

HERBALISM

N^o1(9)/2023



| CZASOPISMO NAUKOWE |

HERBALISM

nr 1(9)/2023

| CZASOPISMO NAUKOWE |

Rada Naukowa

Prof. dr Elvyra Jariene (Vytautas Magnus University Kauno, Lithuania)
Prof. dr Živilė Tarasevičienė (Vytautas Magnus University Kauno, Lithuania)
Prof. dr Halil Barış Özel (Bartın University, Turcja)
Prof. dr hab. Wołodymyr Lychowczor (Lwowski Narodowy Uniwersytet Rolniczy, Ukraina)
Prof. Imran Aslan (Bingöl University, Turcja)
Dr inż. Miroslav Šlosár (Slovak University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic)
Dr Parisa Ziarati (Food and Agricultural Research Center, Pars Arya LTD, Tehran, Iran)
Prof. dr hab. Iwona Wawer (Karpacka Państwowa Uczelnia w Krośnie)
Prof. dr hab. Grzegorz Bazylak (Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Bydgoszczy)
Prof. dr hab. Stanisław Boryczka (Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach)
Prof. dr hab. Józefa Chrzanowska (Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu)
Prof. dr hab. inż. Jan Grajewski (Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy)
Dr hab. Malgorzata Jarossová (University of Economics in Bratislava, Slovak Republic)
Prof. dr hab. Adam Kaznowski (Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu)
Dr Nadeem Ahmad Khan (College Nuh, Haryana, Indie)
Dr Altaf Hussain Lahori (Sindh Madressatul Islam University, Karachi, Pakistan)
Prof. dr hab. Rafał Matkowski (Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu)
Prof. Yuliya Motuzka (State University of Trade and Economics, Ukraina)
Dr hab. inż. Iwona Mystkowska (Akademia Białka Nauk Stosowanych im. Jana Pawła II w Białej Podlaskiej)
Prof. dr hab. Roman Niżnikowski (Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie)
Prof. dr hab. inż. Barbara Sawicka (Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie)
Prof. dr hab. inż. Tadeusz Trziszka (Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu)
Dr hab. Katarzyna Seidler-Łożykowska (Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu)
Dr hab. Magdalena Twarużek (Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy)
Prof. Viola Wambol (Yuri Kondratyuk Poltava Polytechnic, Ukraina)
Dr hab. Danuta Zarzycka (Uniwersytet Medyczny w Lublinie)
Dr hab. Łukasz Luczaj (Uniwersytet Rzeszowski)
Dr hab. Renata Benda Prokeinova (Slovak University of Agriculture, Slovak Republic)
Dr hab. Katarína Gubíniová (Comenius University Bratislava, Slovak Republic)
Dr inż. Agnieszka Ginter (Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach)
Dr Raed S. Shehata (Damanhour University, Ministry of Agriculture, Egipt)

Recenzenci

Prof. dr hab. Jadwiga Aniol-Kwiatkowska (Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu)
Dr inż. Tomasz Cebulak (Uniwersytet Rzeszowski)
Prof. dr hab. Honorata Danilenko (Vytautas Magnus University Academy, Lithuania)
Prof. dr hab. Ilona Kaczmarczyk-Żebrowska (Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach)
Dr hab. Ireneusz Kapusta (Uniwersytet Rzeszowski)
Dr inż. Joanna Kaszuba (Uniwersytet Rzeszowski)
Dr inż. Anna Kiełtyka-Dadasiewicz (Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie)
Dr hab. Elżbieta Kondratowicz-Pietruszka (Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie)
Dr hab. Beata Król (Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie)
Dr hab. Maciej Oziębłowski (Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu)
Dr Paweł Siudem (Warszawski Uniwersytet Medyczny)
Dr hab. inż. Jacek Słupski (Uniwersytet Rolniczy w Krakowie)
Dr inż. Małgorzata Stryjecka (Państwowa Akademia Nauk Stosowanych w Chełmie)
Prof. dr hab. inż. Antoni Szummy (Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu)
Dr n. wet. Mirosław Welz (Wojewódzki Inspektorat Weterynarii w Krośnie)
Dr hab. Grażyna Zawiaślak (Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie)
Dr hab. Anna Kocira (Państwowa Akademia Nauk Stosowanych w Chełmie)
Dr inż. Aneta Bobryk-Mamczarz, PZZ LUBELLA GMW Sp. z o.o., Sp. k.
Dr hab. Renata Tobiasz-Salach (Uniwersytet Rzeszowski)
Dr hab. Elżbieta Sikora (Politechnika Krakowska)

Redaktor Naczelna

Dr hab. inż. Barbara Krochmal-Marczak

Redaktorzy Tematyczni

Dr hab. Katarzyna Paradowska
Dr Henryk Różański

Redaktor Statystyczny

Dr Justyna Kurkowiak

Sekretarz Redakcji

Mgr Jolanta Witkoś

Projekt okładki

Anna Czerny / www.annczerny.pl

Korekta

Magdalena Rudnik

Skład, przygotowanie do druku

Jadwiga Popowska
ISSN 2450-4963

Pierwotną formą czasopisma HERBALISM jest wersja papierowa

Czasopismo jest indeksowane w bazach: AGRO, PBL GBL, Pol-index, EBSCO, Index Copernicus Journal Master List

Wydawca

Państwowa Akademia Nauk Stosowanych w Krośnie
Polskie Towarzystwo Zielarzy i Fitoterapeutów
Rynek 1, 38-400 Krosno
tel.: +48 13 437 55 00
e-mail: herbalism@pans.krosno.pl
www.herbalism.edu.pl

Spis treści

Analiza składu chemicznego preparatów zawierających ekstrakt z bzu czarnego

The analysis of the chemical composition of preparations containing elderberry extract

Angelika Uram-Dudek, Iwona Wawer, Katarzyna Paradowska. 6

Specific way of controlling yield and quality of crops of rocket (*Eruca sativa* Mill.) and tailoring some of its functional properties

Specyficzna modulacja kontroli wydajności i jakości plonów rukoli (*Eruca sativa* Mill.) oraz niektórych jej właściwości funkcjonalnych

Katarzyna Ciesielska, Wojciech Ciesielski, Damian Kulawik, Zdzisław Oszczyda, Elżbieta Pisulewska, Piotr Tomasik 19

Specific modulation of flavor and aroma of Greek oregano (*Origanum vulgare var. hirtum*) and its essential oil

Specyficzna modulacja smaku i aromatu greckiego oregano (*Origanum vulgare var. hirtum*) i jego olejku eterycznego

