

Krzysztof Przygoński, Zofia Zaborowska, Elżbieta Wojtowicz, Bożena Dziarska

OCENA AKTYWNOŚCI PRZECIWIUTLENIAJĄCEJ ZIELA SKRZYPU POLNEGO (*Herba equiseti*)

Oddział Koncentratów Spożywczych i Produktów Skrobiowych w Poznaniu
Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie
Dyrektor Oddziału: dr inż. *M. Remiszewski*, prof. IBPRS

Celem badań było określenie potencjału antyoksydacyjnego ziele skrzyphu polnego. Oznaczono zawartość składników biologicznie aktywnych o właściwościach przeciwutleniających (flawonoidów, kwasu askorbinowego), zawartość sumy związków fenolowych oraz właściwości przeciwutleniające wobec rodników DPPH[•] i kationorodników ABTS^{•+}. Spośród oznaczonych flawonoidów stwierdzono najwyższą zawartość kwercetyny, która wynosiła 2,64 mg/g s.s. Zawartość kwasu askorbinowego wynosiła 0,12 mg/g s.s. Suma związków fenolowych wynosiła 14,53 mg GAE /g s.s., aktywność wobec kationorodników ABTS^{•+} 86,49 mg Tx /g s.s. oraz rodników DPPH[•] 19,53 mg Tx/g s.s.

Hasła kluczowe: skrzyp polny, flawonoidy, aktywność przeciwutleniająca, kwas askorbinowy

Key words: horsetail, flavonoids, antioxidative activity, ascorbic acid

Skrzyp polny (*Equisetum arvense* L.) jest byliną z rodziny skrzypowatych (*Equisetaceae*) występującą pospolicie w całej Europie. Jego ziele stanowi wyjątkowo bogate źródło substancji o działaniu prozdrowotnym (polifenole, saponiny, związki mineralne, kwasy organiczne, sterole roślinne). Ceniony jest ze względu na zawartość łatwo przyswajalnej krzemionki. Zawarty w roślinie krzem nie tylko zapewnia zdrowy wygląd skóry, włosów i paznokci, ale także utrzymuje elastyczność naczyń krwionośnych i zapobiega odkładaniu w nich związków tłuszczowych (1). Preparaty skrzyphu polnego stanowią cenne uzupełnienie diety, zapewniają urodę oraz skutecznie przeciwdziałają przedwczesnym oznakom starzenia (2).

Ziele skrzyphu polnego jest także cennym źródłem związków bioaktywnych, do których zaliczają się między innymi flawonoidy (3). Głównymi związkami czynnymi flawonoidów są glikozydy kwercetyny, kemferolu i apigeniny. Na aktywność przeciwutleniającą surowca wpływa także obecność kwasów organicznych, w tym kwasu askorbinowego. Flawonoidy takie jak kwercetyna i rutyna pełnią funkcje antyoksydantów w stosunku do witaminy C. Wykazano, że opóźniają one przekształcenie askorbinianu do dehydroaskorbinianu i chronią przed działaniem wolnych rodników (4).

Celem pracy była ocena ziela skrzypu polnego pod kątem jego aktywności przeciwutleniającej.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem badawczym było pięć próbek ziela skrzypu polnego zakupionych w handlu detalicznym. Próbki ziela skrzypu ekstrahowano mieszaniną acetonu, metanolu i wody (w proporcjach 7 : 7 : 6). W otrzymanych ekstraktach oznaczono całkowitą zawartość polifenoli, flawonoidy, witaminę C, właściwości przeciwutleniające metodą ABTS i DPPH.

