

RENATA WOŁOCHKatedra Żywienia Człowieka
Wydział Technologii Żywności
Akademia Rolnicza w Krakowie

Zdolność eliminowania wolnych rodników przez ekstrakty uzyskane z frakcji młynarskich ziarna nieoplewionych i oplewionych form jęczmienia i owsa*

Total phenolics content and free radical scavenging activity in milling fractions of barley and oat grain (naked and covered forms)

Przeprowadzono ocenę wpływu procesu przemiału na zawartość związków fenolowych w ziarnie jęczmienia (nieoplewionego Rastik i oplewionego Start) i owsa (nieoplewionego Akt i oplewionego Kasztan) oraz zdolność eliminowania wolnych rodników przez ekstrakty uzyskane z badanego materiału. Poziom polifenoli w całym ziarnie jęczmienia obu form był wyższy (3,46 i 2,98 mg katechiny/g SM) w porównaniu do analizowanych odmian owsa (2,32 i 2,00 mg katechiny/ g SM). Proces obłuszczenia form oplewionych ziarna jęczmienia i owsa wpłynął na obniżenie zawartości tych związków w obu odmianach odpowiednio: 2,05 i 1,83 mg katechiny/ g SM. Ekstrakty metanolowo-acetoneowe uzyskane z całego ziarna jęczmienia, formy nieoplewionej i oplewionej, wykazywały dwukrotnie wyższą zdolność eliminowania wolnych rodników (56,93 i 60,32%) w porównaniu z analogicznymi ekstraktami otrzymanymi z całego ziarna owsa (32,14 i 34%). Proces obłuszczenia ziarna obu odmian istotnie wpłynął na obniżenie ich aktywności antyoksydacyjnej (41,27 i 23,18%). Najbogatszym źródłem polifenoli były otręby jęczmienne obu form (4,29 i 3,24 mg katechiny/ g SM) charakteryzujące się wysoką zdolnością eliminowania DPPH• (62,7 i 59,09%). Natomiast niższą zawartość tych związków (2,46 i 2,4 mg katechiny/g SM) i aktywność antyoksydacyjną (34,76 i 36,62%) stwierdzono w analogicznych otrębach owsianych. Zdolność eliminowania wolnych rodników DPPH• była ściśle skorelowana ($r = 0,893$) z poziomem związków fenolowych w badanym materiale.

Słowa kluczowe: jęczmień, owies, formy nieoplewionej, formy oplewionej, zawartość polifenoli, zdolność eliminacji DPPH•

The studies were conducted to determine the total phenolics content of whole barley grain (naked cv. Rastik, covered cv. Start forms) and whole oat grain (naked cv. Akt, covered cv. Kasztan) and of their milling fractions: flour and bran. In addition, free radical scavenging activity of extracts obtained

* Pracę wykonano w ramach grantu KBN nr. 3P06T 083 22

from the material was measured. The levels of phenolic compounds in the whole barley grain were higher (3.46 and 2.98 mg catechin/g DM, respectively) than those in the whole oat grain (2.32 and 2.0 mg catechin/ g DM, respectively). The process of husking of covered forms of barley and oats lowered the phenolic content of both species (2.05 and 1.83 mg catechin/g DM). The methanol-acetone extracts of the whole barley grain (naked and covered forms) had twofold higher radical scavenging activity (56.93 and 60.32%) than the extracts obtained from the corresponding oat forms (32.14 and 34%). Husking of the covered forms of barley and oats decreased the antioxidant activity in both species: 41.27 and 23.18%, respectively. The levels of phenolic compounds in barley bran (4.29 and 3.24 mg catechin/ g DM) were higher than those in oat bran (2.46 and 2.40 mg catechin/g DM). The highest radical scavenging activity was noted for barley (62.7 and 59.09%) and oat bran (34.76 and 36.62%) fractions. Significant relationships ($r = 0.893$) were found between the content of phenolic compounds and antioxidant activity of methanol-acetone fractions of barley and oat grain and their milling fractions.

