SVEIKATOS MOKSLAI /
HEALTH SCIENCES IN EASTERN EUROPE
ISSN 1392-6373 print / 2335-867X online
2021, 31 tomas, Nr.7, p. 11-14
DOI: https://doi.org/10.35988/sm-hs.2021.212

RAPSŲ SĖKLŲ BRASSICA NAPUS DODGER KOKYBINIS VERTINIMAS PAGAL FENOLINIŲ JUNGINIŲ KIEKĮ IR ANTIOKSIDACINĮ AKTYVUMĄ

Diana Barragan Ferrer, Jesus Manuel Barragan Ferrer, Antanas Šetkus
Kauno kolegija, Medicinos fakultetas

Raktažodžiai: rapsų sėklos, fenoliniai junginiai, antiradikalinis aktyvumas.

Santrauka

Rapsai – vieni iš svarbiausių prekinių augalų Lietuvoje. Rapsų aliejus naudojamas biodegalų gamybai ir kaip maisto produktas, o rapsų išspaudos – baltymingas pašaras galvijams, kiaulėms, paukščiams bei žuvims. Rapsai auginami sėkloms, žaliajam pašarui, silosui ir kaip sideratai. Pasaulyje vis plačiau taikomi rapsų sėklų perdirbimo ribojimai. Perdirbimo procesai dokumentuojami, siekiant stebėti gamybos eigą ir gerinti rapsų produktų kokybę. Naudojant rapsų sėklas tik aliejaus gamybos procese, lieka daug atliekų, kurios turi būti utilizuojamos arba perdirbamos. Populiarėjant beatliekės gamybos procesams, rapsų išspaudos gali būti naudojamos išskirti fitokomponentus, tokius kaip vandenyje tirpūs antioksidantai, ir juos pritaikyti maisto papildų gamybai.

Tyrimo tikslas − nustatyti fenolinių junginių kiekį ir antioksidacinį aktyvumą Brassica napus Dodger sėklose. Tyrimo rezultatai parodė, kad tirtuose vandeniniuose ir etanoliniuose ekstraktuose yra antioksidantų ir fenolinių junginių. Antioksidantų aktyvumui įtakos turėjo tirpikis ir ekstrakcijos laikas. Nustatyta, kad visų tirtų ekstraktų sudėtyje buvo nustatyti fenoliniai junginiai, tačiau nėra tiesioginės priklausomybės tarp antioksidacinio aktyvumo ir fenolinių junginių kiekio.

Įvadas

Laisvųjų radikalų egzistavimas žinomas daugiau nei penkiasdešimt metų, tačiau tik pastaruoju dešimtmečiu buvo atskleistas jų vaidmuo vystantis įvairioms ligoms, bei antioksidantų poveikis laisviesiems radikalams [1]. Veikiant laisviesiems radikalams, žmogaus organizme susidaro toksiniai junginiai. Jie gaminasi vykstant ląstelių metabolizmui, arba veikiant aplinkos veiksniams, tokiems kaip atmosferos tarša, cigarečių dūmai, radiacija. Kai laisvųjų radikalų pasigamina tiek daug, nei organizmas gali jų sunaikinti, sukeliamas reiškinys, vadinamas oksidaciniu stresu [1]. Šis reiškinys turi įtakos lėtinių ir degeneracinių ligų atsiradimui. Žmogaus organizmas turi mechanizmą, apsaugantį nuo oksidacinio streso atsiradimo – tai antioksidantai, kurie gaminasi natūraliai žmogaus kūne arba gaunami su maistu. Pastaruoju metu populiarėja gauti antioksidantus iš pramonėje susidariusių atliekų, pvz., išspaudų. Rapsai yra viena iš svarbiausių aliejinių kultūrų pasaulyje ir laikoma antru plačiausiai naudojamu aliejiniu maisto pramonės gaminiu. Gaminant aliejų, lieka daug atliekų (išspaudų), kurios kelia vis didesnį susirūpinimą dėl jų utilizavimo, todėl mokslininkai aiškinasi, kaip iš šių atliekų išskirti fitokomponentus, tinkamus maisto ar farmacijos pramonei gaminti įvairius produktus. Rapsų rupiniai yra šalutinis produktas, liekantis iš rapsų sėklų išspaudus aliejų. Tai daug baltymų turintis produktas, dažnai naudojamas naminių gyvulių arba paukščių pašarui. Įprastai rapsų rupiniai turi apie 40 proc. baltymų, 12 proc. maistinių skaidulų ir nedidelį kiekį gliukozinolatų [2]. Mokslininkai gilinasi į rapsų panaudojimą biodegalų gamybai, tačiau nėra pakankamai ištirtas išspaudų pritaikymas maisto ar farmacijos pramonei.

