

MARZANNA HEŚ, DANUTA GÓRECKA, KRZYSZTOF DZIEDZIC,
JOANNA KOBUS-CISOWSKA, JÓZEF KORCZAK

WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE EKSTRAKTÓW Z ZIARNIAKÓW GRYKI I PRODUKTÓW OTRZYMANYCH W PROCESIE ICH PRZEROBU

Streszczenie

Gryka zawiera białka o wysokiej wartości biologicznej, lipidy zasobne w nienasycone kwasy tłuszczowe, witaminy B₁, B₂ i B₆ oraz polifenole o wysokiej aktywności przeciwutleniającej i dzięki tym składnikom jest wartościowym surowcem żywnościowym o właściwościach prozdrowotnych. Celem badań było określenie zawartości polifenoli i aktywności przeciwutleniającej ekstraktów z ziarniaków polskich odmian gryki oraz produktów ubocznych powstałych podczas przerobu ziarniaków na kasze. W celach porównawczych wykorzystano syntetyczny przeciwutleniacz BHT.

Badaniom poddano dwie polskie odmiany gryki: 'Kora' i 'Panda' (*Fagopyrum esculentum* Moench L.). Ekstrakcję prowadzono przy użyciu acetonu, metanolu oraz wody w temp. 20 ± 2 °C przez 24 h. Poziom związków fenolowych oznaczono spektrofotometrycznie z odczynnikiem Folina-Ciocalteu'a, stosując jako wzorzec kwas galusowy. Aktywność przeciwutleniającą ekstraktów badano wobec kwasu linolowego, prowadząc inkubację przez 19 h, metodą neutralizowania trwałych rodników DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl) oraz w warunkach testu Oxidograph.

Największą zawartością polifenoli charakteryzowały się ekstrakty metanolowe (ok. 63 - 68 mg GAE/g s.m.), następnie acetonowe (ok. 44 - 48 mg GAE/g s.m.) i wodne (ok. 25 - 30 mg GAE/g s.m.). Ziarniak gryki odmiany 'Kora' cechowały się nieznacznie większą zawartością polifenoli i zbliżoną aktywnością przeciwutleniającą w porównaniu z odmianą 'Panda'. Najwięcej polifenoli stwierdzono w metanolowych ekstraktach z łuski gryki odmiany 'Kora' – 140,4 mg/g s.m. Ekstrakty te charakteryzowały się jednocześnie największą aktywnością przeciwrodnikową (98,8 %). W układzie emulsyjnym, obok ekstraktów metanolowych, wysoką aktywnością odznaczały się również ekstrakty wodne. Otrzymane ekstrakty wykazywały słaby efekt stabilizujący w stosunku do oleju rzepakowego w warunkach testu Oxidograph.

Słowa kluczowe: ziarniak gryki, łuska, otręby, polifenole, aktywność przeciwutleniająca

Wprowadzenie

Zainteresowanie gryką i produktami gryczanymi wiąże się nie tylko z obecnością składników odżywczych, takich jak: białka, sacharydy, lipidy czy składniki mineralne, ale również ze składnikami nieodżywczymi o funkcjach prozdrowotnych, np. z błonnikiem pokarmowym oraz ze związkami fenolowymi [2, 12]. Związki te chronią organizm człowieka przed stresem oksydacyjnym i są pomocne w profilaktyce zmian nowotworowych oraz rozwoju miażdżycy [13]. Działają również antybakteryjnie, przeciwwzapalnie, przeciwalergicznie oraz poprawiają elastyczność żył i wspomagają układ krwionośny [17, 31].

Do związków o właściwościach przeciwutleniających i bakteriostatycznych występujących w ziarniakach gryki należą: flawonoidy, kwasy fenolowe, skondensowane taniny, fitosterole, fagopiryny i tokoferole [7, 12, 26, 28]. Związki polifenolowe występują głównie w zewnętrznych warstwach ziarniaka gryki. W okrywkach owocowych ziarniaka znajdują się: rutyna, kwercetyna, orientyna, izoorientyna i witeksyna [5]. Hung i Morita [15] stwierdzili, że są to związki występujące przeważnie w postaci wolnej. W przeciwieństwie do ziarniaków gryki, polifenole w ziarnach innych zbóż są związane przede wszystkim ze składnikami ścian komórkowych [1].

Grykę przetwarza się przeważnie na kaszę, która w głównej mierze zawiera rutynę i izowiteksynę [5]. W zależności od stosowanych operacji jednostkowych w procesie produkcyjnym, uzyskuje się różne typy i rodzaje kaszy gryczanej (kasze całe i łamane). Zastosowanie zabiegu hydrotermicznego pozwala wyróżnić 2 typy kaszy gryczanej: prażoną i nieprażoną. W obu tych typach, po zabiegu rozdrabniania, otrzymuje się kaszę łamaną (z kaszy prażonej) oraz kaszę łamaną drobną krakowską (z kaszy nieprażonej). Skład chemiczny kasz, a więc także ich wartość odżywcza, zależy od stopnia rozdrobnienia i obłuszczenia ziarna. Podczas produkcji kaszy gryczanej powstają produkty uboczne, takie jak otręby i łuska gryczana, które ze względu na dużą zawartość błonnika można wykorzystać do produkcji preparatów wysokobłonnikowych [6]. Jednocześnie produkty te mogą stanowić cenne źródło związków przeciwutleniających [7, 11].

Jako wartościowy surowiec żywności prozdrowotnej ziarniaki gryki i produkty uboczne powstające podczas wytwarzania kaszy gryczanej zasługują na większe zainteresowanie badawcze.

Celem pracy było określenie aktywności przeciwutleniającej ekstraktów z ziarniaków dwóch odmian gryki oraz produktów ubocznych otrzymanych w procesie wytwarzania kaszy gryczanej.

Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym były nieobłuszczone ziarniaki dwóch polskich odmian gryki – ‘Kora’ i ‘Panda’ (*Fagopyrum esculentum* Moench L.) otrzymane ze stacji Doświadczalnej Palikije oraz łuska gryczana, otręby po śrutowaniu i otręby końcowe gryki odmiany ‘Kora’, które otrzymano z Zakładu Zbożowo-Młynarskiego w Białymstoku.

Badany materiał rozdrabniano w młynku Cyclotec. Ekstrakcję związków fenolowych prowadzono 2-krotnie przy użyciu metanolu, acetonu oraz wody, w temp. 20 ± 2 °C, przez 24 h. Zawartość polifenoli ogółem oznaczano kolorymetrycznie metodą Folina-Ciocalteu’a, przy długości fali $\lambda = 750$ nm [14]. Metoda ta polega na barwnej reakcji między polifenolami a odczynnikiem Folina-Ciocalteu’a (FC). W środowisku zasadowym związki fenolowe występują w postaci anionu fenolowego, który redukuje odczynnik FC, tworząc niebieski barwnik. Wyniki analiz przedstawiono jako ekwiwalent stężenia kwasu galusowego w mg/g s.m. ekstraktu (mg GAE/g s.m.).

Właściwości przeciwutleniające ekstraktów szacowano na podstawie zdolności ekstraktów do neutralizowania rodnika DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylhydrazyl) wobec kwasu linolowego oraz w warunkach testu Oxidograph [18]. Uzyskane wyniki porównano z aktywnością BHT (butylohydroksytoluenu).

Zdolność neutralizowania rodnika DPPH określano na podstawie oznaczanych kolorymetrycznie zmian stężenia stabilnego rodnika DPPH wobec próby kontrolnej [21, 25]. Pomiaru absorbancji dokonywano przy długości fali $\lambda = 517$ nm, po 30-minutowej inkubacji roztworu w temp. 20 ± 2 °C, bez dostępu światła. Wyniki przedstawiono jako aktywność przeciwutleniającą (AA) wyrażoną równaniem:

$$AA [\%] = 100 - \{[(Abs_{\text{próby właściwej}} - Abs_{\text{próby zerowej}}) \times 100] / Abs_{\text{próby kontrolnej}}\}$$

Zdolność hamowania autooksydacji kwasu linolowego określano metodą Lingnerta i wsp. [20]. Metoda polega na spektrofotometrycznym oznaczaniu przyrostu zawartości dienów sprzężonych w 10 mM emulsji kwasu linolowego o pH 7,2. Do przygotowanej emulsji wprowadzano 0,01 ml badanych ekstraktów, a następnie dokonywano pomiaru absorbancji przy długości fali $\lambda = 234$ nm, zarówno w próbkach bezpośrednio po dodaniu przeciwutleniacza, jak i po 19-godzinnej inkubacji w temp. 37 °C, bez dostępu światła. Zawartość dienów obliczano, wykorzystując molowy współczynnik absorbancji dienów sprzężonych, zgodnie z prawem Lamberta-Beera:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

gdzie:

A – absorbancja,

ε – molowy współczynnik absorpcji ($\varepsilon = 2,56 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$),

c – stężenie nadtlenków z dienami sprzężonymi [M],

l – grubość warstwy absorbującej (grubość kuwety = 1 cm).

W aparacie Oxidograph wykonywano pomiar okresu indukcyjnego oleju rzepakowego (Zakłady Przemysłu Tłuszczowego „Kruszwica”), mierzonego zużyciem tlenu za pomocą transduktora ciśnień. W celu skrócenia analizy próbki ogrzewano w temp. 110 °C. Rezultatem utleniania była zmiana ciśnienia w wyniku pochłaniania tlenu przez olej w naczynku reakcyjnym. Cały proces był rejestrowany przez czujniki ciśnieniowe i zapisywany na wykresie, na podstawie którego określano okres indukcyjny badanej próby. Aktywność przeciwutleniającą, wyrażoną współczynnikiem ochronnym, wyznaczano ze stosunku okresu indukcyjnego próby z dodatkiem przeciwutleniacza (t, [h]) do okresu indukcyjnego próby kontrolnej (t_k , [h]):

$$W_o = t / t_k$$

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej. Przedstawione w pracy wyniki stanowią średnią arytmetyczną niezależnych serii pomiarów w trzech powtórzeniach. Analizę najmniejszych istotnych różnic z wykorzystaniem wariancji wieloczynnikowej oraz analizę współczynnika korelacji liniowej przeprowadzono w programie Statistica ver. 9. Wnioskowanie statystyczne przeprowadzono na poziomie istotności $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

