

Magdalena Jeszka, Joanna Kobus, Ewa Flaczyk

OKREŚLENIE POTENCJAŁU ANTYOKSYDACYJNEGO EKSTRAKTÓW Z LIŚCI MORWY BIAŁEJ

Katedra Technologii Żywności Człowieka Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu
Kierownik: prof. dr hab. J. Korczak

Celem badań było oznaczenie potencjału antyoksydacyjnego ekstraktów, acetonowego, etanolowego oraz wodnego z liści morwy białej, to znaczy: ogólnej zawartości związków redukujących, aktywności przeciwrodnikowej z wykorzystaniem rodnika DPPH oraz właściwości redukujących żelazo (III) i właściwości chelatujących żelazo (II).

W pracy wykazano, że ekstrakt acetonowy z liści morwy białej charakteryzował się najwyższym potencjałem antyoksydacyjnym, ponieważ najlepiej „zmiatał” rodnik DPPH, posiadał najwyższą ogólną zawartość związków redukujących oraz zdolność do redukcji żelaza (III) i chelatowania żelaza (II). Najniższą aktywnością antyoksydacyjną wobec rodnika DPPH oraz najniższymi właściwościami redukującymi i chelatującymi, a także ogólną zawartością związków redukujących charakteryzował się ekstrakt wodny.

Hasła kluczowe: liście morwy białej, ogólna zawartość związków redukujących, polifenole, siła redukująca, właściwości chelatujące, zmiatanie rodnika DPPH.

Key words: *Morus alba* leaves, total content of reducing compounds, polyphenols, reducing power, chelating activity, DPPH scavenging activity.

Morus alba L. jest rośliną używaną od wieków w medycynie Dalekiego Wschodu w leczeniu cukrzycy, czy też zakażeń bakteryjnych. Prowadzone w ostatnich latach bardzo liczne badania wskazują, że związki polifenolowe występujące w świecie roślin, w tym również w liściach morwy białej charakteryzują się szerokim spektrum działania, w tym właściwościami chelatującymi, redukującymi i są udokumentowanym czynnikiem przeciwrodnikowym. Wiele doniesień naukowych wskazuje na to, że substancje chemiczne znajdujące się w liściach morwy mogą zapobiegać chorobom cywilizacyjnym powstającym w wyniku reakcji wolnorodnikowych, w tym chorobom nowotworowym (1), chorobom krążenia (2), cukrzycy typu II (3), a nawet chorobom układu nerwowego (4). Naukowcy zbadali również wpływ ekstraktów z liści morwy na depigmentację skóry (5), a także dowodzą oni, że liście morwy posiadają wysoką aktywność antibakteryjną i przeciwwirusową (6).

Z danych literaturowych wynika, że liście morwy charakteryzują się wysoką zawartością związków o aktywności przeciwutleniającej (2). Dlatego też w niniejszej pracy postanowiono zbadać potencjał antyoksydacyjny ekstraktów acetonowych, etanolowych i wodnych z liści morwy na podstawie aktywności wobec rodnika DPPH oraz właściwości redukujących i chelatujących, a także ogólnej zawartości związków redukujących oznaczanych z odczynnikiem *Folina-Ciocalteu*.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły wysuszone w 40°C zielone liście morwy białej zebrane we wrześniu 2008 roku na terenie Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, rozdrobione (0,8–0,08 mm) w młynku laboratoryjnym. Wydzieloną na sitach frakcję przechowywano w szczelnych pojemnikach w temperaturze 4°C. Proszek z liści ekstrahowano jednokrotnie:

- acetonem i wodą (3:2, v/v) przez 1,5 h w temp. 40°C,
- etanolem i wodą (3:2, v/v) przez 16 h w temp. 20°C,
- wodą redestylowaną przez 15 minut w temp. 95°C.

Wszystkie ekstrakcje wykonano przy stosunku ilościowym liści do ekstrahenta jak 1:50 (m/v).