Tyrimo tikslas − nustatyti fenolinių junginių kiekį ir antioksidacinį aktyvumą Brassica napus Dodger sėklose.

Tyrimo objektas ir metodika

Mėginių paruošimas. Tyrimui buvo pasirinktos Brassica napus Dodger rapsų sėklos. Buvo ruošiami 1 proc., 5 proc. ir 10 proc. koncentracijos mėginiai, naudojant vandenį ir etanolį. Ekstrakcijos laikas nuo 1 iki 60 min., kas 10 minučių.

Antioksidacinių savybių nustatymas. Rapsų sėklų ekstraktų antioksidacinis aktyvumas buvo nustatomas 2,2-difenil-1 pikrilhidrazilo (DPPH•) radikalo sujungimo metodu [3]. Antiradikalinis aktyvumas vertinamas pagal jų sudėtyje esančių medžiagų gebą neutralizuoti stabilaus 2,2-difenil-1pikrilhidrazilo (DPPH•) radikalo. 50 µl rapsų ekstraktai 1 cm kiuvetėje sumaišomi su 2 ml 6×10–5 M etanolinio

 Adresas susirašinėti: Diana Barragan Ferrer, el. p. diana.barragan.ferrer@go.kauko.lt

DPPH• tirpalo. Spektrofotometru buvo matuojama mėginių absorbcija esant 515 nm bangos ilgiui, kol pasiekiama pusiausvyra (apie 30 min.). Antioksidacinis aktyvumas apskaičiuojamas pagal inaktyvuoto DPPH• radikalo kiekį procentais:

DPPHinaktyv. proc.= [(Ab–Aa)/Ab]×100, kur:

Ab – tuščiojo bandinio absorbcija (t=0 min.),

Aa – bandinio su rapsų ekstraktu absorbcija (t=30 min.).

Rapsų ekstraktuose esančių antiradikališkai aktyvių junginių aktyvumas vertinamas pagal standartinį (etaloninį) antioksidantą troloksą. Rapsų ekstraktuose nesurištų radikalų kiekis išreiškiamas mM/L, ekvivalentiškais troloksui.

Suminis fenolinių junginių kiekio nustatymas. Suminis fenolinių junginių kiekis buvo nustatomas Folin – Ciocalteu metodu [4]. Vienkartiniame mėgintuvėlyje 5 ml Folin – Ciocalteu tirpalo buvo sumaišyti su 1 ml tiriamojo mėginio (rapsų ekstraktas) ir 4 ml 7,5 proc. natrio karbonato tirpalo. Paruoštas mėginys valandą laikytas tamsioje kambario temperatūros vietoje. Po valandos buvo matuojama mėginių absorbcija su spektrofotometru, esant 765 nm bangos ilgiui. Suminis fenolinių junginių kiekis išreiškiamas galo rūgšties ekvivalentais (GAE) vienam gramui žaliavos (rapsams). Kalibracinei kreivei sudaryti buvo naudojamas galo rūgšties vandeninis tirpalas (0,0125 – 0,4 mg/ml). Priklausomybė tarp galo rūgšties kiekio ir standartinių tirpalų absorbcijos dydžio intervale 0,0125 – 0.4 mg/ml išreiškiama tiesine priklausomybe ir apskaičiuojama pagal regresijos lygtį, kur R^2= 0,9981. Fenolinių junginių kiekis apskaičiuojamas pagal formulę

GAE = c x V/m, mg/g, kurioje:

c – galo rūgšties koncentracija mg/ml nustatyta kalibracinės kreivės;