Key words: barley, oats, covered form, naked form, phenolics content, radical scavenging activity, DPPH•

WSTĘP

Występujące w ziarnie jęczmienia i owsa związki fenolowe wykazują silne właściwości antyoksydacyjne (Bravo, 1998). Właściwości te związane są z obecnością katechin, m.in. (+)katechiny i (-)epikatechiny i ich oligomerów oraz kwasów fenolowych (Duve i White, 1991; Goupy i in., 1999). Te ostatnie to pochodne kwasu benzoowego (kwasy: p-hydroksybenzoesowy i wanilinowy) oraz cynamonowego (kwasy: ferulowy, kawowy, p-kumarowy i synapinowy), a także awentramidyna, występująca w ziarniakach owsa (Dimberg i in., 1993). Dominującym związkiem w ziarnie jęczmienia i owsa, a także pszenicy i żyta, jest kwas ferulowy (White i Xing, 1997). Właściwości antyoksydacyjne polifenoli roślinnych polegają na eliminowaniu reaktywnych form tlenu oraz chelatowaniu jonów metali przejściowych, żelaza i miedzi (Rice-Evans i in., 1995). Związki te chronią tym samym organizm człowieka przed stresem oksydacyjnym i zapobiegają rozwojowi chorób chronicznych m.in. miażdżycy naczyń oraz zmianom nowotworowym (Hollman, 2001). Większość omawianych związków występuje w zewnętrznych warstwach okrywy nasiennej, które w procesach technologicznych zostają częściowo lub całkowicie usunięte, co powoduje obniżenie potencjalnych właściwości antyoksydacyjnych końcowego produktu przemiału.

Celem pracy było określenie zawartości związków fenolowych w całym ziarnie jęczmienia i owsa (form nieoplewionej i oplewionej) oraz produktach laboratoryjnego przemiału tych zbóż. Ponadto, stosując stabilny wolny rodnik (DPPH•), określono ogólną zdolność eliminowania wolnych rodników przez ekstrakty metanolowo-acetonowe uzyskane z badanego materiału.

MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto ziarno jęczmienia odmian: Rastik (nagoziarnisty; ZDHAR w Radzikowie) i Start (oplewiony; ZHR w Polanowicach) oraz owsa odmian: Akt (nagoziarnisty; ZDHAR w Strzelcach) i Kasztan (oplewiony; ZHR w Polanowicach). Płewkę z odmian oplewionych usuwano w łuszczarce laboratoryjnej, a następnie, po doprowadzeniu ziarna

do standardowej wilgotności 15,5%, rozdzielano je w młynku laboratoryjnym (TYP QG 109, sito — 0,4 mm) na dwie frakcje: mąkę i otręby. Po przemiale ziarna udział mąki i otrąb wynosił odpowiednio: jęczmień Rastik — 27, 73%, jęczmień Start — 24, 76%, owies Akt — 30, 70% i owies Kasztan — 23, 77%. Próbkę przeznaczoną do analizy rozdrabniano w młynku laboratoryjnym i przesiano przez sito o średnicy oczek 0,4 mm.

Próbki materiału (1 g) ekstrahowano 40 ml 0,16 N HCl w 80% metanolu w temperaturze pokojowej przez 2 h. Ekstrakt wirowano przy 1500 g przez 15 min. Supernatant zachowywano, a pozostałość ponownie ekstrahowano 40 ml 70% acetonu przez kolejne 2 h. Po odwirowaniu (1500 g, 15 min) kolejny supernatant łączono z poprzednim i całość przechowywano w temp. -20°C. Poziom polifenoli oznaczano w uzyskanych ekstraktach metodą Naczek i Shahidi (1989) z odczynnikiem Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany). Zawartość polifenoli wyrażono w mg katechiny/g SM. Zdolność uzyskanych ekstraktów do eliminacji wolnych rodników określono metodą Pekarinen i wsp. (1999) z wykorzystaniem stabilnego wolnego rodnika DPPH•, tj. 2,2-difenylo-1-pikrylo-hydrazylu (90%, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany). DPPH• (4 mg) rozpuszczono w 100 ml 99% metanolu. Następnie rosnące objętości (0,2; 0,5; 1,0; 1,5 ml) ekstraktu metanolowo-acetonowego analizowanych próbek, uzupełniono do 1,5 ml metanolem. Do tak przygotowanych ekstraktów dodawano 3 ml roztworu DPPH•, roztwory mieszało i odczytywano absorbancję wobec metanolu przy 516 nm, w czasie 6 min. Badania wykonano dla każdej próbki w czterech powtórzeniach. Zdolność do eliminacji wolnych rodników (Radical Scavenging Activity: RSA, %) obliczano zgodnie z poniższym wzorem:

$$RSA(\%) = \frac{A_{516nm(0min)} - A_{516nm(6min)}}{A_{516nm(0min)}} \times 100$$