Ogólną zawartość związków redukujących, wyrażoną w g/100 g s.m. liści, wykonano przy użyciu odczynnika *Folina-Ciocalteau* (7).

Do oznaczenia aktywności przeciwrodnikowej ekstraktów wykorzystano metodę z rodnikiem DPPH (8), a wyniki wyrażono w % zmiatania rodnika DPPH.

Zdolność ekstraktów do redukowania Fe³⁺ mierzono za pomocą metody opracowanej przez *Oktaya* i współpr. (9) przy długości fali 700 nm, natomiast oznaczenie zdolności do chelatowania jonów Fe²⁺ według *Tanga* i współpr. (10) wyznaczono w procentach.

Wyniki z powyższych badań podano w przeliczeniu na suchą substancję (s.m.) ekstraktu. Wszystkie oznaczenia wykonano z użyciem spektrofotometru firmy Metertek SP-830, Tajwan.

Analizy wykonano w trzech powtórzeniach (n = 3), wyniki poddano jednoczynnikowej analizie statystycznej ANOVA (Statistica 8.0). Określono istotność różnic za pomocą testu *Tuckeya* przy poziomie istotności p ≤ 0,05.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

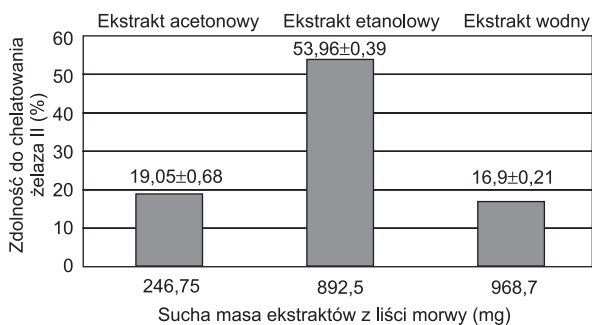
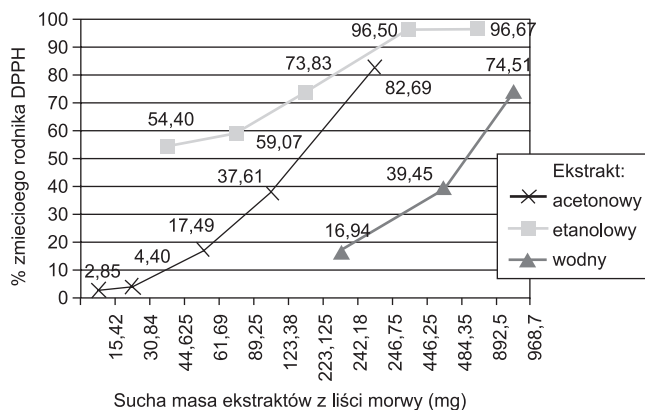
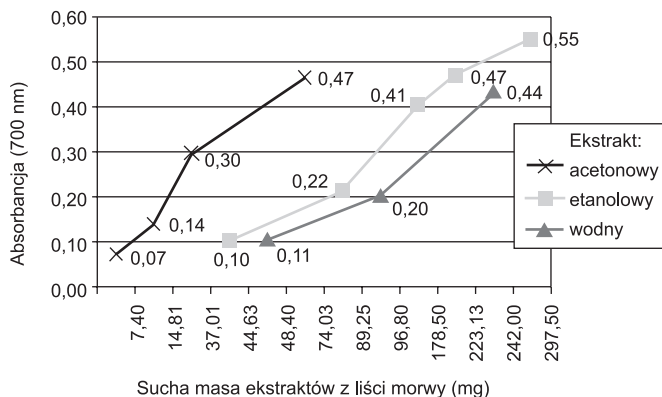
Ogólna zawartość związków redukujących w badanych ekstraktach wahała się od 0,49 do 1,14 g/100 g s.m. liści (tab. I). Stwierdzono, że ogólna zawartość związków redukujących w ekstrakcie acetonowym była ponad dwukrotnie wyższa niż w ekstraktach etanolowym i wodnym. Podobnie jak dla omawianych ekstraktów, *Arabs-hahi-Delouee* i *Urooj* (11) uzyskali również najniższą ogólną zawartość związków

