

OCENA ZAWARTOŚCI POLIFENOLI ORAZ AKTYWNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCA TRAWY JĘCZMIENNEJ (*Hordeum vulgare* L.) ZE ZBÓŻ JARYCH I OZIMYCH

Streszczenie

W artykule oceniono właściwości prozdrowotne młodego jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.). Ekstrakty z 8 odmian rośliny przebadano pod kątem potencjału antyoksydacyjnego oraz scharakteryzowano zawarte w ekstraktach związki bioaktywne. Badania potwierdziły, że młody jęczmień wykazuje aktywność przeciwutleniającą, a także jest bogatym źródłem fitozwiązków. W ekstraktach etanolowych stwierdzono obecność flawonoli, takich jak: katechiny, epikatechiny, kwercytryny, rutyny. Ekstrakty wykazały też wyższą zdolność hamowania rodnika ABTS niż DPPH.

Słowa kluczowe: młody jęczmień, polifenole, antyoksydanty, ABTS, DPPH

Wstęp

Uprawa jęczmienia na świecie zajmuje obecnie 8% światowej powierzchni uprawy zbóż, a w Polsce - największą powierzchnię upraw spośród zbóż jarych [1]. Uprawia się jęczmień jary oraz ozimy, których zielone źdźbła stanowią tzw. „młody jęczmień” - surowiec stosowany do produkcji soku i ekstraktu. Do tego celu wykorzystuje się głównie odmiany jęczmienia jarego, które charakteryzują się krótkim okresem wegetacji, słabszym systemem korzeniowym oraz małą zdolnością pobierania składników pokarmowych z gleby. Są wrażliwe na brak wody oraz na niskie temperatury we wczesnych fazach rozwojowych [2]. Jęczmień ozimy natomiast ma dłuższy okres wegetacji i mniejsze wymagania glebowe niż jęczmień jary. Jest wrażliwy na kwaśny odczyn gleby i niższe wymagania wodne. Najlepsze plony daje na żyznych strukturalnych glebach z głęboką warstwą orną. [3]. Młody jęczmień to produkt pozyskany z rośliny (*Hordeum vulgare* L.) odmiany jarej zbieranej po 7-10 dniach wzrostu, gdy osiągnie około 20-30 cm wysokości. Zebrane źdźbła zboża są następnie suszone, rozdrabniane i ewentualnie ekstrahowane. W Japonii młody jęczmień uważany jest za bardzo cenny produkt i jest spożywany w postaci koktajlu o nazwie „Aojiru” [4, 5]. Produkt ten zawiera składniki mineralne: wapń, miedź, żelazo, magnez, potas, cynk oraz witaminy (B1, B2, B3, B6, B7, C, E, K), a oprócz tego chlorofil, białka, enzymy, karotenoidy i przeciwutleniacze [6, 7]. Wartość odżywcza młodego jęczmienia zależy m.in. od odmiany, miejsca i sposobu uprawy oraz fazy wzrostu, w jakiej jęczmień został zebrany [8]. Celem badań była ocena przydatności ziaren jęczmienia jarego oraz ozimego na potrzeby uprawy młodego jęczmienia.

Material badawczy

Badaniom poddano 8 odmian jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.), w tym 2 jare (*Nagradowicki* i *Iron*) oraz 6 ozimych (*Kobuz*, *Karakan*, *Holmes*, *Quadriga*, *Zenek* i *Basic*). Wszystkie nasiona pochodziły z Poznańskiej Hodowli Roślin Sp. z o.o. oraz z Zakładu DANKO Hodowla Roślin Sp. z o.o. Rośliny uprawiano w kielkownicy, przy temperaturze 22°C i nawodnieniu *ad libitum*. Po 10 dniach zebrano źdźbła i za-

mrożono je w temperaturze -35°C, a następnie poddano liofilizacji w liofilizatorze marki CHRIST 1-4 LSC. Temperatura kondensacji wynosiła -48°C, temperatura na półce liofilizatora: -20°C, temperatura produktu: -4°C. Proces odbywał się pod zmniejszonym ciśnieniem w czasie 24 h. Następnie produkt rozdrobniono do rozmiaru frakcji 0,5-0,9 mm w młynku firmy Retsch GmbH (Germany) przez 15 sekund, przy prędkości obrotowej 500 rpm, w temperaturze 21°C.