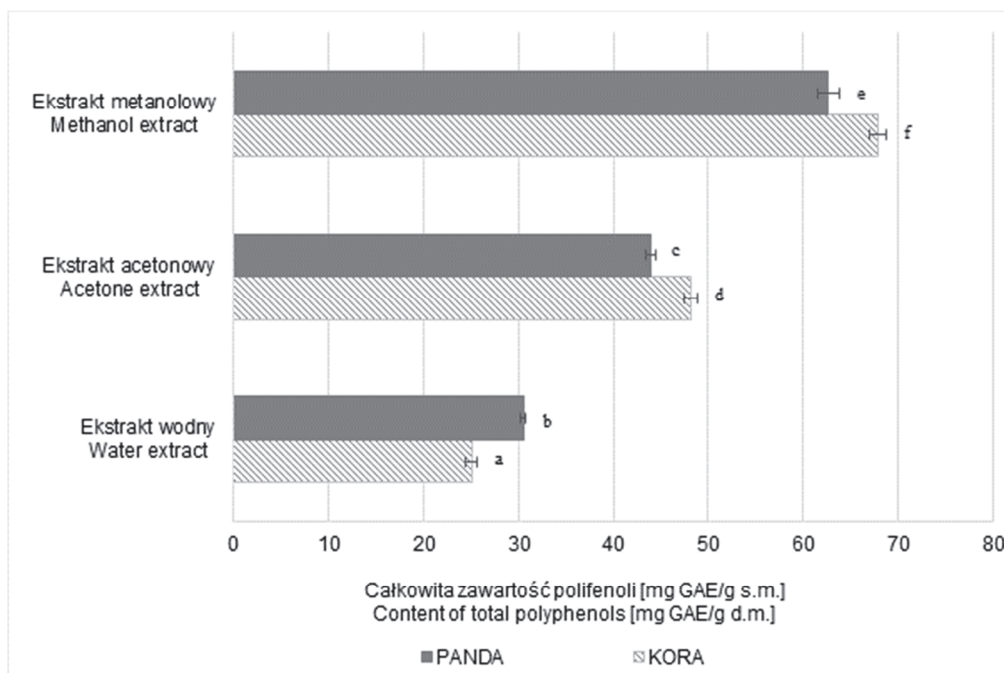
Otrzymane ekstrakty z ziarniaków gryki różniły się pod względem całkowitej zawartości polifenoli. Największą zawartością tych substancji charakteryzowały się ekstrakty metanolowe, mniejszą – acetonowe, a najmniejszą – wodne. Metanolowe i acetonowe ekstrakty z ziarniaków odmiany ‘Kora’ zawierały więcej związków polifenolowych niż z odmiany ‘Panda’ (rys. 1).

Do analizy właściwości przeciwutleniających produktów ubocznych wytypowano odmianę ‘Kora’, uwzględniając nieznacznie większą zawartość polifenoli ogółem w ekstraktach z jej ziarniaków oraz potwierdzoną w literaturze większą wartość odżywczą i większą zawartość rozpuszczalnej frakcji błonnika pokarmowego, w porównaniu z ziarniakami odmiany ‘Panda’ [3, 27].

Najwięcej polifenoli stwierdzono w metanolowych ekstraktach z łuski gryki (140,4 mg/g s.m.). Ekstrakty z otrąb charakteryzowały się ok. 3-krotnie mniejszą zawartością polifenoli w porównaniu z łuską. Aceton i woda w mniejszym stopniu ekstrahowały polifenole w porównaniu z metanolem. Acetonowe i wodne ekstrakty z łuski zawierały odpowiednio o 50 i 86 % mniej związków fenolowych niż ekstrakty metanolowe. Najmniejszą zawartością związków polifenolowych ogółem charakteryzowały się ekstrakty wodne z otrąb końcowych (8,6 mg/g s.m.) (rys. 2).

Zieliński i Troszyńska [35] dowiedli, że zawartość związków fenolowych różni się gatunek surowców roślinnych. Autorzy podają, że w obłuszczonych ziarniakach gryki ogólna zawartość związków fenolowych wynosi 4082 µg/g, natomiast w pszeni-

cy 548 $\mu\text{g/g}$. Ziarniaki gryki zawierają też więcej związków fenolowych niż ziarno owsa i jęczmienia. Li i wsp. [19] stwierdzili z kolei, że całkowita zawartość polifenoli w łusce i otrębach jest większa niż w mące gryczanej, a dominującą formą są związki fenolowe wolne. Hung i Morita [15] wykazali, że mączka z całych ziaren gryki zawiera znacznie więcej polifenoli ogółem w formie wolnej niż związanej, z kolei związków flawonoidowych jest więcej w formie związanej niż wolnej. Od gatunku zboża uzależniona jest również aktywność przeciwutleniająca. Metanolowe ekstrakty z ziarniaków gryki charakteryzują się większą aktywnością przeciwutleniającą niż ekstrakty z ziarna jęczmienia, owsa, pszenicy i żyta [34]. Otręby i łuska gryczana mogą wykazywać nawet 2 - 4 razy większą aktywność przeciwutleniającą niż ziarno jęczmienia, pszenżyta i owsa [33]. Tang i wsp. [29] badali zawartość związków fenolowych i aktywność przeciwutleniającą izolatów białek gryki. Stwierdzili, że zawartość polifenoli zmniejszała się w różnym stopniu w zależności od stopnia hydrolizy. Hydrolizaty wykazywały bardzo dobre właściwości przeciwutleniające, w tym zdolność neutralizowania rodnika DPPH, siłę redukującą oraz zdolność hamowania utleniania kwasu linolowego.