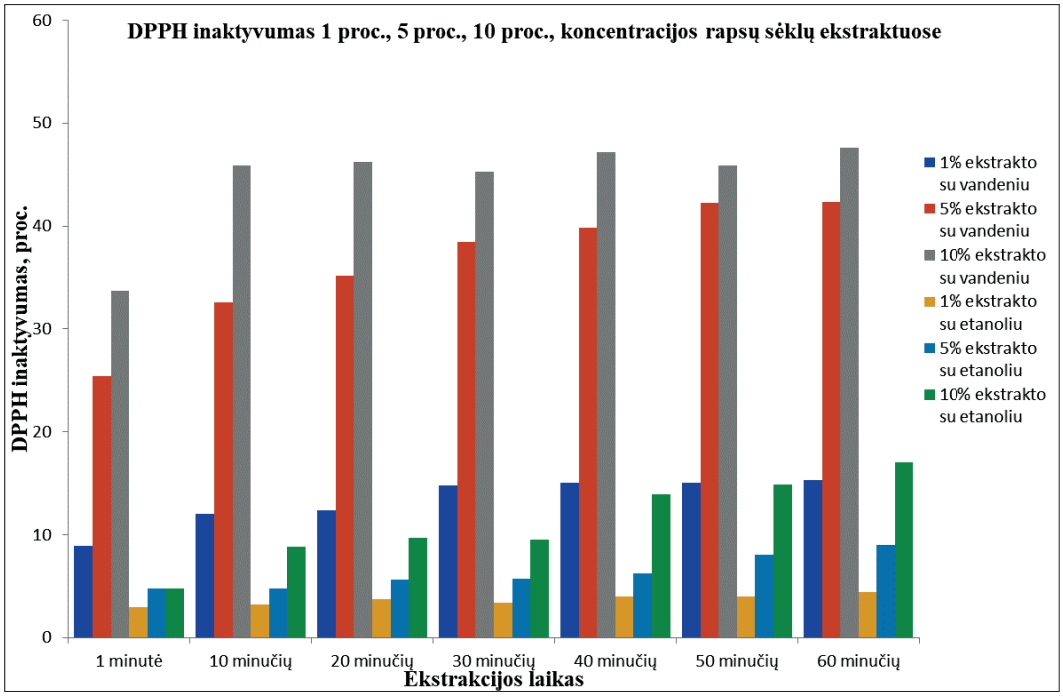
V – ekstrakto tūris ml;

m – tikslus pasvertas žaliavos kiekis g.

Tyrimo rezultatai

Rapsų ekstraktų antioksidacinio aktyvumo kiekio įvertinimas. Rapsų ekstraktų antioksidacinis aktyvumas nustatomas 2,2difenil-1-pikrilhidrazilo (DPPH) radikalo sujungimo metodu modelinėje sistemoje. Radikalo sujungimo rezultatai pateikti DPPH inaktyvinimo procentu (1 pav.).

1 proc. koncentracijos rapsų sėklų ekstraktų aktyvumas didesnis mėginiuose, kuriuose rapsų sėklų ekstrakcija vyko vandenyje, nei etanolyje. Didžiausias antioksidacinis aktyvumas nustatytas, kai ekstrakcijos trukmė 60 minučių (15,3 proc.), o mažiausias, kai ekstrakcijos trukmė 1 minutė (8,88 proc.). Iš gautų rezultatų galima daryti išvadą, kad 1 proc. rapsų sėklų ekstraktuose yra nedidelis kiekis vandenyje tirpių antioksidantų, turinčių antioksidacinių požymių. Vertinant koncentracijos įtaką antioksidacinio aktyvumo



1 pav. DPPH inaktyvumas 1 proc., 5 proc., 10 proc., koncentracijos rapsų sėklų ekstraktuose