Oznaczanie całkowitej zawartości polifenoli wykonano spektrofotometrycznie, metodą z odczynnikiem *Folina – Ciocalteu* (5). Wyniki podano w przeliczeniu na kwas galusowy (GAE). Ocenę składu jakościowego i ilościowego flawonoidów wykonano po hydrolizie kwaśnej, wg procedury opartej o zmodyfikowaną metodę *Hertoga* i współautorów (6). Analizę chromatograficzną flawonoidów wykonano w oparciu o zmodyfikowaną metodę podaną przez *Sakakibara* i współautorów (7). Zastosowano kolumnę z odwróconą fazą (Thermo Elec. Co. Hypersil GOLD C18) o wymiarach 250 mm x 4,6 mm i średnicy złoży 5 µm oraz fazę ruchomą w układzie gradientowym, dwuskładnikowym o przepływie 1 ml/min.: A – 0,1% kwas mrówkowy w wodzie; B – 0,1% kwas mrówkowy w mieszaninie metanolu z acetonitrylem (80:20). Rozdział prowadzono wg programu gradientowego: 5-70% B (5% w 2 min.; 5-10% w 8 min.; 10% w 15 min.; 30% w 10 min.; 30-70% w 5 min.; 70% w 3 min.; 70-5% w 1 min.; 5% w 6 min.) w temperaturze 30°C. Identyfikację jakościową potwierdzano w oparciu o czasy retencji i porównanie widm absorpcyjnych wzorców (detektor PAD firmy DIONEX). Zawartość rozdzielonych związków oznaczano przy długości fali 380 nm. Witaminę C oznaczono metodą HPLC z detekcją UV (8). Zastosowano kolumnę z odwróconą fazą (Supelco Ascentis) C18 o wymiarach 250 mm x 4,6 mm i średnicy złoży 5 µm. Fazę ruchomą stanowił 0,1% kwas fosforowy o przepływie 1 ml/min. Zawartość witaminy C oznaczano przy długości fali 265 nm. Metoda uwzględniała przejście kwasu dehydroaskorbinowego w kwas askorbinowy. Do oznaczenia właściwości przeciwutleniających ziela skrzypu polnego wykorzystano metodę wykorzystującą zdolności polifenoli do unieczynniania kationorodników ABTS (9) oraz metodę z zastosowaniem wolnego rodnika 1,1 – difenylo-2-pikrylohydrazylu (DPPH) (10), a wyniki podano przeliczeniu na Troloks (Tx). Zawartość wody w surowcu oznaczono metodą suszarkową (11). Wszystkie wyniki podano w przeliczeniu na suchą substancję.

Błąd wyników określono za pomocą odchylenia standardowego (SD), a do obliczeń wykorzystano program Statistica 9.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Średnia zawartość suchej substancji w ziele skrzypu polnego wynosiła 91,3%. Ogólna zawartość polifenoli wyniosła 14,53 mg GAE/g s.s. i jest zbliżona do wyników badań innych autorów. *Katalinic* i współautorzy (12) uzyskali wynik

zawartości ogólnej sumy polifenoli w skrzypie polnym (po przeliczeniu na GAE na s.s.) na poziomie 10,1 mg/g, *Nagai i współautorzy* (13) 12,3 mg/g, a *Duda-Chodak i współautorzy* (14) 6,2 mg/g. Różnicę pomiędzy wartościami uzyskanymi w naszych badaniach a przedstawionych autorów mogą wynikać z różnych sposobów ekstrakcji. *Katalinic i współautorzy* stosowali ekstrakcję gorącą wodą, *Nagai i współautorzy* ekstrakcję etanolem, natomiast *Duda-Chodak i współautorzy* ekstrakcję 80% (v/v) metanolem. Oznaczono cztery flawonoidy: kemferol, luteolinę, apigeninę i kwercetynę. Chromatogramy oznaczanych związków i ich wzorców przedstawiono na ryc. 1. Analizując średnią zawartość poszczególnych flawonoidów w ziele skrzypu stwierdzono wysoką zawartość kwercetyny: 2,64 mg/g s.s. Uzyskana zawartość kwercetyny jest porównywalna do wyników badań uzyskanych przez *Wojdyło i współautorów* (15), gdzie zawartości kwercetyny w wybranych roślinach wynosiła: w połoniczniku nagim 2,28 mg/g s.s., w wierzbownicy drobnokwiatowej 2,14 mg/g s.s, a w jeżówce purpurowej i szalwii była znacznie niższa i wynosiła odpowiednio 0,12 mg/g s.s i 0,18 mg/g s.s. Zawartość kwasu askorbinowego wynosiła 0,12 mg/g s.s. Ocena zdolności przeciwutleniających ziela skrzypu przeprowadzona za pomocą testów ABTS i DPPH wskazała wyższe wartości testu ABTS 28,49 mg Tx/g s.s. niż testu DPPH, 19,53 mg Tx/g s.s. *Duda-Chodak i współautorzy* (14) w swoich badaniach wykazali, że właściwości przeciwutleniające skrzypu polnego oceniane za pomocą testu ABTS szacowały się na poziomie 64,3 mg Tx/g s.s.