A — absorbancja wobec metanolu, przy 516 nm, odczytana dla próbki na początku (0 min) i po 6 min reakcji (6 min)

Uzyskane wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji. Istotność różnic pomiędzy średnimi oceniano testem wielokrotnego rozstępu na dwóch poziomach prawdopodobieństwa: $P < 0,05$ i $P < 0,01$. Wyniki przedstawiono w postaci średnich ($\pm$ SEM).

WYNIKI I DYSKUSJA

Ekstrakty otrzymane z całego ziarna jęczmienia, form nieoplewionych i oplewionych, charakteryzowały się (tab. 1) wysokim poziomem związków fenolowych (3,46 i 2,98 mg katechiny/g SM). Jednocześnie, proces obłuszczenia ziarna jęczmienia oplewionej odmiany Start, istotnie ($P < 0,05$) wpłynął na obniżenie zawartości tych związków, do poziomu 2,05 mg katechiny/g SM. Poziom polifenoli w ekstraktach otrzymanych z całego ziarna owsa, form nieoplewionych i oplewionych, był istotnie różny (2,32 i 2,00 mg

katechiny/g SM, $P < 0,05$). Podobnie jak w przypadku jęczmienia, obłuszczenie ziarna owsa, oplewionej odmiany Kasztan, zmniejszyło zawartość tych związków do wartości 1,83 mg katechiny/g SM.

Tabela 1

Całkowita zawartość polifenoli w ekstraktach uzyskanych z frakcji młynarskich jęczmienia i owsa (mg katechiny/ g SM)*
Total phenolics content in extracts obtained from barley and oat milling fractions (mg catechin/ g DM)*

Frakcje Fractions	Gatunek — Species							
	jęczmień — barley				owies — oat			
	odmiana — cultivar							
	forma nieoplewiona naked form	forma oplewiona covered form	forma nieoplewiona naked form	forma oplewiona covered form	forma nieoplewiona naked form	forma oplewiona covered form	forma nieoplewiona naked form	forma oplewiona covered form
	Rastik	Start	Akt	Kasztan	Rastik	Start	Akt	Kasztan
Całe ziarno Whole grain	3,46 ± 0,030	j	2,98 ± 0,02	h	2,32 ± 0,02	de	2,0 ± 0,0	be
Obluszczone ziarno Dehulled grain			2,05 ± 0,05	be			1,83 ± 0,05	a
Mąka Flour	2,60 ± 0,01	g	2,29 ± 0,03	c	1,91 ± 0,05	ab	1,91 ± 0,01	ab
Otręby Bran	4,29 ± 0,02	k	3,24 ± 0,01	i	2,46 ± 0,07	f	2,40 ± 0,01	e

* % suchej masy; % dry matter

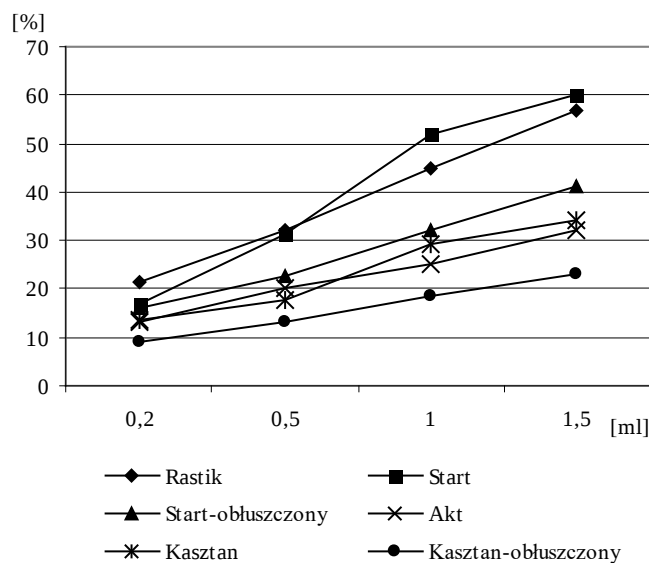
a, b, c, d — Średnie oznaczone różnymi literami w kolumnach różnią się w sposób statystycznie istotny przy $p < 0,05$

a, b, c, d — Means in columns followed by different letters differ significantly at $p < 0.05$