Wojciech Ciesielski, Maciej Gąstoł, Tomasz Girek, Damian Kulawik, Zdzisław Oszczyda, Elżbieta Pisulewska, Piotr Tomasik 36

Wpływ hesperydyny na rozwój stresu oksydacyjnego w sercu szczurów z cukrzycą typu 1

Effect of hesperidin on the development of oxidative stress in the heart of type 1 diabetic rats

Piotr Bramora, Maria Zych, Weronika Borymska, Ilona Kaczmarczyk-Żebrowska 50

Porównanie właściwości kosmetycznych i dermatologicznych ekstraktu oraz fermentu z owoców rokitnika zwyczajnego otrzymanego w procesie fermentacji z wykorzystaniem grzyba herbacianego kombuchy

Comparison of cosmetic and dermatological properties of extract and ferment of sea buckthorn fruit obtained by fermentation using kombucha tea fungus

Aleksandra Ziemlewska, Katarzyna Klimczak, Martyna Zagórska-Dziok, Zofia Nizioł-Łukaszewska 67

Masłosz Parka *Vitellaria paradoxa* jako źródło cennego surowca kosmetycznego

Shea tree *Vitellaria paradoxa* as a source of valuable cosmetic raw material

Wiktoria Simka, Katarzyna Kowalik 83

**Potencjał antyoksydacyjny wodnych ekstraktów z kwiatów
roślin jagodowych**

Antioxidant potential of water extracts from flowers of berry plants

Agnieszka Wysokińska, Iwona Wawer, Katarzyna Paradowska. 95

**Analiza właściwości antyoksydacyjnych fermentowanych żywych
octów owocowych**

The analysis of antioxidant properties of fermented active vinegar from fruits

Angelika Uram-Dudek, Iwona Wajs, Katarzyna Paradowska 111

Ocena zawartości żelaza w wybranych płatkach owsianych

Evaluation of the iron content of selected oat flakes

Aleksandra Dmitrowicz, Iwona Mystkowska, Ewa Plażuk, Jakub Targoński . . . 125

**Znaczenie skrobi ze szczególnym wskazaniem na produkt przemysłowego
przetwórstwa ziemniaków – skrobię ziemniaczaną**

The importance of starch with special emphasis on
the product of industrial potato processing – potato starch

Agnieszka Ginter, Krystyna Zarzecka, Marek Gugąła, Iwona Mystkowska. 135

Właściwości odżywcze ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.)

Nutritional properties of the potato (*Solanum tuberosum* L.)

Iwona Mystkowska, Krystyna Zarzecka 146

Wartość lecznicza i fizjoterapeutyczna miodu pszczelego

Healing and physiotherapeutic value of bee honey

Iwona Mystkowska, Krystyna Zarzecka, Agnieszka Ginter,

Aleksandra Dmitrowicz. 154

***Equisetum arvense* L. field horsetail (*Equisetaceae* Michx. ex DC.)**

Equisetum arvense L. skrzyp polny (*Equisetaceae* Michx. ex DC.)

Dominik Wróbel, Henryk Różański 166

**Johannes Treutler (1820–1892) – kontekst historyczno-kulturowy
oraz postać pustelnika z Mariańskiej Góry**

Johannes Treutler (1820–1892) – historical and cultural context
and the figure of a hermit from Mariańska Góra

Sebastian Fröhlich 178

Szanowni Czytelnicy!

Z przyjemnością przekazujemy Państwu dziewiąty numer *Herbalismu*. W tegorocznym numerze proponujemy lekturę interesujących rozważań na wiele tematów tj.: analizy składu chemicznego preparatów zawierających ekstrakt z bzu czarnego z wykorzystaniem metod spektroskopowych czy też artykuł dotyczący właściwości antyoksydacyjnych wodnych ekstraktów z kwiatów roślin jagodowych oraz fermentowanych żywych octów owocowych.

Wyrażamy nadzieję, że zainteresowanie Czytelników wzbudzi artykuł opisujący wpływ hesperydyny na rozwój stresu oksydacyjnego w sercu szczurów z cukrzycą typu 1, a także artykuł przedstawiający wyniki badań właściwości kosmetycznych i dermatologicznych ekstraktu oraz fermentu z owoców rokitnika zwyczajnego otrzymanego w procesie fermentacji z wykorzystaniem grzyba herbacianego kombuchy, czy też artykuł dotyczący gatunku *Vitellaria paradoxa* jako źródła cennego surowca stosowanego w preparatach kosmetycznych.

Wart uwagi jest także artykuł dotyczący wartości leczniczych i fizjoterapeutycznych miodu pszczelego oraz praca dotycząca oceny zawartości żelaza w wybranych płatkach owsianych.

Polecamy do lektury także prace opisujące wybrane rośliny zielarskie, przyprawowe i uprawne charakteryzujące się cennymi właściwościami prozdrowotnymi.

W dziale historycznym „Z dziejów fitoterapii” znajdziecie Państwo artykuł „Johannes Treutler (1820–1892) – kontekst historyczno-kulturowy oraz postać pustelnika z Mariańskiej Góry”, najśłynniejszego pustelnika ówczesnego hrabstwa kłodzkiego.

Mamy nadzieję, że zaproponowana przez Redakcję zawartość *Herbalismu* w roku 2023 przyniesie Czytelnikom poznawczą satysfakcję z przedstawionych przez autorów artykułów, zaś wyniki i wnioski będą źródłem inspiracji do kontynuowania badań, które, mamy nadzieję, zostaną zaprezentowane w kolejnych numerach naszego rocznika.

Pracowników nauki prowadzących badania w szeroko rozumianym obszarze Zielarstwa, pragnących zainteresować nimi naszych Czytelników, zapraszamy do nadsyłania tekstów, uwag uzupełniających prezentowane treści, a także głosów polemicznych na adres redakcji. Opublikujemy je, zgodnie z naszą misją upowszechniania wiedzy o ziołach.