Zawartości poszczególnych wyróżników zestawiono w tabeli I. Wyniki stanowią uśrednione wartości uzyskane z pięciu próbek.

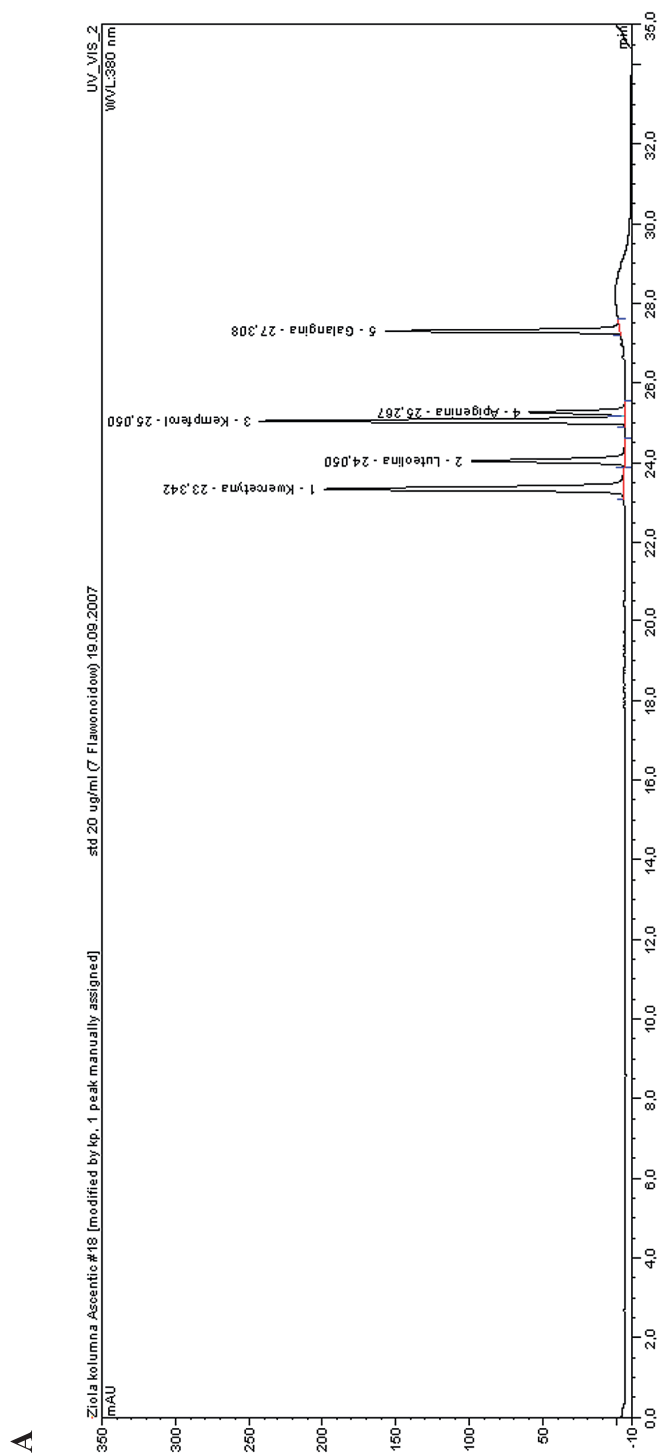
Tabela I. Zawartość sumy związków fenolowych, flawonoidów, witaminy C oraz aktywność przeciwutleniająca w ziele skrzypu polnego