Metody badań Ekstrakcja

Do kolby miarowej odważono 2 g liofilizatu jęczmienia i dodano 100 ml mieszaniny wodno-etanolowej (60:40 v/v). Całość wytrząsano przez 15 min w temperaturze 22°C, po czym próbki sączone pod zmniejszonym ciśnieniem na lejku Büchnera. Przesączone ekstrakty wodno-etanolowe przechowywano szczelnie zamknięte bez dostępu światła.

Zawartość flawonoli

Analizę ilościową flawonoli określono zgodnie z metodą opisaną przez Kobus i in. [9]. Skład flawonoli określono za pomocą HPLC Agilent 1260 UPLC przy użyciu kolumny Nova-Pak C18. Rozpuszczalnik A stanowił 0,3% (v/v) HCOOH w wodzie, podczas gdy rozpuszczalnik B stanowił 100% CH₃CN. Szybkość przepływu wynosiła 1 ml/min. Profil gradientu był następujący: 85% A w 0 minucie i 25% A w 40 minucie. Chromatogramy rejestrowano detektorem UV-Vis, przy λ=370 nm. Oddzielone związki zidentyfikowano na podstawie mapowania czasu retencji przy użyciu zestawu standardów.

Aktywność przeciwutleniająca z wykorzystaniem rodnika DPPH

Ekstrakty z źdźbeł jęczmienia oceniano metodą z rodnikiem DPPH. W celu oceny potencjału zmiatania wolnych rodników zgodnie z metodą opisaną przez Amarowicza i Pegg [10]. Stopień odbarwienia roztworu wskazywał na efektywność ekstraktu. Jeden mililitr roztworu ekstraktu uzupełniono 2 ml

CH₃OH, a następnie 0,25 ml 1 mM etanolowego roztworu DPPH. Mieszaninę mieszano przez ~ 60 sekund i pozostawiono na 20 minut w temperaturze pokojowej, bez dostępu światła. Absorbancję rejestrowano przy $\lambda=517$ nm (Meterek SP 830, Tajwan). Próbkę odniesienia stanowił czysty metanol. Krzywą kalibracyjną przygotowano na podstawie wzorca jakim był Trolox (TE) w stężeniach 0,5; 1,0; 1,5 i 2,0 mg/ml. Wyniki wyrażono w mg ekwiwalentu Trolox/g DW ekstraktu.

Aktywność przeciwutleniająca z wykorzystaniem rodnika ABTS

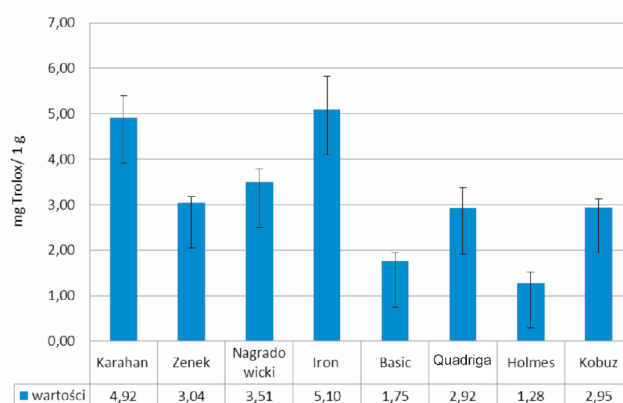
Oznaczenie wykonano w oparciu o metodę opisaną przez Re i in. [11]. Wskazana metoda posłużyła do pomiaru całkowitej pojemności przeciwutleniającej ekstraktów. Badany roztwór wprowadzono do środowiska reakcyjnego zawierającego wcześniej wygenerowany kationorodnik ABTS [2,2'-azyno-bis-(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian)]. Obecność przeciwutleniaczy powodowała redukcję jego niebiesko-zielonej barwy, a spadek jej intensywności był proporcjonalny do aktywności przeciwutleniaczy. Jednocześnie, w celu sporządzenia krzywej kalibracji, prowadzono równoległe pomiar absorbancji przy $\lambda=735$ nm próbek zawierających odpowiednie stężenia substancji wzorcowej - Troloxu, a wyniki wyrażono w jego równoważnikach. Zdolność zmiatania kationorodnika ABTS wyrażono na podstawie krzywej wzorcowej, którą otrzymano ze stężeń 2,0; 1,5; 1,0; 0,5 mg/ml Troloxu.

