FRAP) nasion, kaszy kielków i łupin nasiennych uzyskanych z ziaren gryki zwyczajnej

Rysunek 2. Całkowita zawartość polifenoli (TP) w nasionach, kaszy, kielkach i w łupinach nasiennych uzyskanych z ziaren gryki zwyczajnej. Wyniki wyrażono jako ekwiwalent kwasu galusowego (GAE)

Literatura

- [1] Wijngaard H. H., Arendt E. K., Buckwheat, Cereal Chemistry, 2006, 83.4, s. 391–401.
- [2] Li J., Gong F., Li F., Hypoglycemic and hypolipidemic effects of flavonoids from tatary buckwheat in type 2 diabetic rats, Biomedical Research, 2016, 27, s. 1–17.
- [3] Christa K., Soral-Śmietana M., Buckwheat grains and buckwheat products–nutritional and prophylactic value of their components–a review, Czech Journal of Food Sciences, 2008, 26(3), s. 153–162.
- [4] Zhang Z.L., Zhou M.L., Tang Y., Li F.L., Tang Y.X., Shao J.R., Xue W.T., Wu Y.M., Bioactive compounds in functional buckwheat food, Food Research International, 2012, 49(1), s. 389–395.

- [5] Kim, S.L., Kim S.K., Park Ch.H., Introduction and nutritional evaluation of buckwheat sprouts as a new vegetable, *Food Research International*, 2004, 37(4), s. 319–327.
- [6] Lin L.Y., Peng Ch.Ch, Yang Y.L., Peng R.Y., Optimization of bioactive compounds in buckwheat sprouts and their effect on blood cholesterol in hamsters, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(4), s. 1216–1223.
- [7] Watanabe M., Ayugase J., Effects of buckwheat sprouts on plasma and hepatic parameters in type 2 diabetic db/db mice, *Journal of Food Science*, 2010, 75(9), s. 294–299.
- [8] Merendino, N., A new “functional” pasta containing tartary buckwheat sprouts as an ingredient improves the oxidative status and normalizes some blood pressure parameters in spontaneously hypertensive rats, *Food & Function*, 2014, 5(5), s. 1017–1026.
- [9] Zhou X., Wang Q., Yang Y., Zhou Y., Tang W., Li Z., Anti-infection effects of buckwheat flavonoid extracts (BWFEs) from germinated sprouts, *Journal of Medicinal Plants Research*, 2012, 6(1), s. 24–29.
- [10] Koyama M., Nakamura C., Nakamura C., Changes in phenols contents from buckwheat sprouts during growth stage, *Journal of Food Science and Technology*, 2013, 50(1), s. 86–93.
- [11] Benzie I., Strain J., The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay, *Analytical Biochemistry*, 1996, 239(1), s. 70–76.
- [12] Singleton V., Orthofer R., Lamuela-Raventós R., M., Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, *Methods in Enzymology*, 1999, 299, s. 152–178.
- [13] Alvarez-Jubete, L., Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking, *Food Chemistry*, 2010, 119(2), s. 770–778.
- [14] Paśko P., Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth, *Food Chemistry*, 2009, 115(3), s. 994–998.
- [15] Filipiak–Florkiewicz A., Florkiewicz A., Wpływ obróbki hydrotermicznej na zawartość składników odżywczych i bioaktywnych kasz i ryżu, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2016, 6(109), s. 64–79.
- [16] Zielinska D., Szawara-Nowak D., Michalska A., Antioxidant capacity of thermally-treated buckwheat, *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 2007, 57(4), s. 465–470.

Do cytowania:

Chłopicka J., Bonarska K., Całkowita zawartość polifenoli i aktywność antyoksydacyjna nasion, kaszy i kielków gryki, *Herbalism*, 2017, 1(3), s. 112–118