Redaktor Naczelna

Dr hab. inż. Barbara Krochmal-Marczak, prof. PANS

Analiza składu chemicznego preparatów zawierających ekstrakt z bzu czarnego

The analysis of the chemical composition of preparations containing elderberry extract

Angelika Uram-Dudek¹, Iwona Wawer¹, Katarzyna Paradowska²

¹ Państwowa Akademia Nauk Stosowanych w Krośnie, Rynek 1, 38-400 Krosno, e-mail: angelika.uram@kpu.krosno.pl

² Warszawski Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

Słowa kluczowe: czarny bez (*Sambucus nigra*), witamina C, polifenole, antocyjany, UV-Vis
Keywords: elderberry (*Sambucus nigra*), vitamin C, polyphenols, anthocyanins, UV-Vis

Streszczenie

Bez czarny (*Sambucus nigra* L.) jest szeroko rozpowszechniony; jego kwiaty i owoce to surowiec wykorzystywany w tradycyjnej medycynie oraz do suplementacji diety. Celem pracy było zbadanie 5 preparatów (o statusie suplementów diety i preparatów specjalnego przeznaczenia żywieniowego) wspierających układ odpornościowy dzieci w wieku od 1. roku życia i starszych, zawierających sok lub ekstrakt z owoców bzu czarnego. Oznaczono zawartość związków polifenolowych, antocyjanów i flawonoidów, witaminy C oraz cukrów. Do określenia zawartości witaminy C wykorzystano metodę UV-Vis, pasmo w zakresie 245–260 nm, a do oznaczenia zawartości antocyjanin z owoców bzu czarnego charakterystyczną absorpcję przy 520 nm. Największą zawartość polifenoli miała próbka nr 1 – z dodatkiem soku z bzu czarnego. Próbki nr 3, 4 i 5 miały znacznie mniejszą zawartość związków polifenolowych pochodzących z ekstraktu z owoców. Zawartość witaminy C w preparacie 1 i 2 była znacznie większa niż w preparatach nr 3, 4, 5, zawierających ekstrakty z owoców bzu czarnego oraz aceroli. Wykonano pomiar zawartości cukrów z zastosowaniem skali Brix. Wyniki analiz mogą być przydatne w projektowaniu preparatów z dodatkami ekstraktów z owoców bzu i naturalnych witamin wspierających odporność u dzieci.

Summary

Elderberry (*Sambucus nigra* L.) is a widespread species, its flowers and berries have been utilised as traditional medicine and a source of dietary supplements. The objective of this study was to compare five preparations (supplements and products of

particular nutritional uses) for infants and young children (from 1+ to 6+ y) containing elderberry juice or extract. The levels total polyphenols (flavonoids, anthocyanins), vitamin C and sugars were determined. The UV-Vis spectral region 245–260 nm was used to determine vitamin C, and characteristic maximum at 520 nm to measure the content of anthocyanins. The highest content of polyphenols was found in sample number 1, containing elderberry juice, the samples 3, 4, and 5, contain elderberry extract with less polyphenols. The content of vitamin C is also higher in no. 1, its sources are fruit extracts (acerola, elderberry). The samples were analysed for the content of carbohydrates, which can easily be added to the final products (i.e. syrups). Analysis of the data can be helpful for processing elderberry juices and extracts and natural vitamins with immune supporting properties for children.

Wstęp

Suplement diety można określić jako preparat, który jest produkowany celem uzupełnienia diety, niosący korzyści dla zdrowia ludzkiego, zawierający witaminy, składniki mineralne, aminokwasy lub inne substancje, w tym produkty roślinne, np. ekstrakty ziołowe. Suplementy diety są stosowane na całym świecie i reprezentują szeroką kategorię produktów do spożycia, które różnią się od konwencjonalnej żywności i leków [1]. Dzisiejsze wytyczne dietetyczne agencji zdrowia i żywienia na całym świecie obejmują ponad 40 składników odżywczych, które podzielone zostały na 6 kategorii, które stanowią: węglowodany, tłuszcze, białka, witaminy, minerały i woda. Dzielne zalecenia żywieniowe dla poszczególnych składników są określane jako referencyjne wartości spożycia (DRI, w Polsce RWS).

Suplementy diety sprzedawane są w różnych postaciach – jako tabletki, kapsułki, proszki, ampułki doustne, tabletki musujące, czekoladki i masy, a także w formie syropu. Występują one w rozmaitych opakowaniach, rozmiarach i rodzajach, w zależności od sposobu ich przyjmowania.

Tradycyjne ziołolecznictwo jest prekursorem zarówno stosowanych we współczesnej medycynie leków bazujących na związkach roślinnych (takich jak aspiryna i morfina), jak i współczesnych ziołowych suplementów diety. Produkty ziołowe, należące do najstarszych środków leczniczych, cieszą się niesłabnącą popularnością. Na podstawie badań przeprowadzonych w latach 2003–2006 zauważono, że około 20% dorosłych osób stosuje suplement zawierający co najmniej jeden składnik ziołowy [2].

Produkty mające w składzie ekstrakty roślinne (suplementy diety czy środki dietetyczne specjalnego przeznaczenia żywieniowego) dostarczają unikalnych składników, niezbędnych podczas wielu reakcji metabolicznych zachodzących w organizmie człowieka, szczególnie w okresie obniżonej odporności czy choroby.

Suplement diety to żywność, podobnie jak np. nabiał czy warzywa, które również są produktami z tej kategorii. Suplementy zawierają wybrane substancje odżywcze w formie skoncentrowanej, dlatego mogą być przyjmowane w postaci np. tabletek, ampułek, saszetek czy syropu. Stosowane są przede wszystkim jako uzupełnianie normalnej diety i ewentualnych niedoborów ważnych mikrośladników w diecie.

Wiele spośród nich wykazuje właściwości przeciwutleniające, czyli zdolności neutralizowania reaktywnych form tlenu [3], których wzrastająca liczba powoduje niszczenie struktur komórkowych i jest przyczyną chorób. System ochrony człowieka przed wolnymi rodnikami stanowią antyoksydanty endogenne (enzymatyczne), ale ważną rolę w zmniejszaniu uszkodzeń oksydacyjnych pełnią także antyoksydanty żywieniowe. Naturalne przeciwutleniacze zawarte w owocach, warzywach oraz ziołach odgrywają istotną rolę w profilaktyce i leczeniu wielu chorób, w tym chorób cywilizacyjnych [4].