Tab e l a I. Sucha masa oraz ogólna zawartość związków redukujących w ekstraktach z liści morwy białej

Tab l e I. Extract yield and total content of reducing compounds of *Morus alba* leaves extracts

Ekstrakty z liści morwy białej	Sucha masa ekstraktów, g/100 g s.m. liści	Ogólna zawartość związków redukujących, g/100 g s.m. liści
acetonowy	15,00 ^a	1,14 ± 0,08 ^a
etanolowy	10,24 ^b	0,56 ± 0,03 ^b
wodny	16,75 ^a	0,49 ± 0,06 ^b

^{a,b} – istotność różnic dla poziomu istotności p ≤ 0,05



Ryc.1. Właściwości redukujące, aktywność wobec rodnika DPPH oraz właściwości chelatujące ekstraktów z liści morwy białej.

Fig.1. Reducing powers, DPPH radical scavenging activities and chelating activities of *Morus alba* leaves extracts.

redukujących w ekstrakcie wodnym z liści *Morus indica* zaliczanej według obowiązującej klasyfikacji botanicznej do *Morus alba*. Jednakże przygotowanie ekstraktów (metanolowego, acetonowego oraz wodnego) przez wspomnianych naukowców polegało na ekstrakcji przez całą noc 15 g suchych liści za pomocą 100 ml ww. rozpuszczalników. Znacznie wyższy stosunek liści do rozpuszczalników, jak również inne warunki ekstrakcji spowodowały wyższe stężenie składników aktywnych uzyskane przez tych autorów.

Wszystkie badane ekstrakty posiadały właściwości redukujące żelazo (III) (ryc. 1).

W wypadku ekstraktu acetonowego wartość absorbancji wyniosła 0,47, co odpowiadało stężeniu 74,02 mg s.m. ekstraktu. Natomiast dla stężenia w próbce 297,50 mg s.m. ekstraktu etanolowego absorbancja była równa 0,55, a dla stężenia 242,00 mg s.m. ekstraktu wodnego wynosiła 0,44. Ekstrakt acetonowy,

o najwyższej ogólnej zawartości związków redukujących, wykazał zdecydowanie najwyższe właściwości redukujące, w porównaniu do pozostałych badanych eks-

traktów. Wodny ekstrakt, o najniższej ogólnej zawartości związków redukujących, posiadał najniższe właściwości redukujące, co jest zgodne z badaniami *Arabshahi-Delouee* i *Urooj* (11).

Wyjściowy ekstrakt acetonowy zmiatał rodnik DPPH całkowicie, a jego rozcieńczenia uzyskiwały mierzalne wartości w zakresie od 2,85–82,69% zmiatania DPPH. Najniższe właściwości zmiatania rodnika DPPH posiadał surowy ekstrakt wodny, co odpowiadało wartości 74,51%.

Związki polifenolowe chelatują prooksydacyjne jony metali (tu: Fe^{2+}), przez co blokują ich zdolność do generowania wolnych rodników w żywności lub w organizmie człowieka. Zdolność do chelatowania żelaza posiadały wszystkie badane ekstrakty, a najwyższe właściwości wykazywał ekstrakt acetonowy, którego rozcieńczenie w próbie do 246,75 mg s.m. ekstraktu, posiadało zdolność do chelatowania Fe^{2+} w 19,05%. Wprawdzie ekstrakt etanolowy w stężeniu 892,5 mg s.m. w próbie, chelatował Fe^{2+} w 53,96%, ale ekstrakt wodny przy stężeniu 968,7 mg s.m. ekstraktu wykazywał zdolność do chelatowania Fe^{2+} zaledwie w 16,9%.