±SEM — Błąd odchylenia standardowego

±SEM — Standard deviation error

Podobnie Kähkönen i wsp. (1999) stwierdzili wyższą zawartość związków fenolowych w ziarnie jęczmienia (0,4 mg kwasu galusowego/g SM) w porównaniu z ziarnem owsa (0,3 mg kwasu galusowego/g SM). Zawartość polifenoli, ekstrahowanych octanem etylu z całego ziarna jęczmienia wahała się w zakresie od 0,024 do 0,34 mg katechiny/g SM (Goupy i in., 1999). Zieliński i Troszyńska, (2000) stwierdzili, że obłuszczony jęczmień ekstrahowany 80% etanolem zawierał 1,12 mg katechiny/g SM, a ekstrahowany buforem fosforanowym 0,55 mg katechiny/g SM. W tej samej pracy, analogiczne ekstrakty uzyskane z ziarna owsa wykazywały niższy poziom polifenoli odpowiednio: 0,67 mg katechiny/g i 0,90 mg katechiny/g SM. W ekstrakcie otrzymanym z całego i obłuszczonego ziarna owsa różnych odmian, poziom polifenoli wynosił odpowiednio: 0,238–0,278 i 0,209–0,294 mg kwasu galusowego/g SM (Emmons i Peterson, 1999). Znaczne różnice w zawartości polifenoli stwierdzono w uzyskanych frakcjach młynarskich obu analizowanych odmian. Mąka jęczmienna charakteryzowała się wyższą zawartością związków fenolowych (Rastik — 2,60 i Start — 2,29 mg katechiny/g SM), w porównaniu z mąką owsianą (Akt i Kasztan — 1,91 mg katechiny/g SM). Najbogatszym źródłem polifenoli były otręby jęczmienne (Rastik — 4,29 i Start — 3,24 mg katechiny/g SM). Natomiast poziom polifenoli w otrębach owsianych był znacznie niższy i wynosił odpowiednio: Akt — 2,46 i Kasztan — 2,40 mg katechiny/g SM.

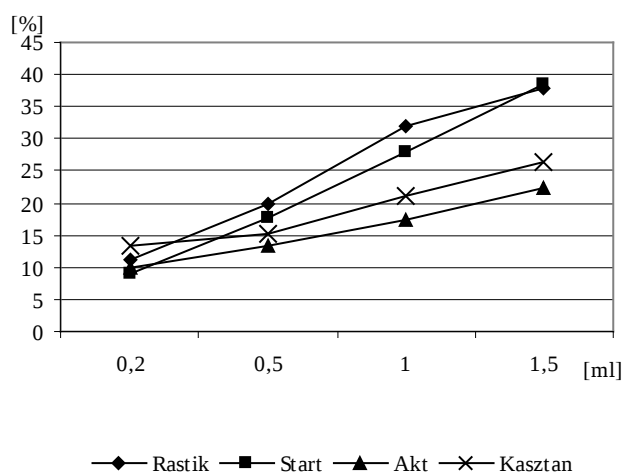


Rys. 1. Zdolność eliminowania wolnych rodników przez ekstrakty uzyskane z całego ziarna jęczmienia i owsa (form nieoplewionych i oplewionych)

Fig. 1. Radical scavenging activity of extracts obtained from the and whole and husked grain of barley and oats (naked and covered forms)