Jedną z ważnych roślin dostarczających zarówno surowca zielarskiego, jak i używanego w przemyśle spożywczym jest bez czarna *Sambucus nigra* L. z rodziny *Caprifoliaceae*. Preparaty otrzymywane z jego owoców oraz kwiatów stosowane są m.in. do leczenia przeziębień, infekcji grypowych, stanów zapalnych górnych dróg oddechowych i innych chorób, którym towarzyszy gorączka. Prozdrowotne właściwości owoców bzu czarnego wynikają z ich bogatego składu chemicznego, co powoduje, iż surowiec ten ma szerokie zastosowanie w ziołolecznictwie oraz przemyśle farmaceutycznym. Za działanie lecznicze bzu czarnego odpowiedzialne są głównie zawarte w nim flawonoidy, antocyjany i triterpeny. Bez czarna (*Sambucus nigra* L.) ma długą historię etnobotaniczną w wielu różnych kulturach jako tradycyjny środek leczniczy. Surowiec zielarski stanowią głównie wysuszone kwiaty (*Sambuci flos*), ponadto owoce (*Sambuci fructus*) oraz kora bzu czarnego (*Sambuci cortex*) [5]. Badania naukowe surowca z bzu czarnego (zarówno z kwiatów, jak i owoców) potwierdzają jego działania napotne, przeciwzapalne [6–8], przeciwwirusowe [9], antybakteryjne [10], wykrztuśne, moczopędne, immunomodulujące i antyoksydacyjne. Posiada także działanie obniżające poziom cukru we krwi oraz poziom cholesterolu i lipidów. Jest obecnie jedną z najlepiej znanych i najczęściej używanych roślin leczniczych na świecie.

Głównymi składnikami bioaktywnymi obecnymi w owocach bzu czarnego są: antocyjany (głównie 3-glukozyd cyjanidyny, 3-sambubiozyd cyjanidyny, 3,5-digluukozyd cyjanidyny, 3-sambubiozyd-5-glukozyd cyjanidyny, 3-rutynozyd cyjanidyny, 3-glukozyd pelargonidyny oraz 3-sambubiozyd pelargonidyny), kwasy organiczne (m.in. octowy, jabłkowy, szikimowy, walerianowy, winowy i benzoesowy) oraz witaminy z grupy B (B_2 , B_3 , B_5 , B_6 , B_9), witamina C, a także węglowodany (cukry proste i pektyny) [1, 12, 13].

W artykule przedstawiono analizę składu chemicznego oraz porównano zawartość związków polifenolowych, w tym zawartość monomerycznych antocyjanin, flawonoidów, witaminy C oraz zawartość cukrów w 5 preparatach o statusie suplementów diety wspierających układ odpornościowy dzieci w wieku od 1. roku życia i starszych, zawierających w swoim składzie sok lub ekstrakt z owoców bzu czarnego.

Materiał i metody

Materiał badawczy stanowiło 5 próbek preparatów o statusie suplementów diety i preparatów specjalnego przeznaczenia medycznego, wspierających układ odpornościowy dzieci w różnym przedziale wiekowym: od 1. do 2. roku życia (ang. *baby*), od 3. do 5. roku życia (ang. *kids*) oraz od 6. do 12. roku życia (ang. *junior*), które w dalszej części pracy oznaczono odpowiednimi numerami. Wszystkie próbki to preparaty w płynie, których jednym z głównych składników jest ekstrakt z owoców bzu czarnego. Szczegóły ich opis przedstawia Tabela 1.

Tabela 1. Zestaw badanych próbek, opis cech charakterystycznych.

Table 1. Set of test samples, description of characteristic features.

Nr próbki	Zalecany przedział wiekowy	Skład na etykiecie
1	Dla dzieci od 6. do 12. roku życia	Sok z owoców bzu czarnego, co stanowi ekwiwalent 10,8 g owoców bzu czarnego
2	Dla dzieci od 3. do 5. roku życia	Sok z owoców bzu czarnego, co stanowi ekwiwalent 5,4 g owoców bzu czarnego
3	Dla dzieci od 6. do 12. roku życia	Ekstrakt z owoców bzu czarnego, co stanowi ekwiwalent 4 g owoców bzu czarnego
4	Dla dzieci j od 3. do 5. roku życia	Ekstrakt z owoców bzu czarnego, co stanowi ekwiwalent 4 g owoców bzu czarnego
5	Dla dzieci od 1. do 2. roku życia	Ekstrakt z owoców bzu czarnego, co stanowi ekwiwalent 4 g owoców bzu czarnego

Źródło: badania własne.

Próbki przed pomiarami zostały odpowiednio rozcieńczone, tak aby przeprowadzić pomiar spektrofotometryczny w zakresie absorbancji od 0,2 do 0,9. Następnie próbki odwirowywano w wirówce laboratoryjnej MPW M-Universal przez 20 min przy obrotach 6000 obr./min i przesączono. Do oznaczeń pobierano klarowną ciecz. Oznaczenia spektrofotometryczne wykonywano przy użyciu spektrofotometru UV-Vis Genesis 180 (Thermo Scientific, USA) w temp. $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Długości fal podano w opisach metod. Wyniki analiz przeliczano na 100 ml produktu.

Oznaczenie całkowitej zawartości antocyjanów

Całkowitą zawartość monomerycznych antocyjanin oznaczono z wykorzystaniem metody różnicowanego pH według RONALDA E. WROLSTADE'Ń, bazującej na transformacji tych związków z zabarwionej formy oksoniowej, która dominuje przy pH 1,0, do bezbarwnej formy hemiketalowej przy pH 4,5 [14]. Dla każdej z próbek wykonano dwa rozcieńczenia, pierwsze z użyciem buforu KCl-HCl o pH = 1,0, a drugie z użyciem buforu octanowego o pH = 4,5. Pomiary spektrofotometryczne próbek rozcieńczonych odpowiednimi buforami przeprowadzono przy długości fali 520 nm ($\lambda_{\text{vis-max}}$) oraz 700 nm (w celu korekty zmętnienia). Zawartość antocyjanin wyrażono w przeliczeniu na cyjanidyno-3-glikozyd w miligramach na 100 ml preparatu [15]. Dla każdej próbki wykonano trzy powtórzenia pomiaru.

Oznaczenie całkowitej zawartości polifenoli

Oznaczenie całkowitej zawartości związków polifenolowych zostało wykonane metodą kolorymetryczną, która polega na przeprowadzeniu reakcji barwnej związków o charakterze polifenoli z odczynnikiem Folina-Ciocalteu [16, 17], a intensywność powstałego zabarwienia mierzono za pomocą spektrofotometru przy długości fali $\lambda = 765$ nm. Do sporządzenia krzywej wzorcowej zastosowano kwas galusowy, a zawartość związków polifenolowych ogółem wyrażano jako ilość (w mg) kwasu galusowego (GAE) w 100 ml badanego produktu [18]. Dla każdej próbki wykonano pomiar trzykrotnie.