WNIOSKI

W pracy wykazano, że wszystkie badane ekstrakty z liści morwy białej wykazywały aktywność przeciwutleniającą. Ekstrakt acetonowy z liści morwy białej wykazywał najwyższą aktywność wobec rodnika DPPH, charakteryzował się najwyższą ogólną zawartością związków redukujących oraz posiadał właściwości redukujące Fe^{3+} i chelatujące Fe^{2+} . Z przeprowadzonych wyników badań można wywnioskować, że spośród trzech wariantów pozyskania ekstraktów, najbardziej efektywna była ekstrakcja acetonem i wodą (3:2, v/v) przez 1,5 h, w temp. 40°C.

Przeprowadzone badania mają charakter pilotażowy i powinny być potwierdzone dodatkowymi testami określającymi potencjał antyoksydacyjny ekstraktów z liści morwy białej.

M. Jeszka, J. Kobus, E. Flaczyk

ANTIOXIDANT POTENTIAL OF *MORUS ALBA* LEAVES EXTRACTS

Summary

The aim of the study was to determine antioxidant potential of *Morus alba* leaves extracts. Various experimental models including the determination of total content of reducing compounds, DPPH radical scavenging, iron (III) reducing capacity and iron (II) chelating capacity were used for characterization of antioxidant potential of acetone, ethanol and water extracts.

Acetone extract of *Morus alba* leaves with the highest amount of reducing compounds, the highest DPPH radical scavenging, iron (III) reducing capacity and iron (II) chelating capacity showed the best antioxidant potential. However, water extract of mulberry leaves with the lowest amount of reducing compounds, the lowest DPPH radical scavenging, iron (III) reducing capacity and iron (II) chelating capacity showed the worst antioxidant potential.

PIŚMIENNICTWO

1. Choi, E. M., Hwang, J. K.: Effects of *Morus alba* leaf extract on the production of nitric oxide prostaglandin E2 and cytokines in RAW2647 macrophages. *Fitoterapia*, 2005; 76: 608-613. – 2. Katsube T., Imawaka N., Kawano Y., Yamazaki Y., Shiwaku K., Yamane Y.: Antioxidant flavonol glycosides in mulberry (*Morus alba* L.) leaves isolated based on LDL antioxidant activity. *Food Chem.*, 2006; 97: 25-31. – 3. Musabayane, C.T., Bwititi, P.T., Ojewole, J.A.: Effects of oral administration of some herbal extracts on food consumption and blood glucose levels in normal and streptozotocin-treated diabetic rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.*, 2006; 28: 223-228. – 4. Niidome, T., Takahashi, K., Goto, Y., Goh, S. M., Tanaka, N., Kamei, K.: Mulberry leaf extract prevents amyloid beta-peptide fibril formation and neurotoxicity. *Neuroreport*, 2007; 18: 813-816. – 5. Lee, S. H., Choi, S. Y., Kim, H., Hwang, J. S., Lee, B. G., Gao, J. J.: Mulberroside F isolated from the leaves of *Morus alba* inhibits melanin biosynthesis. *Biol. & Pharm. Bull.* 2002; 25: 1045-1048. – 6. Ahmad I., Beg A.: Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. *J. of Ethnopharm.*, 2001; 74: 113-123. – 7. Cheung L.M., Cheung P.C.K., Ooi V.E.C.: Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chem.*, 2003; 81 (2): 249-255. – 8. Amarowicz R., Naczek M., Shahidi F.: Antioxidant Activity of Crude Tannins of Canola and Rapeseed Hulls. *JAOCS*, 2000; 77: 957-961. – 9. Oktay M., Gulcin I., Kufrevioglu O. I.: Determination of *in vitro* antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seeds extracts. *Lebensm.-Wiss. U. Technol.*, 2003; 36: 263-271. – 10. Tang S.Z., Kerry J.R., Sheehan D., Buckley D.J.: Antioxidative mechanisms of Tea catechins chicken meat system. *Food Chem.*, 2002; 76: 45-51.

11. Arabshahi-Delouee, S., Urooj, A.: Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chem.*, 2007; 102: 1233-1240.

Adres: 60-624 Poznań, ul. Wojska Polskiego 31.