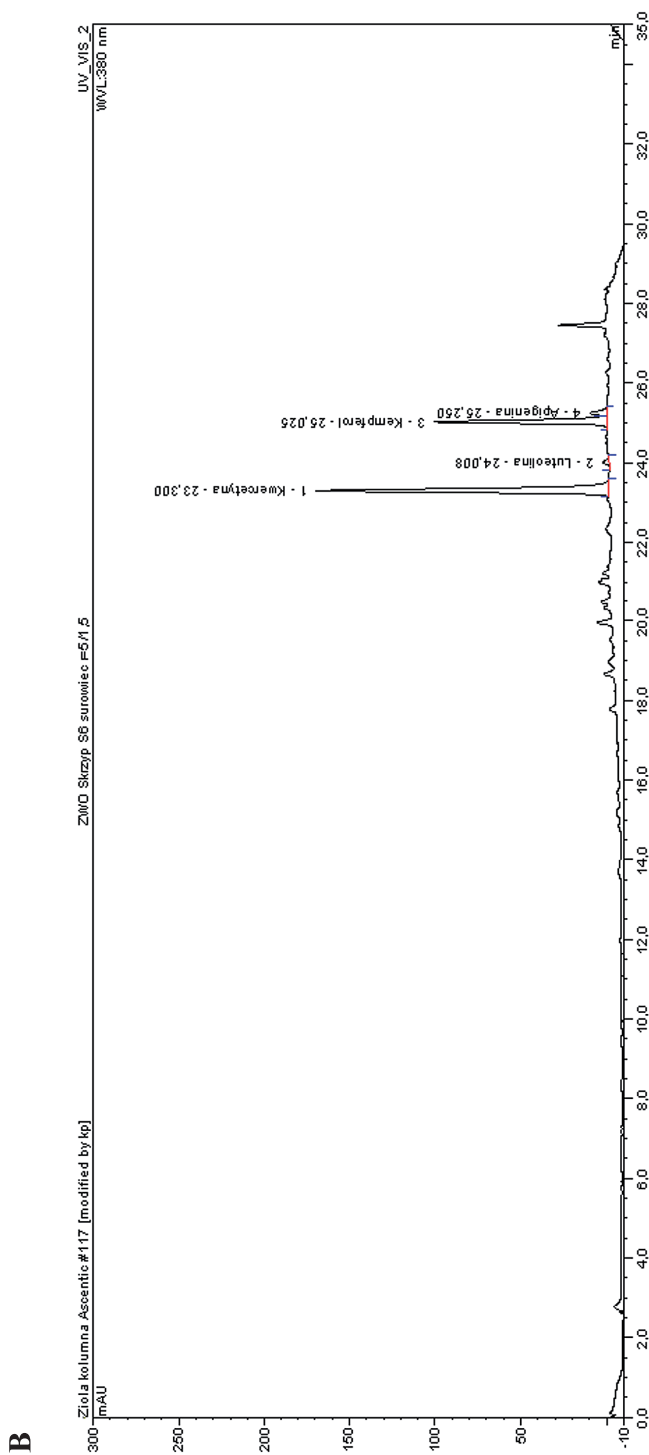
Table I. Content of total polyphenols, flavonoids, ascorbic acid and antioxidant activity in horsetail

Oznaczenie	Ziele skrzypu polnego (Herba equiseti) śr ± SD
Suma związków fenolowych (mg GAE/g s.s.)	14,53 ± 0,04
Flawonoidy:	
- kwercetyna (mg/g s.s.)	2,64 ± 0,02
- luteolina (mg/g s.s.)	0,05 ± 0,01
- kemferol (mg/g s.s.)	0,63 ± 0,01
- apigenina (mg/g s.s.)	0,28 ± 0,01
Witamina C (kwas askorbinowy + kwas dehydroaskorbinowy), (mg/g s.s.)	0,12 ± 0,01
Zdolność przeciwutleniająca metodą ABTS (mg Tx/g s.s.)	28,49 ± 0,30
Zdolność przeciwutleniająca metodą DPPH (mg Tx/g s.s.)	19,53 ± 0,09

SD - odchylenie standardowe

Uzyskane wyniki badań pozwalają stwierdzić, że ziele skrzypu polnego uznane jako cenne źródło krzemu, ze względu na aktywność przeciwutleniającą może być stosowane także w prewencji wielu podstawowych schorzeń.