Oznaczenie zawartości flawonoidów w badanych próbkach

Całkowitą zawartość flawonoidów [TF] oznaczono spektrofotometrycznie według metodyki opisanej przez R.G. WOISKIEGO I A. SALATIONO [19]. Próbkę sporządzono poprzez zmieszanie 1,4 ml wody destylowanej, 100 μ l etanolowego ekstraktu, 60 μ l 5% azotanu (III) sodu oraz 60 μ l 10% chlorku glinu. Następnie termostatowano powstałą mieszaninę w temp. 25°C (czas 5 min). Po termostatowaniu dodano 0,4 ml 1M wodorotlenku sodu w celu zalkalizowania środowiska i dokonano pomiaru absorbancji przy $\lambda = 510$ nm. Zawartości flawonoidów obliczono na podstawie równania otrzymanego dla krzywej wzorcowej wykonanej dla katechiny. Dla każdej próbki wykonano trzykrotny pomiar. Otrzymane wyniki podano w mg katechiny (CAE) w przeliczeniu na 100 ml syropu.

Oznaczenie zawartości witaminy C

Pomiar zawartości witaminy C w badanych próbkach przeprowadzono z wykorzystaniem metody spektrofotometrycznej. Próbkę rozcieńczono, odwirowano i zmierzono absorbancję przy długości fali $\lambda = 262$ nm. Zawartości witaminy C obliczano

na podstawie równania otrzymanego dla krzywej wzorcowej wykonanej dla kwasu askorbinowego. Dla każdej próbki wykonano trzykrotny pomiar. Otrzymane wyniki podano w mg kwasu askorbinowego w przeliczeniu na 100 ml syropu.

Oznaczenie zawartości cukru

Do pomiaru zawartości cukru wykorzystano refraktometr z automatyczną kompensacją temperatury ATAGO DR-A1 plus, o zakresie pomiarowym: 0,0–95,0° Brix i dokładności 0,1%. Oznaczenia wykonywano według Polskiej Normy PN-EN 12143:2000. Wyniki podano w stopniach Brix.

Analiza jakościowa z zastosowaniem spektroskopii UV-Vis

Widma UV-Vis zostały wykonane przy użyciu spektrofotometru firmy Thermo Scientific Genesys 180 w Zakładzie Zielarstwa PANS w Krośnie. W celu uzyskania widm o określonej rozdzielczości wszystkie próbki zostały rozcieńczone rozpuszczalnikiem, którym była woda destylowana, przy czym zastosowano takie samo rozcieńczenie dla każdego preparatu. Roztwory zostały poddane wirowaniu (czas 20 min, 6000 obr./min), po tym czasie próbki przesączono. Tak przygotowane próbki posłużyły do zarejestrowania widma UV-Vis w zakresie od 190 do 700 nm z zastosowaniem kuwet kwarcowych.

Wyniki i dyskusja

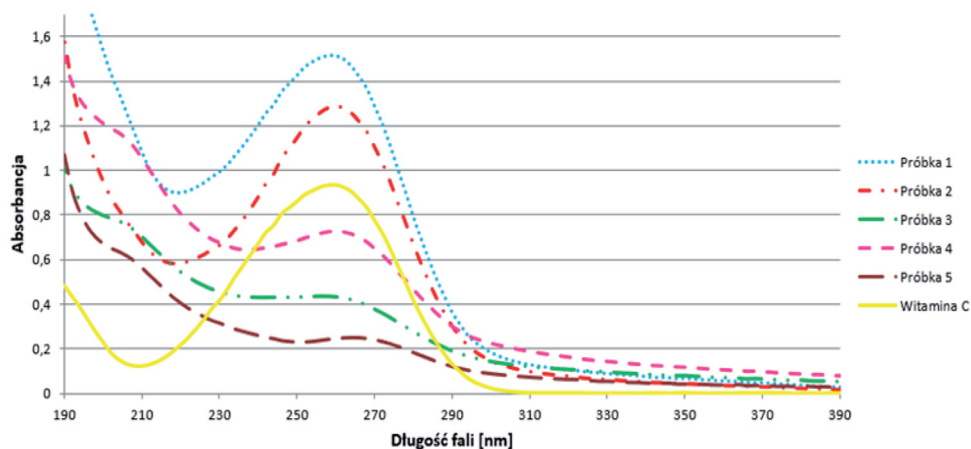
Spektroskopia UV-Vis (ang. *ultraviolet and visual light spectroscopy*) jest jedną z najbardziej rozpowszechnionych klasycznych instrumentalnych metod analitycznych. Należy ona do absorpcyjnych metod spektroskopowych, wykorzystujących promieniowanie o długości fali 100–800 nm, obejmujące zakres nadfioletu – UV oraz promieniowania widzialnego – Vis. Metoda ta pozwala zidentyfikować substancję oraz przeprowadzić oznaczenie zawartości substancji absorbujących podczas rutynowej analizy laboratoryjnej, określić ich czystość, a także wyznaczyć strukturę cząsteczek [20]. Porównanie widm analizowanych próbek 1–5 wskazuje, że badane preparaty zawierają te same lub bardzo podobne pod względem zakresu absorpcji cząsteczki, jednakże w różnym stężeniu.

Wszystkie analizowane widma mają jednakowy kształt, szczególnie w zakresie 230–270 nm. W tym zakresie swoje maksimum ma witamina C, dla której również wykonano widmo UV-Vis (na Rysunku 1 zaznaczono je kolorem żółtym). Szerokie pasmo w zakresie 245–260 nm jest determinantą jej obecności [20].

Kwas askorbinowy (biały krystaliczny proszek lub bezbarwne kryształy o wzorze sumarycznym $C_6H_8O_6$), jak pokazują dane literaturowe [21–23], wykazuje jedno charakterystyczne pasmo absorpcyjne w zakresie 240–250 nm. Znaczący wpływ na

lokalizację maksimum pasma absorpcji ma rozpuszczalnik oraz pH badanego roztworu [24]. Widmo zarejestrowane przez Zenga i wsp. [22] dla roztworu kwasu askorbinowego w metanolu ma maksimum przy długości fali równej 245 nm. Dla roztworów etanolowych maksimum w widmie zaobserwowano przy takiej samej długości fali. Niewielkie pasmo absorpcji przy $\lambda = 209$ nm pochodzi prawdopodobnie od kwasu dehydroaskorbinowego. Ta forma kwasu jest produktem utlenienia wyjściowego związku [24]. Wśród analizowanych próbek nie jest to pasmo obserwowane w 3 z 6 analizowanych (próbka nr 1, 2 i w czystym roztworze witaminy C), co może wskazywać na brak produktów utlenienia kwasu askorbinowego.

Widmo UV-Vis badanych próbek



Rysunek 1. Widma UV-Vis dla analizowanych 5 próbek vs witamina C.

Figure 1. UV-Vis spectra for 5 analyzed samples vs vitamin C.