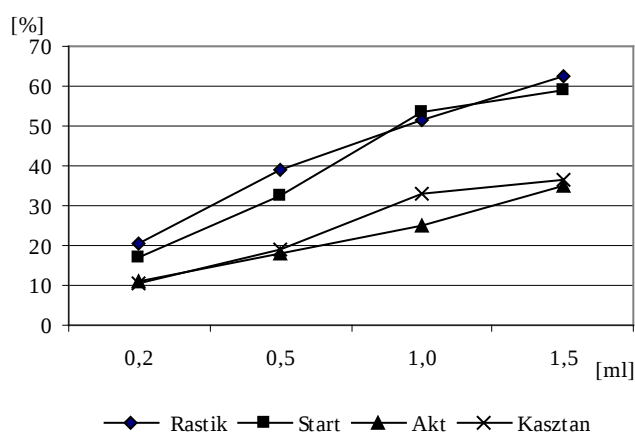
Zdolność eliminacji stabilnego wolnego rodnika (DPPH•) przez badane ekstrakty zbożowe, była istotnie ($P < 0,05$) skorelowana z poziomem związków fenolowych. Ekstrakty metanolowo-acetonowe, uzyskane z całego ziarna jęczmienia, form nieoplewionych i oplewionych, wykazywały najwyższą zdolność do eliminowania wolnych rodników, odpowiednio: 56,93 i 60,32% (rys. 1). Podobnie, obłuszczone ziarno jęczmienia, oplewionej odmian Start, charakteryzowało się relatywnie wysoką aktywnością antyoksydacyjną (41,27%). Dwukrotnie niższą zdolność zmiatania rodnika DPPH• wykazywały ekstrakty otrzymane z całego ziarna owsa odpowiednio: 32,14 i 34,00%. Obłuszczone ziarno owsa, oplewionej odmiany Kasztan, wykazywało znacznie niższą aktywność antyoksydacyjną (23,17%). Podobnie Peterson i wsp. (2001) wykazali, że w miarę obłuszczenia ziarna owsa następuje odpowiedni spadek zawartości polifenoli ($r = 0,670$) oraz spadek zdolności eliminowania wolnego rodnika — DPPH• ($r = 0,720$). Również Emmons i wsp. (1999) stwierdzili, że zdolność eliminowania wolnych rodników przez ekstrakty uzyskiwane z różnych frakcji owsa była ściśle skorelowana z zawartością polifenoli ($r = 0,677$). Ekstrakty otrzymane z mąki jęczmiennej ziarna form nieoplewionych i oplewionych (rys. 2) wykazywały istotnie wyższą zdolność eliminowania rodnika DPPH• (Rastik — 37,84 i Start — 38,47%), w porównaniu z analogicznymi ekstraktami uzyskanymi z mąki owsianej (Akt — 22,47 i Kasztan — 26,48%). Wysoki poziom polifenoli w otrębach był skorelowany z wysoką zdolnością

eliminowania rodnika DPPH[•] przez odpowiednie ekstrakty (Rastik — 62,7 i Start — 59,09).



Rys. 2. Zdolność eliminowania wolnych rodników przez ekstrakty uzyskane z mąki jęczmiennej i owsianej (form nieoplewionych i oplewionych)

Fig. 2. Scavenging activity of extracts obtained from barley and oat flour naked and covered forms



Rys. 3. Zdolność eliminowania wolnych rodników przez ekstrakty uzyskane z otrąb jęczmiennych i owsianych (form nieoplewionych i oplewionych)

Fig. 3. Scavenging activity of extracts obtained from barley and oat bran naked and covered forms
Natomiast w przypadku otrąb owsianych, niższa zawartość polifenoli kształtowała odpowiednio niższą aktywność antyoksydacyjną uzyskiwanych ekstraktów: Akt — 34,76 i Start — 36,62% (rys. 3).

Ogólnie, dla całości badanego materiału, stwierdzono wysoką korelację pomiędzy zawartością polifenoli w analizowanych ekstraktach i zdolnością eliminowania wolnego rodnika DPPH• ($r = 0,893$, $P < 0,05$). W odniesieniu do ziarna jęczmienia, wartości powyższej korelacji dla formy nieoplewionej i oplewionej wynosiły odpowiednio: $r = 0,976$ i $r = 0,970$; $P < 0,05$. Zbliżone wartości korelacji uzyskano również w przypadku ziarna owsa, form nieoplewionych i oplewionych, odpowiednio: $r = 0,960$ i $r = 0,993$; $P < 0,05$. Jednocześnie, w obrębie obu badanych zbóż, całe ziarno i frakcja otrąb charakteryzowały się najwyższą zawartością polifenoli i najwyższą zdolnością eliminowania wolnego rodnika DPPH•.