pokyčiams, nustatyta, kad didinant koncentraciją, antioksidacinis aktyvumas didėja. Gauti rezultatai parodė, kad visų tirtų koncentracijų ekstraktuose antioksidacinis aktyvumas ženkliai didesnis tuose mėginiuose, kurių ekstrakcijai buvo naudojamas vanduo. Tai parodo, kad tirpiklio poliškumas turi įtakos aktyvių komponentų, pasižyminčių antioksidaciniu poveikiu, ekstrakcijai. Rapsų sėklų antioksidacinis aktyvumas priklauso ir didėja nuo ekstrakto koncentracijos ir ekstrakcijos laiko. Didžiausias antioksidacinis aktyvumas nustatytas ekstrakte, kurio koncentracija buvo 10 proc., o ekstrakcijos laikas 60 minučių. Didžiausi antioksidacinio aktyvumo skirtumai laiko intervale nustatyti tarp 5 proc. koncentracijos ekstraktų, o mažiausi − tarp 10 proc. koncentracijos ekstraktų. Apibendrindami antioksidacinio aktyvumo tyrimo rezultatus, galime teigti, kad stipria antioksidacine galia pasižymėjo vandeniniuose ekstraktuose ekstraktuojamos rapsų sėklos, kai ekstrakcijos laikas buvo ilgesnis, nei 10 minučių.

1 lentelė. Bendras fenolinių junginių kiekis rapsų sėklų (Brassica napus Dodger) ekstraktuose.

Ekstrakcijos laikas, min	Koncentracija, proc. (g/100ml)	Bendras fenolinių junginių kiekis ekstraktuose, mg/g		TEAC, Mm/L ekstraktuose	
		etanoliniuose	vandeniniuose	vandeniniuose	etanoliniuose
1	1	1,54	2,65	0,18	0,07
	5	0,66	1,29	0,51	0,1
	10	0,59	1,08	0,67	0,1
10	1	3,88	3,84	0,25	0,07
	5	2,05	2,09	0,65	0,1
	10	1,47	1,96	0,91	0,18
20	1	4,69	5,25	0,25	0,08
	5	2,58	2,92	0,70	0,12
	10	1,92	2,79	0,92	0,2
30	1	5,48	6,26	0,30	0,08
	5	2,87	3,31	0,77	0,12
	10	2,13	2,82	0,90	0,2
40	1	5,60	7,24	0,31	0,09
	5	2,9	3,92	0,79	0,13
	10	2,15	2,82	0,94	0,28
50	1	6,11	7,32	0,30	0,09
	5	3,24	3,92	0,84	0,17
	10	2,42	2,82	0,91	0,3
60	1	9,21	7,73	0,31	0,1
	5	3,33	4,15	0,84	0,19
	10	2,43	2,82	0,95	0,35

Bendro fenolinių junginių kiekio nustatymo rapsų ekstraktuose įvertinimas. Pasak D. Dobravalskytės ir kt. (2013), fenoliniai junginiai yra labai svarbūs augalų antioksidantai, nes jų struktūroje yra hidroksilo grupių. Nustatyta, kad fenoliniai junginiai, esantys augaluose, gali absorbuoti ir neutralizuoti laisvuosius radikalus [5].

Vertinant rapsų sėklų kokybę, labai svarbu išsiaiškinti jų sudėtyje esančių fenolinių junginių kiekį, nes nuo jo dažnai priklauso antioksidacinis aktyvumas. Tyrimo rezultatai parodė, kad nėra tiesioginės priklausomybės tarp fenolinių junginių kiekio ir antioksidacinio aktyvumo, kadangi ekstraktai, turintys didžiausią kiekį fenolinių junginių, pasižymėjo silpnesniu antioksidaciniu aktyvumu (1 lentelė).

Ekstrakcijos laikas turi įtakos fenolinių junginių išsiskyrimo kiekiui. Ilginant ekstrakcijos laiką, daugiau fenolinių junginių pereina į esktraktuojamą tirpiklį. Didžiausias fenolinių junginių kiekis išskiriamas po 60 minučių, esant 1 proc. koncentracijos etanoliniame ekstrakte (9,21 mg/g) ir palaipsniu mažėja, didinant koncentraciją tuo pačiu ekstrakcijos laiku. Tirpiklis taip pat turi įtakos fenolinių junginių ekstrakcijai. Tyrimo metu nustatyta, jog skirtinguose tirpikliuose fenolinių junginių kiekis, esant trumpam ekstrakcijos laikui, nežymiai skiriasi, o ilgėjant ekstrakcijos laikui šis skirtumas didėja. L. Jingbo (2016) atliktame tyrime nustatytas fenolinių junginių kiekis buvo 4,89 mg/g 1 proc. koncentrato etanoliniame tirpiklyje 42 minučių intervale [6]. Palyginus šio tyrimo rezultatus tokios pat koncentracijos ir panašaus laiko intervale, nustatyta, kad šiame tyrime fenolinių junginių buvo išskirta daugiau, tačiau skirtumas nėra ženklus. Pokyčiams galėjo turėti įtakos rapsų sėklų rūšis, auginimo sąlygos ir metodo atlikimo technika. Galima teigti, kad rapsų sėklų išspaudose yra vandenyje tirpių antioksidantų, kurie gali būti naudojami maisto ar farmacijos pramonei.