Źródło: badania własne.

Wolne rodniki są dużym zagrożeniem dla zdrowia, ponieważ są metabolizowane w organizmie człowieka i atakują molekuly czynne biologicznie: białka, kwasy tłuszczowe i nukleinowe. Wynikiem ich działania jest uszkodzenie komórek i tkanek, co prowadzi do wielu chorób i przyspiesza procesy starzenia [25]. Sposobem walki z rodnikami są dietetyczne antyoksydanty, obecne np. w owocach bzu czarnego, będące bogatym źródłem związków polifenolowych. Uważa się, że właściwości przeciwutleniające polifenoli są głównie odpowiedzialne za prozdrowotny wpływ ekstraktów roślinnych na organizm człowieka, zatem te ekstrakty mogą mieć zastosowanie w profilaktyce oraz w leczeniu wielu schorzeń wywołanych stresem oksydacyjnym [26]. Czarny bez nie tylko wspiera organizm w walce z drobnoustrojami, ale także poprawia jego odporność. Obecne w nim substancje działają na komórki

układu immunologicznego. Podnoszą ich aktywność, dzięki czemu zwalczanie patogenów jest bardziej efektywne. Za potwierdzone właściwości antyoksydacyjne owoców czarnego bzu odpowiadają przede wszystkim antocyjany, których ten surowiec jest bogatym źródłem w porównaniu z innymi owocami, a stanowią one pokąźną grupę jego związków bioaktywnych (cyjanidyno-3-glukozyd [C3G], stanowiący około 65,7% wszystkich antocyjanów), a także flawonoidy, flawonole i kwasy fenolowe [12].

W pracy oznaczono zawartość dwóch grup polifenoli: flawonoidów oraz antocyjanów, jak również całkowitą ich zawartość w przeliczeniu na ekwiwalent kwasu galusowego. Wyniki pomiarów przedstawiono w Tabeli 2.

Tabela 2. Całkowita zawartość związków polifenolowych, całkowita zawartość monomerycznych antocyjanin oraz flawonoidów w 100 ml produktu.

Table 1. Total content of polyphenolic compounds, total monomeric anthocyanins content and flavonoids in 100 ml of products.

Nr próbki	Całkowita zawartość polifenoli [mg GAE/100 ml]	Zawartość flawonoidów [mg CA/100 ml]	Zawartość antocyjanów [mg/100 ml]
1	762,2 ± 1,4	132,8 ± 1,4	9,24 ± 0,1
2	486,9 ± 0,7	68,3 ± 0,5	1,66 ± 0,1
3	311,6 ± 0,8	99,4 ± 1,4	3,69 ± 0,15
4	397,5 ± 1,0	88,7 ± 1,3	1,61 ± 0,08
5	343,3 ± 0,8	84,4 ± 0,9	1,76 ± 0,06

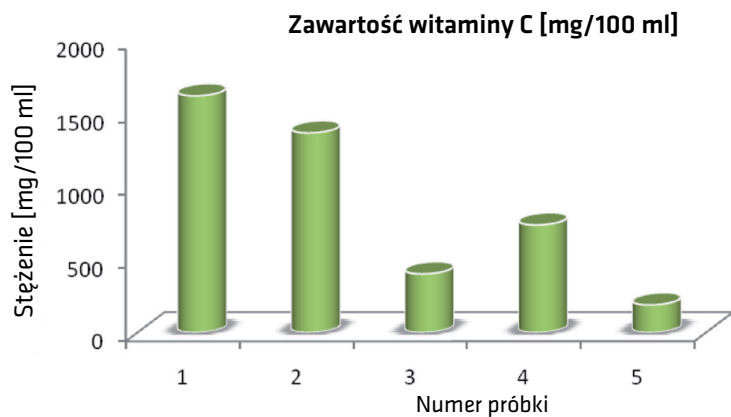
Źródło: badania własne.

Otrzymane wyniki oznaczeń związków bioaktywnych (związków polifenolowych, antocyjanin monomerycznych oraz flawonoidów) dla pięciu preparatów mających w składzie sok lub ekstrakt z bzu czarnego wskazują na duże zróżnicowanie ich zawartości. Największą zawartością polifenoli, flawonoidów oraz antocyjanin odznacza się próbka nr 1, dla której zawartość składników przeciwutleniających niemal dwukrotnie przewyższa zawartość tych związków w pozostałych próbkach. Tak duża zawartość związków aktywnych w preparacie nr 1 w porównaniu z pozostałymi próbkami prawdopodobnie spowodowana jest ilością dodanego do preparatu soku z bzu czarnego, którą zadeklarował producent (w składzie: sok z owoców bzu czarnego, co stanowi ekwiwalent 10,8 g owoców bzu czarnego). W produkcie nr 2 zawartość związków aktywnych jest o połowę mniejsza. Próbki nr 3, 4 i 5 wykazują zbliżoną zawartość związków polifenolowych (TP jak TF) w 100 ml. Do każdego z tych produktów został dodany ekstrakt z owoców bzu czarnego w takiej samej ilości (ilość ekstraktu stanowi ekwiwalent 4 g owoców

bzu czarnego). W badaniach przeprowadzonych przez Paradowską i wsp. [15] całkowita zawartość związków polifenolowych w sokach z owoców bzu czarnego mieściła się w granicach od 36,4 do 615,0 mg/100 ml, natomiast antocyjanin – od 4,12 do 189,14 mg/100 ml. Według doniesień Kołodziej i Drożdżał [27] zawartość związków polifenolowych w ekstraktach z owoców bzu czarnego była zróżnicowana i wahała się w granicach od 26,84 do 44,8 mg/g suchej masy surowca. Podobnie dużą zawartość związków polifenolowych w owocach bzu otrzymali także Jabłońska-Rys i wsp. [28] oraz Leja i wsp. [29].

Przedstawione badania oraz dane literaturowe pokazują, że owoce bzu czarnego są surowcami bogatymi w związki bioaktywne.

Jednym z najbardziej znanych i silnych antyoksydantów jest witamina C (kwas L-askorbinowy). Jest to molekula aktywna biologicznie. Bierze udział w wielu niezwykle ważnych reakcjach i przemianach, stymuluje różne procesy biochemiczne w organizmie [30]. Witamina C, obok polifenoli, należy do ważnych przeciwutleniaczy. Jednym z cenniejszych źródeł witaminy C i innych przeciwutleniaczy są owoce jagodowe, w tym bez czarny [31]. Dzięki zdolnościom antyoksydacyjnym kwas askorbinowy chroni komórki organizmu przed stresem oksydacyjnym [32]. Ze względu na jej właściwości witamina C dostarczana jest organizmowi w formie leków, suplementów diety i żywności. Zawartość witaminy C w badanych preparatach przedstawiono na Rysunku 2.