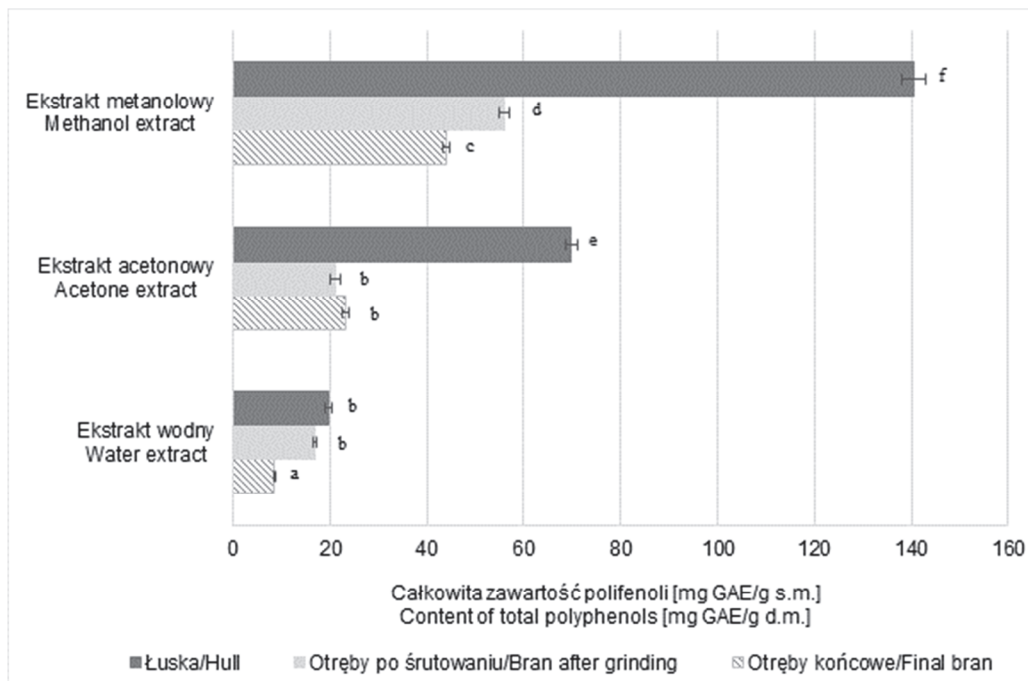


Objaśnienie: / Explanatory note:

a - f – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0.05$).

Rys. 1. Zawartość polifenoli w ekstraktach z ziarniaków gryki odmiany 'Panda' i 'Kora'

Fig. 1. Content of total polyphenols in extracts from buckwheat grains of 'Panda' and 'Kora' varieties



Objaśnienie: / Explanatory note:

a - f – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0.05$).

Rys. 2. Zawartość polifenoli w ekstraktach z ubocznych produktów gryki odmiany 'Kora'

Fig. 2. Content of total polyphenols in extracts from buckwheat by-products of 'Kora' variety

W niniejszych badaniach zawartość polifenoli w ekstraktach z gryki oraz ich aktywność przeciwutleniająca uzależnione były od zastosowanego ekstrahenta. Największą zdolność ekstrakcji związków fenolowych wykazywał metanol, co wiąże się z polarnością tego rozpuszczalnika. Stwierdzono, że polarne rozpuszczalniki organiczne charakteryzują się dużą zdolnością ekstrakcji związków fenolowych i w konsekwencji wysoką aktywnością przeciwutleniającą ekstraktów [24]. Zastosowanie 80-procentowego metanolu do ekstrakcji pozwala wyizolować ponad 60 razy więcej związków fenolowych z gryki, a uzyskane ekstrakty mogą wykazywać 4-krotnie większą aktywność przeciwutleniającą niż ekstrakty wodne [34]. Z kolei Gallardo i wsp. [8] wykazali podobny poziom związków fenolowych, ale większą aktywność przeciwutleniającą ekstraktów wodnych w porównaniu z 80-procentowymi ekstraktami metanolowymi z mąki gryczanej. W innych badaniach do ekstrakcji związków fenolowych z mąki gryczanej zastosowano metanol, etanol, butanol, aceton i octan etylu [28]. Pomimo że najlepsze zdolności ekstrakcyjne wykazał aceton, największą aktywnością

przeciwutleniającą charakteryzowały się ekstrakty metanolowe. Inglett i wsp. [16] podają, że stosując do ekstrakcji alkohol absolutny można osiągnąć znacząco większą zawartość polifenoli związanych, z kolei 50-procentowy etanol ekstrahuje więcej niezwiązanych polifenoli w porównaniu z wodą i alkoholem absolutnym.

Tabela 1. Zdolność neutralizowania rodnika DPPH przez ekstrakty z ziarniaków i z produktów ubocznych gryki [%]

Table 1. DPPH scavenging ability of extracts from buckwheat grains and by-products [%]

Próba Sample	Ekstrakt metanolowy Methanol extract	Ekstrakt acetonowy Acetone extract	Ekstrakt wodny Water extract
Odmiana gryki / Buckwheat variety			
'Panda' 0,2%	60,55 ^{fg} ± 0,48	53,64 ^{ef} ± 1,13	21,56 ^b ± 0,89
'Kora' 0,2%	64,43 ^g ± 0,62	51,59 ^e ± 0,59	16,28 ^a ± 0,93
Produkty uboczne gryki odmiany 'Kora' / By-products of 'Kora' buckwheat variety			
Łuska / Hull 0,1%	98,76 ^h ± 0,31	56,94 ^f ± 1,39	16,10 ^a ± 0,69
Otręby po śrutowaniu Bran after grinding 0,2%	55,91 ^f ± 0,37	26,89 ^{bc} ± 0,51	19,19 ^{ab} ± 0,61
Otręby końcowe Final bran 0,2%	39,19 ^d ± 0,31	25,80 ^{bc} ± 1,49	21,98 ^b ± 0,86
BHT 0,02%	30,50 ^c ± 0,92		

Objaśnienie: / Explanatory note:

a - h – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0,05$).