Wyniki i dyskusja

Analiza składu zawartości flawonoli badanych ekstraktów z jęczmienia wykazała, że ich skład jakościowy był zbliżony, jednak różnił się ilościowo. Najwyższą zawartość badanych flawonoli stwierdzono w ekstraktach z jęczmienia odmiany *Quadriga* (2943,36 $\mu\text{g}/1$ g s.m. ekstraktu). Spośród badanych flawonoli dominowała rutyna i kwercetyna. Kwercetyna w największej ilości występowała w odmianie *Basic* (395,99 \pm 1,65 $\mu\text{g}/1$ g s.m. ekstraktu), a rutyna w odmianie *Quadriga* (846,81 \pm 32,00 $\mu\text{g}/1$ g s.m. ekstraktu). Najwyższą zawartość katechiny stwierdzono w ekstraktach z jęczmienia odmiany *Quadriga* (14,02 $\mu\text{g}/1$ g s.m. ekstraktu), a najniższą w odmianie *Karahan* (1,05 $\mu\text{g}/1$ g s.m. ekstraktu). Z kolei największe stężenie epikatechiny stwierdzono w próbce odmiany *Quadriga* (60,18 \pm 0,30 $\mu\text{g}/1$ g s.m. ekstraktu) (tab. 1).

Badane ekstrakty oceniono też pod względem aktywności przeciwrodnikowej. Najwyższą zdolność zmiatania rodnika DPPH wykazano dla ekstraktu z źdźbeł odmiany *Iron* (5,10 mg Trolox/1 g), a najniższą dla odmiany *Holmes* (1,28 mg

Trolox/1 g). W badaniach przeprowadzonych przez Chomchan i in. [12] przebadano sok z trawy ryżowej i pszenicznej. Wykazano, że zdolność zmiatania wolnych rodników dla trawy ryżowej wynosiła 4,65 \pm 0,12 mg Trolox/1 g ekstraktu, a dla trawy pszenicznej 5,51 \pm 0,04 mg Trolox/1 g ekstraktu. Wyniki te są podobne do wyników uzyskanych w badaniach autorów. Kiewlicz [13] wykazał, że ekstrakty wodne z młodego jęczmienia zmiatają rodniki DPPH na poziomie 2,43 \pm 0,07 IC₅₀ mg/ml. Koga i in. [14] wykazali, że zdolność młodego jęczmienia do zmiatania rodnika DPPH jest na poziomie 49,5%. Natomiast Choe i in. [15] wykazali, że zdolność do zmiatania DPPH zależy w różnym stopniu od rozpuszczalnika zastosowanego do ekstrakcji. W ekstraktach etanolowych aktywność jest wyższa, tj. 80,3%, a w ekstraktach metanolowych 69,5%. Anwar i in. [16] wskazali, że zmiatanie wolnych rodników DPPH dla jęczmienia zależy od odmiany i rodzaju ekstrahenta i mieści się w granicach od 90,7 do 168,6 IC₅₀ $\mu\text{g}/\text{ml}$.