Rysunek 2. Zawartość witaminy C w analizowanych preparatach.

Figure 2. Vitamin C content for the analyzed preparations.

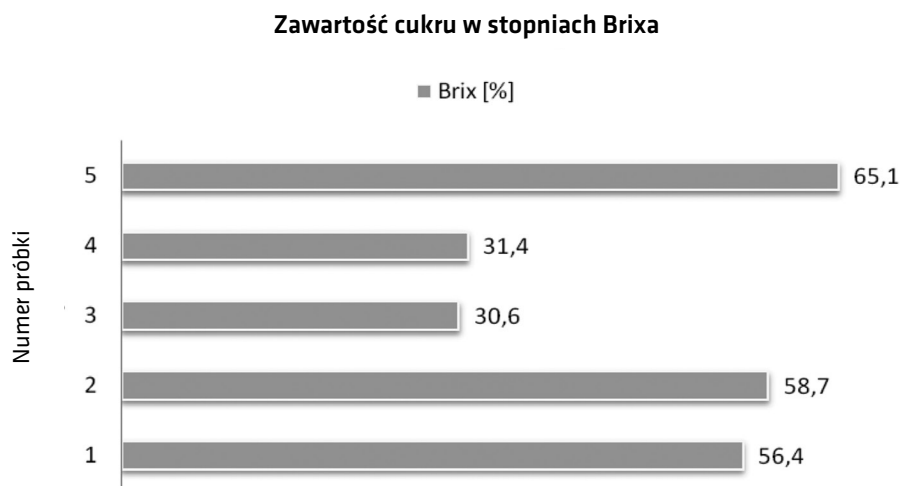
Źródło: badania własne.

Zawartość witaminy C w preparacie 1 i 2 była znacznie większa niż w preparatach 3, 4, 5. W preparacie 1 jej zawartość była największa i wynosiła 1622,8 mg/100 ml, natomiast w próbce 5 najmniejsza – 189 mg/100 ml. W suplementach 3, 4 oraz 5 źródłem witaminy C jest ekstrakt z owoców bzu czarnego oraz owoców aceroli.

Duże zróżnicowanie pod względem zawartości witaminy C w obrębie produktów najprawdopodobniej ma związek z jakością ekstraktu zarówno z bzu czarnego, jak i aceroli. Jak wiadomo, sok i owoce bzu czarnego nie są bogatym źródłem witaminy C (średnio 18 mg/100 g), podczas gdy ekstrakt z aceroli (1000 do nawet 4500 mg czystej witaminy C w 100 g owoców) należy do najbogatszych. W preparatach 1 oraz 2 witamina C pochodzi z dwóch źródeł: z ekstraktu z owoców bzu czarnego oraz z syntetycznego dodatku i stąd zapewne jej wysoka sumaryczna zawartość.

Syropy według definicji Farmakopei Polskiej XI są preparatami wodnymi charakteryzującymi się słodkim smakiem i lepką konsystencją, przeznaczonymi do podawania doustnego. Syropy stanowią stężone roztwory sacharozy, co najmniej 45% (m/m), bądź innych cukrów lub alkoholi wielowodorotlenowych w wodzie, wyciągach roślinnych, sokach owocowych lub ich mieszaninach. W powszechnie stosowanym syropie prostym stężenie sacharozy wynosi 64% [33]. Tak wysoka zawartość cukru pozwala nie tylko zamaskować nieprzyjemny smak niektórych substancji leczniczych, ale jest również sposobem na przedłużenie trwałości gotowego produktu i działa osłaniająco, powlekająco na błony śluzowe [34].

Do pomiaru stosunku wagi cukru i wody, w której została rozpuszczona określona ilość cukru, stosuje się stopnie Brix. Pomiar prowadzi się za pomocą sacharymetru, który określa gęstość cieczy. Skali Brix używa się w przemyśle spożywczym do pomiarów szacunkowej ilości cukru w owocach i warzywach. W badanych próbkach preparatów wykonano pomiar zawartości cukrów z zastosowaniem tej skali.



Rysunek 3. Zawartość cukrów w analizowanych próbkach mierzona w skali Brix.
Figure 3. Sugar content in the Brix scale for the analyzed samples.

Źródło: badania własne.

Zawartość cukrów w preparacie 5 była największa i wynosiła 65,1 g w 100 g produktu, natomiast w próbkach 3 oraz 4 jest około dwukrotnie mniejsza i wynosi odpowiednio 30,6 oraz 31,4 g na 100 g produktu. Dla próbek 1 oraz 2 producent zadeklarował jako główny składnik preparatu syrop glukozowy, dla próbki 5 – syrop glukozowo-fruktozowy. W przypadku próbek 3 oraz 4 głównym składnikiem podanym przez producenta jest woda, natomiast kolejnym – syrop glukozowo-fruktozowy, stąd też prawdopodobnie mniejsza zawartość cukru w tych próbkach.

Podsumowanie

Spektroskopia UV-Vis pozwoliła na szybkie określenie zawartości witaminy C w syropach, wykorzystując pasmo w zakresie 245–260 nm. Syropy te charakteryzował intensywny ciemny kolor wynikający z dużej zawartości antocyjanin z owoców bzu czarnego. Zawartość tych związków, podobnie jak polifenoli oraz flawonoidów, oznaczono z wykorzystaniem technik spektrofotometrycznych. Metoda UV-Vis umożliwia więc selektywne oznaczanie zawartości substancji absorbujących (antocyjanów, polifenoli lub witaminy C) za pomocą analizy laboratoryjnej. Preparaty z dodatkiem soku z owoców bzu czarnego miały znacznie więcej cennych związków polifenolowych niż te zawierające ekstrakt z owoców. W badanych próbkach preparatów wykonano też pomiar zawartości cukrów z zastosowaniem skali w stopniach Brix, co jest dodatkowym wskaźnikiem przydatności tych preparatów dla dzieci. Wybrany preparat powinien być smaczny, ale nie może zawierać zbyt dużo glukozy z fruktozą.