Išvados

1. Nustatyta, kad rapsų sėklų ekstraktuose yra antioksidantų. Jų aktyvumas priklauso nuo ekstrakto koncentracijos, ekstrakcijos laiko ir ekstrakcijai naudojamo tirpiklio.

2. Fenolinių junginių ir antioksidacinio aktyvumo tyrime nustatyta, kad visų tirtų rapsų sėklų ekstraktų sudėtyje yra fenolinių junginių, tačiau jų kiekis rapsų sėklų ekstraktuose tiesiogiai nepriklauso nuo antioksidacinio aktyvumo. Ekstraktai, turintys didžiausią kiekį fenolinių junginių, pasižymėjo silpnesniu antioksidaciniu aktyvumu. Vertinant fenolinių junginių kiekio priklausomybę nuo ekstrakcijos laiko ir ekstrakto koncentracijos, nustatyta, kad ilginant eksktracijos laiką, fenolinių junginių pereina daugiau į ekstraktuojamą tirpalą.

Literatūra

1. Zardo I, Poerner Rodrigues N, Sarkis JR, Marczak LDF. Extraction and identification by mass spectrometry of phenolic compounds from canola seed cake. Journal of the Science of Food and Agriculture 2019;100:578-586.
   https://doi.org/10.1002/jsfa.10051
2. Amarowicz R, Fornal J, Karamać M, Shahidi F. Antioxidant activity of extracts of phenolic compounds from rapeseed oil cakes. Journal of Food Lipids 2001;8(1):65-74.
   https://doi.org/10.1111/j.1745-4522.2001.tb00184.x
3. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology 1995;28(1), 25-30.
   https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5
4. Barragan Ferrer D, Venskutonis P, Talou T, Zebib B, Barragan Ferrer J, Merah O. Identification and in vitro Activity of Bioactive Compounds Extracted from Tussilago farfara (L.) Plant Grown in Lithuania and France. Free Radicals Antioxidants. Emanuscript Services 2018;8(1):40-47.
   https://doi.org/10.1007/s35114-018-0126-7
5. Dobravalskyte D, Venskutonis PR, Talou T, Zebib B, Merah O. Antioxidant properties and composition of deodorized extracts of Tussilago farfara L. Records of Natural Products, ACG Publications 2013;7(3):201-209.
6. Jingbo Li, Zheng G. Identification and quantification of phenolic compounds in rapeseed originated lecithin and antioxidant activity evaluation. LWT 2016;73, 397-405.
   https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.039

QUALITATIVE EVALUATION OF BRASSICA NAPUS DODGER SEEDS BY THE TOTAL AMOUNT OF PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDATIVE ACTIVITY

D. Barragan Ferrer, J.M. Barragan Ferrer, A. Šetkus

Keywords: antioxidants, antioxidant activity, phenols, rapeseed.

Summary

Rapeseed is one of the most important commercial plants in Lithuania and is widely used in many industrial processes and consumer products. For example, rapeseed oil is used in the production of biofuels or as a food product. However, one significant disadvantage of the oil production process is that it generates a large amount of waste that must be managed, recovered, or recycled. The Rapeseed cake is a byproduct with a significant amount of phytocomponents such as water-soluble antioxidants. These components could be a source to produce food supplements. Thus, this study aimed to determine the amount of phenolic compounds and the antioxidant activity of Brassica napus seeds. The results of the study showed that the aqueous and ethanolic extracts tested contained antioxidants and phenolic compounds. Antioxidant activity was affected by solvent and extraction time. Phenolic compounds were found to be present in all extracts tested, but no correlation was found between the antioxidant activity and the amount of phenolic compounds.

Correspondence to: diana.barragan.ferrer@go.kauko.lt

Gauta 2021-09-03