Źródło: opracowanie własne / Source: own study

Rys. 1. Zdolność zmiatania wolnych rodników DPPH
Fig. 1. The ability to scavenge free radicals DPPH

W trakcie badań określono także zdolność do dezaktywacji kationorodnika ABTS. Najwyższą aktywność wykazano dla odmiany *Kobuz* 50,51 mg Trolox/1 g, a najniższą dla *Quadriga* 6,78 mg Trolox/1 g. W innych badaniach przeprowadzonych przez Kiewlicz [13] na ekstraktach wodnych z źdźbeł młodego jęczmienia uzyskano wynik zmiatania ABTS na poziomie 29,37 \pm 1,60 μmol Trolox/g DW. Chomchan i in. [12] stwierdzili, że zdolność do zmiatania kationorodnika ABTS przez ekstrakty z soku z trawy ryżowej wynosi 38,06 \pm 0,38 mg Trolox/g ekstraktu, a dla trawy pszenicznej 39,77 \pm 0,27 mg Trolox/g ekstraktu. Wyniki opisane w publikacji [12] są zbliżone z wynikami autorów.

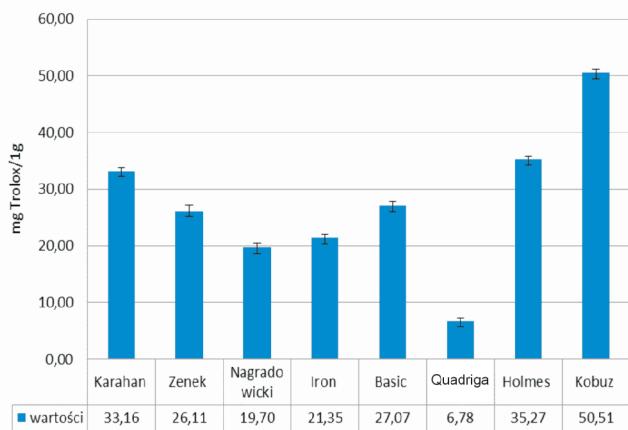
Tab. 1. Zawartość flawonoli w ekstraktach z młodego jęczmienia
Table 1. Flavonol content in young barley extracts

Badana odmiana	Katechina $\mu\text{g}/1$ g s.m. ekstraktu	Epikatechina $\mu\text{g}/1$ g s.m. ekstraktu	Kwercetyna $\mu\text{g}/1$ g s.m. ekstraktu	Rutyna $\mu\text{g}/1$ g s.m. ekstraktu	Kampferatryna $\mu\text{g}/1$ g s.m. ekstraktu	Suma $\mu\text{g}/1$ g s.m. ekstraktów
<i>Nagradowicki</i>	6,35 ^b \pm 0,24	2,48 ^a \pm 0,09	134,63 ^a \pm 5,09	439,57 ^b \pm 0,89	17,27 ^a \pm 2,42	1486,22 ^b \pm 157,90
<i>Iron</i>	1,11 ^a \pm 0,01	1,30 ^a \pm 0,05	225,82 ^b \pm 0,94	43,27 ^a \pm 0,15	0,64 ^a \pm 0,01	424,53 ^a \pm 6,64
<i>Karahan</i>	1,05 ^a \pm 0,01	1,23 ^a \pm 0,05	212,26 ^b \pm 0,88	41,07 ^a \pm 0,14	65,84 ^a \pm 4,11	464,28 ^a \pm 3,60
<i>Zenek</i>	5,57 ^b \pm 0,78	27,70 ^b \pm 0,14	119,75 ^a \pm 0,60	458,39 ^b \pm 17,32	12,55 ^a \pm 0,25	1354,74 ^a \pm 92,72
<i>Basic</i>	1,94 ^a \pm 0,01	2,29 ^a \pm 0,09	395,99 ^d \pm 1,65	75,88 ^a \pm 0,25	122,84 ^c \pm 7,68	866,16 ^b \pm 6,71
<i>Quadriga</i>	14,02 ^c \pm 0,32	60,18 ^d \pm 0,30	260,18 ^c \pm 1,31	846,81 ^c \pm 32,00	27,26 ^a \pm 0,55	2943,36 ^c \pm 201,45
<i>Holmes</i>	11,73 ^c \pm 0,44	1,39 ^a \pm 0,05	240,77 ^c \pm 1,00	812,04 ^c \pm 1,66	74,69 ^b \pm 4,67	526,64 ^a \pm 4,08
<i>Kobuz</i>	2,05 ^a \pm 0,01	36,59 ^c \pm 0,18	158,19 ^a \pm 0,79	79,93 ^a \pm 0,27	16,57 ^a \pm 0,33	1789,62 ^b \pm 122,48