Ryc. 1. Chromatogram wzorców flawonoidów (kwercetyny, luteoliny, kemferolu, apigeniny, galanginy) (A) oraz przykładowy chromatogram flawonoidów zawartych w skrzypie polnym (*Herba Equiseti*) (B)

Fig. 1. Chromatogram of flavonoid's standards (quercetin, luteoline, kaempferol, apigenine, galangin) (A) and model flavonoid's chromatogram in horsetail (*Herba Equiseti*) (B)

WNIOSKI

1. Badania zawartości flawonoidów w skrzypie polnym wykazały wysoką zawartość kwercetyny
2. Zawartość kwasu askorbinowego w ziele skrzypu była na podobnym poziomie jak w niektórych popularnych owocach i warzywach
3. Ziele skrzypu, ze względu na aktywność przeciwutleniającą może być stosowane w prewencji wielu podstawowych schorzeń.

K. Przygoński, Z. Zaborowska, E. Wojtowicz, B. Dziarska

THE ASSESSMENT OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF HORSETAIL (*HERBA EQUISETI*)

Summary

This study aimed to measure the antioxidant potential of horsetail (*Herba Equiseti*).

The total polyphenols, flavonoids, ascorbic acid contents and antioxidant activity by ABTS and DPPH methods were determined. Ascorbic acid content was 0,12 mg/g d.w. The high content of quercetin 2,64 mg/g d.w. was determined. It was found that the total polyphenol content was 14,53 mg GAE /g d.w., DPPH radical scavening 19,53mg Tx /g d.w., and ABTS 28,49 mg Tx /g d.w.

PIŚMIENICTWO

1. Milovanovic V., Radulovic N., Todorovic Z.: Antioxidant, antimicrobial and genotoxicity screening of hydro-alcoholic extracts of five Serbian Equisetum Species. *Plant Foods Hum. Nutr.* 2007; 62: 113-119.
2. Činčura F., Feráková V., Májovský J., Šomšák L., Borsk J.: Pospolite rośliny środkowej Europy. PWRiL Warszawa, 1990.
3. Nagai T., Myoda T., Nagashima T.: Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (*tsukushi*) *Equisetum arvense* L. *Food Chem.*, 2005; 91: 389-394.
4. Miller E., Malinowska K., Gałęcka E., Mrowicka M., Kędziora J.: Rola flawonoidów jako przeciwutlenia-czy w organizmie człowieka. *Pol. Merkurusz Lek.*, XXIV, 2008; (144), 556-560.
5. Singleton V. L., Rossi J. A.: Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic - Phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1965; 16: 144-158.
6. Hertog M. G. L., Hollman P. C. H., Enema D. P. Optimization of quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 1992; 40: 1591-1598.
7. Sakakibara H., Honda Y., Nakagawa S., Ashida H., Kanazawa K.: Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas. *J. Agric. Food Chem.*, 2003; 51: 571-581.
8. PN-EN 14130: 2004 Artykuły żywnościowe. Oznaczanie witaminy C metodą HPLC.
9. Nuutila A. M., Puupponen-Pimia R., Aarni M., Oksman-Caldentey K. M. Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. *Food Chem.* 2003; 81: 485-493.
10. Re R., Pellegrini N., Prollegente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. A.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 1999; 9-10: 1231-123.
11. PN-R-87019:1991 Surowce zielarskie. Pobieranie próbek i metody badań.
12. Katalinik V., Milos M., Kulic T., Juki M.: Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chem.*, 2006; 94: 550-557.
13. Nagai T., Myoda T., Nagashima T.: Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (*tsukushi*) *Equisetum arvense* L. *Food Chem.*, 2005; 91: 389-394.
14. Duda-Chodak A., Tarko T., Rus M.: Antioxidant activity of selected herbal plants. *Herba Pol.*, 2009; 55 (4): 65-77.
15. Wojdyło A., Oszmiański J., Czemerys R.: Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem.*, 2007; 105: 940-949.