WNIOSKI

1. Poziom związków fenolowych w całym ziarnie jęczmienia, formy nieoplewionej i oplewionej i ich frakcjach młynarskich, był wyższy w porównaniu z analizowanymi odmianami owsa. Proces obłuszczenia oplewionych form ziarna jęczmienia i owsa wpłynął na obniżenie zawartości tych związków.
2. Najbogatszym źródłem polifenoli były otręby jęczmienne formy nieoplewionej (4,29 mg katechiny/ g SM). Natomiast otręby jęczmienne formy oplewionej i owsiane uzyskane z obu form ziarna, zawierały znacznie mniej polifenoli (3,24; 2,46 i 2,40 mg katechiny/g SM).
3. Ekstrakty metanolowo-acetonowe uzyskane z całego ziarna jęczmienia formy nieoplewionej i oplewionej wykazywały dwukrotnie wyższą zdolność eliminowania wolnych rodników (56,93 i 60,32%) w porównaniu z analogicznymi ekstraktami otrzymanymi z całego ziarna owsa (32,14 i 34%).
4. Najwyższą aktywność antyoksydacyjną wykazywały ekstrakty otrzymane z otrąb jęczmiennych formy nieoplewionej i oplewionej (62,7 i 59,09%), natomiast niższą z otrąb owsianych formy nieoplewionej i oplewionej (34,76 i 36,62%).
5. Zdolność zmiatania wolnego rodnika DPPH• była istotnie skorelowana ($r = 0,893$; $P < 0,05$) z poziomem związków fenolowych zawartych w ekstraktach uzyskanych z badanego materiału.

LITERATURA

- Bravo L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.*, 56: 317 — 333.
- Dimberg L. H., Theander O., Lignert H. 1993. Avenatramides — a group of phenolic antioxidants in oats. *Cereal Chem.* 70: 637 — 641.
- Duve K. J., White P. J. 1991. Extraction and identification of antioxidants in oats. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68: 365 — 370.
- Emmons Ch. L., Peterson D. M. 1999. Antioxidant activity and phenolic contents of oat groats and hulls. *Cereal Chem.* 76: 902 — 906.
- Emmons Ch. L., Peterson D. M., Paul G. L. 1999. Antioxidants capacity of oats (*Avena sativa* L.) Extracts. 2. *In vitro* antioxidant activity and content of phenolic and tocol antioxidants. *J. Agric. Food Chem.* 47: 4894 — 4898.

- Goupy P., Hugues M., Boivin P., Amiot M. J. 1999. Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. J. Sci. Food Agric. 79: 1625 — 1634.
- Hollman P. C. H. 2001. Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects? J. Sci. Food Agric. 81: 842 — 852.
- Kähkönen M. P., Hopia A. I., Vuorela H. J. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. J. Agric. Food Chem. 47: 3954 — 3962.
- Naczki M., Shahidi F. 1989. The effect of methanol-ammonia treatment on the content of phenolic acids in canola. Food Chem. 31: 159.
- Pekkarinen S. S., Stöckmann H., Schwarz K., Heinonen M., Hopia A. I. 1999. Antioxidant activity and partitioning of phenolic acids in bulk and emulsified methyl linoleate. J. Agric. Food Chem. 47: 3036 — 3043.
- Peterson D. M., Emmons Ch. L., Hibbs A. H. 2001. Phenolic antioxidants and antioxidants activity in pearling fractions of oat groats. J. Cereal Sci. 33: 97 — 103.
- Rice-Evans C. A., Miller N. J., Bolwell P. G., Bramley P. M., Pridham J. B. 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. Free Radical Res. 22: 375.
- White P. J., Xing Y. 1997. Antioxidants from cereals and legumes. In: Natural antioxidants: chemistry, health effects and applications. Shahidi F. (ed.), AOCS Press, Champaign, IL, USA.
- Zieliński H., Troszyńska A. 2000. Antioxidant capacity of raw and hydrothermal processed cereal grains. Pol. J. Food Nutr. Sci., 9, 50, 3S: 79 — 83.