Dane przedstawiają wartości średnie z trzech powtórzeń oraz odchylenie standardowe

Wartości średnie oznaczone różnymi małymi literami w tym samym wierszu świadczą o istotności różnic ($p \leq 0,05$)

Źródło: opracowanie własne / Source: own study



Źródło: opracowanie własne / Source: own study

Rys. 2. Zdolność dezaktywacji rodników ABTS
Fig. 2. Ability to deactivate ABTS radicals

Podsumowanie

Młody jęczmień jest źródłem związków bioaktywnych, w tym także tych o silnej aktywności przeciwutleniającej. Zawiera flawanole (katechiny) i flawonole (kwercetyna). Zawartość poszczególnych związków zależy od odmiany, lecz nie stwierdzono, aby badane odmiany jare lub ozime były lepszym ich źródłem. Najwięcej flawonoli stwierdzono w odmianie *Quadriga*, natomiast najmniej w odmianach *Karahan* i *Iron*. Wykazano, że młody jęczmień odznacza się zdolnością dezaktywacji rodnika DPPH oraz ABTS, zdolność ta różniła się w badanych próbkach. W reakcjach dezaktywacji największą aktywnością charakteryzowała się odmiana *Kobuz*, najniższą natomiast odmiana *Quadriga*. Wykazano, że ekstrakty z młodego jęczmienia zmiały kationorodniki ABTS w większym stopniu niż rodniki DPPH.

Bibliografia

- [1] Noworolnik K.: Cechy morfologiczne i jakościowe oraz plonowanie jęczmienia jarego w zależności od właściwości odmian i terminu siewu. *Fragmenta Agronomica*, 2013, 30: 105-113.
- [2] Kępińska A.: Jęczmień - właściwości prozdrowotne i wykorzystanie w produkcji spożywczej. *Przegląd Zbożowo-Młynarski*, 2015, 3: 17-18.
- [3] Cierpiała R., Wesołowski M.: Plonowanie i jakość ziarna nagoziarnistej formy jęczmienia jarego uprawianego w systemie rolnictwa ekologicznego i konwencjonalnego. *Agronomy Science*, 2015, 2: 33-42.
- [4] Ikeguchi M., Tsubata M., Takano A., Kamiya T., Takagaki K., Ito H., Sugawa-Katayama Y., Tsuji H.: Effects of Young Barley Leaf Powder on Gastrointestinal Functions in Rats and Its Efficacy-Related Physicochemical Properties. *Evidence-Based*