W tab. 1. przedstawiono zdolność neutralizowania trwałych rodników DPPH przez poszczególne rodzaje ekstraktów. Analizowano wpływ 0,2 ml roztworu ekstraktów o stężeniu 0,1 lub 0,2 % na zdolność neutralizowania DPPH. Największą zdolnością wygaszania rodników charakteryzowały się ekstrakty z łuski ziarniaków gryki, przy czym ekstrakt metanolowy wykazywał odpowiednio o 42 i 83 % większą aktywność niż ekstrakt acetonowy i ekstrakt wodny. Ekstrakty metanolowe z ziarniaków gryki odmiany 'Kora' charakteryzowały się większą aktywnością przeciwrodnikową w porównaniu z odmianą 'Panda', jednak uzyskane różnice nie zostały potwierdzone statystycznie ($p < 0,05$). Aktywność ekstraktów metanolowych i acetonowych z ziarniaków obu odmian była istotnie większa ($p < 0,05$) od aktywności odpowiednich ekstraktów z otrąb gryki odmiany 'Kora'. W przypadku wodnych ekstraktów z całych ziarniaków i wodnych ekstraktów z otrąb, stwierdzono brak istotnych różnic ($p < 0,05$) w neutralizowaniu rodników DPPH. W ekstraktach acetonowych oraz wodnych nie stwierdzono istotnych różnic ($p < 0,05$) aktywności w przypadku otrąb po śrutowaniu i otrąb końcowych. Istotnie większą ($p < 0,05$) aktywność przeciwrodnikową wykazały

natomiast metanolowe ekstrakty z otrąb po śrutowaniu w porównaniu z otrębami końcowymi (odpowiednio: 55,9 i 39,2 %). Acetonowe ekstrakty z otrąb po śrutowaniu wykazywały niewiele większą (ok. 1,4-razy) zdolność neutralizowania rodników niż ekstrakty wodne. Aktywność ekstraktów acetonowych i wodnych z otrąb końcowych również była podobna, wynosiła odpowiednio 25,8 i 22 %. Przeciworodnikowa aktywność ekstraktów acetonowych z otrąb po śrutowaniu i końcowych była najbardziej zbliżona do aktywności syntetycznego przeciwutleniacza BHT, stosowanego na poziomie 0,02 % (30,5 %).

Obserwowany w pracy efekt wygaszania rodnika DPPH przez ekstrakty z ziarniaków i z produktów ubocznych gryki jest większy od tego, jaki uzyskano w przypadku ekstraktów etanolowych z mąki gryczanej [16]. Alvarez-Jubete i wsp. [2] stwierdzili również większą aktywność neutralizowania rodnika DPPH przez ekstrakty z ziarniaków gryki w porównaniu z amarantusem, komosą ryżową oraz pszenicą. Alkoholowe, acetonowe i etylooctanowe wyciągi z ziarniaków gryki powodowały efekt wygaszania w granicach od 40 do 80 %, przy czym w przypadku ekstraktu acetonowego i metanolowego wpływ ten zaznaczył się odpowiednio na poziomie ok. 80 i 60 % [28]. Podobnie wysoką zdolność neutralizowania rodnika DPPH oznaczono w etanolowych ekstraktach z kaszy gryczanej [10].

W badaniach własnych stwierdzono silną dodatnią korelację pomiędzy całkowitą zawartością związków polifenolowych w ekstraktach z ziarniaków i produktów ubocznych gryki a zdolnością dezaktywacji rodników DPPH ($r = 0,95$; $p < 0,05$). Również Stępińska i wsp. [26] dowiedli, że aktywność przeciwutleniająca jest związana z obecnością związków fenolowych w ziarniakach gryki poddanych i niepoddanych obróbce cieplnej (odpowiednio: $r = 0,95$, $r = 0,99$). Jednak nie zawsze istnieje silny związek między zawartością polifenoli a aktywnością przeciwutleniającą, na co wskazują Oomah i Mazza [23]. Wymienieni autorzy uzyskali niską korelację pomiędzy zawartością flawonoidów w ziarniakach gryki a ich aktywnością przeciwutleniającą. Nie stwierdzili też związku pomiędzy zawartością rutyny a aktywnością przeciwutleniającą gryki, co z kolei wykazali Velioglu i wsp. [30] oraz Guo i wsp. [9]. W badaniach Li i wsp. [19] korelacja pomiędzy całkowitą zawartością związków fenolowych w ekstraktach z łuski i otrąb a aktywnością przeciwutleniającą nie była statystycznie istotna, z kolei w przypadku mąki gryczanej stwierdzono związek pomiędzy zawartością polifenoli a zdolnością neutralizowania rodników DPPH ($r_s = 0,79$, $p < 0,05$).

Wpływ 0,01 ml ekstraktów z ziarniaków i produktów ubocznych gryki na stabilność kwasu linolowego w emulsji przedstawiono w tab. 2. Ekstrakty metanolowe i wodne wykazywały większy efekt ochronny w stosunku do kwasu linolowego niż ekstrakty acetonowe. Jednak w porównaniu z BHT aktywność ta była istotnie niższa ($p < 0,05$). Przyrost dniów sprzężonych w największym stopniu ograniczyły metanolowe ekstrakty z łuski i otrąb po śrutowaniu oraz wodne ekstrakty z ziarniaków obu

odmian. Po 19 h inkubacji emulsji, próby z tymi ekstraktami zawierały 82 i 85 % mniej dienów niż próba kontrolna. Aktywność metanolowych ekstraktów z ubocznych produktów gryki była istotnie większa niż ekstraktów z ziarniaków. Tendencji tej nie obserwowano w przypadku ekstraktów acetonowych i wodnych. Najmniejszą aktywnością przeciwutleniającą charakteryzował się acetonowy ekstrakt z łuski oraz z otrąb końcowych, które ograniczyły zawartość dienów sprzężonych w inkubowanej emulsji odpowiednio o 32 i 10 %. Zastosowany w celach porównawczych syntetyczny przeciwutleniacz BHT charakteryzował się istotnie wyższą ($p < 0,05$) aktywnością w układzie emulsyjnym niż ekstrakty gryki. Prawie całkowicie ograniczył powstawanie dienów sprzężonych (przyrost o niespełna 3 %). Przeprowadzona analiza statystyczna nie wykazała korelacji pomiędzy efektywnością przeciwutleniającą a całkowitą zawartością polifenoli.

Tabela 2. Zawartość dienów sprzężonych w emulsji kwasu linolowego [10^{-5} M] determinowana oddziaływaniem ekstraktów z ziarniaków i z produktów ubocznych gryki [%]

Table 2. Content of conjugated dienes in linoleic acid emulsion [10^{-5} M] as determined by impact of extracts from buckwheat grains and buckwheat by-products

Próba Sample	Ekstrakt metanolowy Methanol extract	Ekstrakt acetonowy Acetone extract	Ekstrakt wodny Water extract
Po przygotowaniu emulsji / After emulsion was prepared			
Ziarniak odmiany 'Panda' Grain of 'Panda' variety	0,4 ± 0,012	0,7 ± 0,052	0,4 ± 0,002
Ziarniak odmiany 'Kora' Grain of 'Kora' variety	0,4 ± 0,029	0,7 ± 0,038	0,4 ± 0,007
Łuska / Hull	0,5 ± 0,047	0,7 ± 0,008	0,4 ± 0,014
Otręby po śrutowaniu Bran after grinding	0,4 ± 0,017	0,7 ± 0,009	0,4 ± 0,037
Otręby końcowe / Final bran	0,6 ± 0,004	0,7 ± 0,034	0,3 ± 0,004
BHT	0,4 ± 0,035		
Kontrolna / Control sample	0,5 ± 0,026		
Po 19 h inkubacji emulsji / After emulsion was 19 h incubated			
Ziarniak odmiany 'Panda' Grain of 'Panda' variety	1,9 ^d ± 0,074	3,7 ^f ± 0,046	1,2 ^b ± 0,009
Ziarniak odmiany 'Kora' Grain of 'Kora' variety	2,1 ^d ± 0,036	3,5 ^f ± 0,077	1,2 ^b ± 0,019
Łuska / Hull	1,2 ^b ± 0,020	4,4 ^g ± 0,502	1,8 ^{cd} ± 0,03
Otręby po śrutowaniu Bran after grinding	1,0 ^b ± 0,0003	2,9 ^e ± 0,078	1,3 ^{bc} ± 0,022
Otręby końcowe / Final bran	1,5 ^c ± 0,011	5,9 ^h ± 0,072	3,3 ^{ef} ± 0,014
BHT	0,5 ^a ± 0,015		
Kontrolna / Control	6,6 ⁱ ± 0,295		

Objaśnienie: / Explanatory note:

a - i – wartości średnie po 19 h inkubacji emulsji oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p < 0,05$) / mean values after 19 h of emulsion incubation denoted by different letters differ statistically significantly ($p < 0.05$).

Badane ekstrakty z gryki charakteryzowały się wysoką aktywnością hamowania procesów samoutleniania kwasu linolowego w emulsji. Podobne wyniki uzyskali Hęś i wsp. [11], określając aktywność przeciwutleniającą (W_o) jako stosunek różnicy przyrostu absorbancji próby kontrolnej i z dodatkiem przeciwutleniaczy do przyrostu absorbancji próby kontrolnej. Burda i wsp. [4] porównali zdolność ekstraktów z ziarna różnych zbóż do hamowania procesu utleniania β -karotenu i kwasu linolowego. Autorzy stwierdzili, że największą aktywnością cechowały się ekstrakty z ziarna owsa, mniejszą – z żyta i jęczmienia, najmniejszą – z pszenicy. Dodatkowo Wołoch i wsp. [32] wykazali, że całkowity potencjał przeciwutleniający owsa w układzie β -karoten/kwas linolowy jest ściśle skorelowany z zawartością polifenoli w badanym materiale.

Tabela 3. Stabilność oleju rzepakowego z dodatkiem ekstraktów z ziarniaków gryki odmiany ‘Panda’ i ‘Kora’ w aparacie Oxidograph

Table 3. Stability of rapeseed oil with addition of extracts from buckwheat grains of ‘Panda’ and ‘Kora’ varieties in Oxidograph apparatus

Próba Sample	Ekstrakt metanolowy Methanol extract		Ekstrakt acetonowy Acetone extract		Ekstrakt wodny Water extract	
	Okres indukcyjny Induction time [h]	Współcz. ochronny (W_o) Protection factor (PF)	Okres indukcyjny Induction time [h]	Współcz. ochronny (W_o) Protection factor (PF)	Okres indukcyjny Induction time [h]	Współcz. ochronny (W_o) Protection factor (PF)
‘Panda’	5,60	1,13	5,55	1,12	4,78	0,97
‘Kora’	5,55	1,12	5,95	1,20	5,40	1,09
Okres indukcyjny / Induction time [h]				Współczynnik ochronny (W_o) Protection factor (PF)		
BHT	7,60		1,54			
Próba kontrolna Control sample	4,95		–			

Ekstrakty z ziarniaków gryki charakteryzowały się niską aktywnością w przyspieszonym teście Oxidograph (tab. 3). Wyznaczone okresy indukcyjne oleju z dodatkiem ekstraktów były niewiele dłuższe od okresów indukcyjnych próby kontrolnej i znacznie krótsze w porównaniu z próbą z dodatkiem BHT. Spośród stosowanych ekstraktów gryki najlepszym przeciwutleniaczem w stosunku do oleju okazał się ekstrakt acetonowy z gryki odmiany ‘Kora’, który wydłużył okres indukcyjny o 1 h. Jest to mniejsza aktywność w porównaniu z BHT, który wydłużył ten okres prawie o 3 h. Efektywność przeciwutleniająca ekstraktów z ziarniaków gryki wyrażona współczynnikiem ochron-

nym (Wo) wyniosła niewiele ponad 1 i była niższa od zastosowanego w celach porównawczych syntetycznego przeciwutleniacza – BHT.