- Complementary and Alternative Medicine, 2014, 7.
- [5] Takano A., Kamiya T., Tomozawa H., Ueno S., Tsubata M., Ikeguchi M., Takagaki M., Okushima A., Miyata Y., Tamaru S., Tanaka K., Takahashi T.: Insoluble Fiber in Young Barley Leaf Suppresses the Increment of Postprandial Blood Glucose Level by Increasing the Digesta Viscosity Evidence. *Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 10.
- [6] Havlíková L., Šatínský D., Opletal L., Solich P.: A Fast Determination of Chlorophylls in Barley Grass Juice Powder Using HPLC Fused-Core Column Technology and HPTLC. *Food Analytical Methods*, 2014, 7: 629-635.
- [7] Paulíčková I., Ehrenbergerová J., Fiedlerová V., Gabrovská D., Havlová P., Holasová M., Kopáček J., Ouhrabková J., Pinkrová J., Rysová J., Vaculová K., Winterová R.: Evaluation of Barley Grass as a Potential Source of Some Nutritional Substances. *Czech Journal of Food Sciences*, 2011, 2: 65-72.
- [8] Yu YM., Wu CH., Tseng YH., Tsai CE., Chang WC.: Antioxidative and Hypolipidemic Effects of Barley Leaf Essence in a Rabbit Model of Atherosclerosis. *Jpn J. Pharmacol.*, 2002, 89: 142-148.
- [9] Kobus-Cisowska J., Szymanowska-Powałowska D., Szczepaniak O., Kmieć D., Przeor M., Gramza-Michałowska A., Cielecka-Piontek J., Smuga-Kogut M., Szulc P.: Composition and In Vitro Effects of Cultivars of *Humulus lupulus* L. Hops on Cholinesterase Activity and Microbial Growth, *Nutrients*, 2019, 11(6): 1377.
- [10] Amarowicz R., Pegg RB.: Content of proanthocyanidins in selected plant extracts as determined via n-butanol/HCl hydrolysis and a colorimetric assay or by HPLC, *Polish journal of food and nutrition sciences*, 2006, 3: 319-322.
- [11] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M.: Rice-Evans C Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, 9-10: 1231-1237.
- [12] Chomchan R., Siripongvutikorn S., Puttarak P., Rattanapon R.: Investigation of phytochemical constituents, phenolic profiles and antioxidant activities of ricegrass juice compared to wheatgrass juice *Functional Foods in Health and Disease*, 2016, 6: 822-835.
- [13] Kiewlicz J.: Evaluation of Total Phenolic Content and Antioxidant Properties of the Water Extract of the Powdered Barley Grass (*Hordeum vulgare* L.), *Towaroznawcze Problemy Jakości*, 2016, 2: 29-37.
- [14] Koga R., Meng T., Nakamura E., Miura C., Irino N., Devkota H., Yahara S., Kondo R.: Model examination for the effect of treading stress on young green barley (*Hordeum vulgare*), *The American Journal of Plant Sciences*, 2013, 4, 1: 174181.
- [15] Choe J., Jang A., Choi J., Choi Y., Han D., Kim H., Lee M., Kim H., Kim C.: Antioxidant Activities of Lotus Leaves (*Nelumbo nucifera*) and Barley Leaves (*Hordeum vulgare*) Extracts. *Food Science and Biotechnology*, 2010, 19: 831-836.
- [16] Anwar F., Qayyum H.M.A., Hussain A.I., Iqbal S.: Antioxidant activity of 100% and 80% methanol extracts from barley seeds (*Hordeum vulgare* L.): stabilization of sunflower oil. *Grasas y aceites*, 2010, 61: 237-243.

EVALUATION OF POLYPHENOLS CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BARLEY GRASS (*Hordeum vulgare* L.) FROM SPRING AND WINTER CEREALS

Summary

In this work, health-related properties of barley (*Hordeum vulgare* L.) were assessed. Extracts from 8 plant varieties were tested for antioxidant potential and bioactive compounds contained in the extracts were characterized. Studies have shown that young barley indicates antioxidant activity and is also a rich source of phytochemicals. Flavonols, such as catechin, epicatechin, quercetin, and rutin, were found in ethanol extracts. The extracts showed a higher ABTS radical inhibiting ability than DPPH.

Keywords: young barley, polyphenols, antioxidants, ABTS, DPPH