Otrzymane wyniki wskazują na różnorodność mechanizmów działania przeciwutleniaczy zawartych w analizowanym surowcu oraz na wysoki potencjał przeciwutleniający poszczególnych części gryki. Według Sun i Ho [28] naturalne przeciwutleniacze gryki mogą zastąpić przeciwutleniacze syntetyczne. Są bezpieczniejsze, zatem mogą być dodawane do produktów w większych dawkach, a efekt przeciwutleniający będzie porównywalny. Olszak i wsp. [22] udowodnili, że zastosowanie obłuszczonej i nieobłuszczonej ziarniaków gryki, poddanych obróbce hydrotermicznej, a następnie rozdrobnionych, do produkcji wysokośluszczowych pasztetów mięsnych wpływa na wzrost trwałości przechowalniczej wyrobów poprzez zachowanie odpowiedniej jakości mikrobiologicznej, hamowanie postępujących procesów oksydacyjnych i uzyskanie zadowalającej jakości sensorycznej.

Wnioski

1. Zawartość polifenoli ogółem w ekstraktach z ziarniaków gryki była uzależniona od odmiany. Metanolowe i acetonowe ekstrakty z ziarniaków odmiany ‘Kora’ charakteryzowały się większą zawartością polifenoli w porównaniu z odmianą ‘Panda’. W wodnych ekstraktach ziarniaków większą zawartość związków fenolowych stwierdzono w przypadku odmiany ‘Panda’. W badanych układach obie odmiany wykazywały zbliżoną aktywność przeciwutleniającą.
2. Wśród produktów ubocznych największą zawartością polifenoli oraz najwyższą zdolnością wygaszania rodników DPPH charakteryzowały się metanolowe ekstrakty z łuski gryczanej, natomiast najniższą – wodne ekstrakty z otrąb.
3. Wszystkie ekstrakty z gryki wykazywały słaby efekt stabilizujący w stosunku do oleju rzepakowego w warunkach testu Oxidograph. W układzie emulsyjnym wysoką aktywnością charakteryzowały się natomiast metanolowe i wodne ekstrakty otrzymane z ziarniaków i produktów ubocznych z gryki, a mniejszą – ekstrakty acetonowe.

Pracę wykonano w ramach projektu nr POIG 01.01.02-00-061/09 pt. „Nowa żywność bioaktywna o zaprogramowanych właściwościach prozdrowotnych”.

Literatura

- [1] Adom K.K., Liu R.H.: Antioxidant activity of grains J. Agric. Food Chem., 2002, **50**, 6182-6187.
- [2] Alvarez-Jubete L., Arendt E.K., Gallagher E.: Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. Trends Food Sci. Technol., 2010, **21**, 106-113.

- [3] Biel W., Maciorowski R.: Evaluation of chemical composition and nutritional quality of buckwheat groats, bran and hull (*Fagopyrum esculentum* Mönch L.). Ital. J. Food Sci., 2013, **25**, 384-389.
- [4] Burda S., Oleszek W., Junkuszew M.: Przeciwiutleniające właściwości ekstraktów z ziarna zbóż. XXXII Sesja Naukowa KTiChŻ PAN „Technologia żywności a oczekiwania konsumentów”, Warszawa 2001, ss. 1-4.
- [5] Chłopicka J.: Gryka jako żywność funkcjonalna. Buckwheat as functional food. Bromat. Chem. Toksykol., 2008, **41**, 3, 249-252.
- [6] Dziedzic K., Górecka D., Kobus-Cisowska J., Jeszka M.: Możliwości wykorzystania gryki w produkcji żywności funkcjonalnej. Nauka Przym. Technol., 2010, **4**, 2 # 28.
- [7] Dziedzic K., Drożdżyńska A., Górecka D., Czaczyk K.: Zawartość wybranych związków przeciwiutleniających w gryce i produktach powstałych podczas jej przerobu. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2009, **6** (67), 81-90.
- [8] Gallardo C., Jimenez L., Garcia-Conesa M.T.: Hydroxycinnamic acid composition and in vitro antioxidant activity of selected grain fractions. Food Chem., 2006, **99**, 455-463.
- [9] Guo X-D., Wu C-S., Ma Y-J., Parry J., Xu Y-Y., Liu H., Wang M., Comparison of milling fractions of tartary buckwheat for their phenolics and antioxidant properties. Food Res. Inter., 2012, **49**, 53-59.
- [10] Hęś M., Korczak J., Górecka D., Szymandera-Buszka K.: Przeciwiutleniające właściwości ekstraktów z kaszy gryczanej. Antioxidant activities of buckwheat groats extracts. Fragm. Agronom., 2006, **23**, 1 (89), 57-67.
- [11] Hęś M., Górecka D., Dziedzic K.: Antioxidant properties of extracts from buckwheat by-products. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment., 2012, **11** (2), 167-174.
- [12] Holasova M., Fiedlerova V., Smrcinova H., Orsak M., Lachman J., Vavreinova S.: Buckwheat – The source of antioxidant activity in functional foods. Food Res. Inter., 2002, **35**, 207-211.
- [13] Hollman P.C.H.: Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects? J. Sci. Food Agric., 2001, **81**, 842-852.
- [14] Horwitz W.: Official Methods of Analysis of the Official Analytical Chemists (AOAC). Washington 1970, 15.049 – 15.055.
- [15] Hung P.V., Morita N.: Distribution of phenolic compounds in the graded flours milled from whole buckwheat grains and their antioxidant capacities. Food Chem., 2008, **109**, 325-331.
- [16] Inglett G.E., Chen D., Berhow M., Lee S.: Antioxidant activity of commercial buckwheat flours and their free and bound phenolic compositions. Food Chem., 2011, **125**, 923-929.
- [17] Kim C.D., Lee W-K., No K-O., Park S-K., Lee M-H., Lim S.R., Roh S-S.: Anti-allergic action of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) grain extract. Int. Immunopharmacol., 2003, **3**, 129-136.
- [18] Korczak J., Hęś M.: Porównanie tradycyjnych i instrumentalnych metod badania stabilności tłuszczów i aktywności przeciwutleniaczy. ABiD, 2003, **1**, 49-56.
- [19] Li F., Yuan Y., Yang X., Tao S., Ming J.: Phenolic profiles and antioxidant activity of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Mönch and *Fagopyrum tartaricum* L. Gaerth) hulls, brans and flours. JIA, 2013, **12** (9), 1684-1693.
- [20] Lingnert H., Vallentin K., Eriksson C.E.: Measurement of antioxidative effect in model system. J. Food Proc. Preserv., 1979, **3**, 87-103.
- [21] Mensor L.L., Menezes F.S., Leitao G.G., Reis A.S., dos Santos T.C., Coube C.S., Leitao S.G.: Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. Phytoter. Res., 2001, **15**, 127-130.
- [22] Olszak M., Jałosińska M., Jaworska D., Dolatowski Z.: Wpływ dodatku przetworów z nasion gryki na jakość pasztetów podczas przechowywania. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2012, **1** (80), 128-141.

- [23] Oomah B., Mazza G.: Flavonoids and antioxidative activities in buckwheat. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, **3** (32), 1746-1750.
- [24] Przybylski R., Lee Y.C., Eskin N.A.M.: Antioxidant and radical-scavenging activities of buckwheat seed components. *JAOCs*, 1998, **75**, 1595-1601.
- [25] 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.
- [26] Stempińska K., Soral-Śmietana M., Zieliński H., Michalska A.: Wpływ obróbki termicznej na skład chemiczny i właściwości przeciwutleniające ziarniaków gryki. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **5** (54), 66-76.
- [27] Stempińska K., Soral-Śmietana M.: Składniki chemiczne i ocean fizykochemiczna ziarniaków gryki – porównanie trzech polskich odmian. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, **2** (47) Supl., 348-357.
- [28] Sun T., Ho C.-T.: Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chem.*, 2005, **90**, 743-749.
- [29] Tang C-H., Peng J., Zhen D-W., Chen Z.: Physicochemical and antioxidant properties of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) protein hydrolysates. *Food Chem.*, 2009, **115**, 672-678.
- [30] Velioglu Y.S., Mazza L., Gao L., Oomah B.D.: Antioxidant activity and total phenolic in selected fruits, vegetables and grain products. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46** (10), 4113-4117.
- [31] Wang L., Yang X., Qin P., Shan F., Ren G.: Flavonoid composition, antibacterial and antioxidant properties of tartary buckwheat bran extract. *Industrial Crops and Products*, 2013, **49**, 312- 317.
- [32] Wołoch R., Pysz M., Bieżanowska-Kopeć R.: Potencjał antyoksydacyjny owsa badany trzema metodami. *Biul. Inst. Hod. Rośl.*, 2007, **234**, 109-117.
- [33] Zduńczyk Z., Flis M., Zieliński H., Wróblewska M., Antoszkiewicz Z., Juszkiewicz J.: *In vitro* antioxidant activities of barley, husked oat, naked oat, triticale, and buckwheat wastes and their influence on the growth and biomarkers of antioxidant status in rats. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, **54**, 4168-4175.
- [34] Zieliński H., Kozłowska H.: Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 2008-2016.
- [35] Zieliński H., Troszyńska A.: Antioxidant capacity of raw and hydrothermal processed cereal grains. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2000, **9/50**, (3S), 79-83.

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF BUCKWHEAT GRAIN EXTRACTS AND OF PRODUCTS PRODUCED DURING THEIR PROCESSING

S u m m a r y

Buckwheat contains high biological value proteins, unsaturated fatty acids-rich lipids, vitamins B₁, B₂ and B₆, and polyphenols showing a high antioxidative activity; owing to those components, it is a valuable raw material for foods with health benefits. The objective of the study was to determine the content of polyphenols in and the antioxidative activity of extracts made from buckwheat grains of the Polish varieties and from by-products produced while processing buckwheat into groats. A synthetic antioxidant BHT was used for comparative purposes.

Two Polish buckwheat varieties were studied: 'Kora' and 'Panda' (*Fagopyrum esculentum* Moench L.). The extraction was performed using acetone, methanol, and water, at a temperature of 20 ± 2 °C, during 24 hours. The level of total phenolic compounds was determined spectrophotometrically using a Folin-Ciocalteu reagent and a gallic acid as a standard. Antioxidative activity of extracts was analyzed in the presence of linoleic acid with the incubation period of 19 hours and using a DPPH stable radical scavenging method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), under the Oxidograph assay conditions.

Methanol extracts were characterized by the highest content of phenolic compounds (ca. 63 - 68 mg GAE/g d.m.), the next highest contents thereof were reported in the acetone (ca. 44 - 48 mg GAE/g d.m.) and water extracts (ca. 25 - 30 mg GAE/g d.m.). The buckwheat grains of 'Kora' variety were characterized by a slightly higher content of polyphenols and a similar antioxidative activity compared to the 'Panda' variety. The highest content of total phenols was found in the methanol extracts of buckwheat hulls of 'Kora' variety: 140.4 mg/g d.m. Also, those extracts were characterized by the highest antioxidative activity (98.8 %). In the emulsion system, the water extracts were characterized by a high antioxidative activity as were the methanol extracts. The extracts produced showed a weak stabilizing effect on rapeseed oil in the Oxidograph test.

Key words: buckwheat grains, hull, bran, polyphenols, antioxidant activity ☒