Literatura

- [1] Watson R.R., Gerald J.K., Preedy V.R., Nutrients, dietary supplements, and nutraceuticals: cost analysis versus clinical benefits, Springer Science and Business Media, New York 2010.
- [2] Bailey R.L., Gahche J.J., Lentino C.V., Dwyer J.T., Engel J.S., Thomas PR., Dietary supplement use in the United States, *Journal of Nutrition*, 2010, 141(2), s. 261–266.
- [3] Witkowska A., Zujko M.E., Aktywność antyoksydacyjna owoców leśnych, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2009, 3(42), s. 900–903.
- [4] Temple N.J., Antioxidants and disease: more questions than answers, *Nutrition Research*, 2000, 20, s. 449–459.
- [5] Samochowicz L., *Kompendium ziołolecznictwa*, Urban & Partner, Wrocław 2002.
- [6] Mascolo N., Autore G., Capasso F., Menghini A., Fasulo M.P., Biological screening of Italian medicinal plants for antiinflammatory activity, *Phytotherapy Research*, 1987, 1(1), s. 28–31.
- [7] Delaveau P., Lallouette P., Tessier A.M., Stimulation of the phagocytic activity of the reticuloendothelial system by plant extracts, *Journal of Medicinal Plant Research*, 1980, 40(1), s. 49–54.

- [8] Yesilada E., Ustün O., Sezik E., Takaishi Y., Ono Y., Honda G., Inhibitory effects of Turkish folk remedies on inflammatory cytokines: interleukin-1a, interleukin-1b, and tumor necrosis factor- α , *Journal of Ethnopharmacology*, 1997, 58(1), s. 59–73.
- [9] Porter R.S., Bode R.F., A Review of the Antiviral Properties of Black Elder (*Sambucus nigra* L.) Products, *Phytotherapy Research*, 2017, 31(4), s. 533–554.
- [10] Przybylska-Balcerek A., Szablewski T., Szwajkowska-Michałek L., Świerk D., Cegielska-Radziejewska R., Krejpcio Z., Suchowilska E., Tomczyk Ł., Stuper-Szablewska K., *Sambucus Nigra* Extracts – Natural Antioxidants and Antimicrobial Compounds, *Molecules* 2021, 26, 2910, s. 1–17.
- [11] Brønnum-Hansen K., Hansen S.H., High performance liquid chromatographic separation of anthocyanins of *Sambucus nigra* L., *Journal of Chromatography*, 1983, 262, s. 385.
- [12] Wu X., Gu L., Prior R.L., McKay S., Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of Ribes, Aronia, and Sambucus and their antioxidant capacity, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2004, 52, s. 7846.
- [13] Wichtl M., *Herbal drugs and phytopharmaceuticals*, Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart 2004, wyd. III.
- [14] Giusti M.M., Wrolstad R.E., Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy, *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 2001, s. F1.2.1–F1.2.13.
- [15] Paradowska K., Uram-Dudek A., Wawer I., Polifenole owoców bzu czarnego – dietetyczne wsparcie terapii przeziębienia i grypy, *Herbalism*, 2019, 1(5), s. 41–49.
- [16] Singleton L.V., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M., Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, *Methods in Enzymology*, 1999, 14, s. 155–158.
- [17] Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I., Anackov G., Igc, R., Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., *Alliaceae*), *Food Chemistry*, 2008, 111(4), s. 925–929.
- [18] Roura E., Andres-Lacueva C., Estruch R., Lamuela-Raventos R.M., Total polyphenol intake estimated by a modified Folin-Ciocalteu assay of urine, *Clinical Chemistry*, 2006, 4, 53, s. 749–752.
- [19] Woiski R.G., Salationo A., Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control, *Journal of Apicultural Research*, 1998, 37, s. 99–105.
- [20] Takayanagi T., Nishiuchi M., Ousaka M., Oshima M., Motomizu S., Monitoring of vitamin C species in aqueous solution by flow injection analysis coupled with an on-line separation with reversed-phase column, *Talanta*, 2009, 79(4), s. 1055–1060.
- [21] Săndulescu R., Mirel S., Oprean R., The development of spectrophotometric and electroanalytical methods for ascorbic acid and acetaminophen and their applications in the analysis of effervescent dosage forms, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2000, 23, s. 77–87.
- [22] Zeng W., Martinuzzi F., MacGregor A., Development and application of a novel UV method for the analysis of ascorbic acid, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2005, 36(5), s. 1107–1111.
- [23] Gupta S., Sharma R.K., Chandra H., Electronic absorption spectra of L-ascorbic acid in nonaqueous media, *Journal of Applied Spectroscopy*, 2006, 73, s. 297–300.

- [24] Kleszczewska E., Misiuk W., Spectrometric assai of reaction of L-ascorbic acid with promethazine occurring in quantitative determination of vitamin C, *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 1999, 56, s. 347–351.
- [25] Druyska B., Klepacka M., Właściwości przeciwutleniające preparatów polifenoli otrzymanych z okrywy nasiennej fasoli czarnej i białej (*Phaseolus*), *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, 4(41), s. 69–78.
- [26] Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G., Antioxidant properties of phenolic compounds, *Trends in Plant Science*, 1997, 2(4), s. 152–159.
- [27] Kołodziej B., Drożdżal K., Właściwości przeciwutleniające kwiatów i owoców bzu czarnego pozyskiwanego ze stanu naturalnego, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, 4(77), s. 36–44.
- [28] Jabłońska-Ryś E., Zalewska-Korona M., Kalbarczyk J., Antioxidant capacity, ascorbic acid and phenolics content in wild edible fruits, *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 2009, 17(2), s. 115–120.
- [29] Leja M., Mareczek A., Nanaszko B., Antyoksydacyjne właściwości owoców wybranych gatunków dziko rosnących drzew i krzewów, *Rocznik Akademii Rolniczej w Poznaniu*, 2007, 383, s. 327–331.
- [30] Moszczyński P., Pyć R., *Biochemia witamin. Witaminy lipofilne i kwas askorbinowy. Część II*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1999, s. 112–136.
- [31] Orowska E.J., Szajdek A., Składniki dietetyczne i substancje biologiczne w owocach aronii, borówki czernicy i porzeczki czarnej, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, Suppl.*, 2005, s. 181–184.
- [32] Zhang P.Y., Xu X., Li X. C., Cardiovascular diseases: oxidative damage and antioxidant protection, *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2014, 18(20), s. 3091–3096.
- [33] *Farmakopea Polska XI, Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych PTF*, Warszawa 2017.
- [34] Typek J., Płynne postaci leku w renesansowym lecznictwie. Część trzecia, *Aptekarz Polski*, 107(85e) lipiec 2015.

Do cytowania:

Uram-Dudek A., Wawer I., Paradowska K., Analiza składu chemicznego preparatów zawierających ekstrakt z bzu czarnego, *Herbalism*, 2023, 1(9), s. 6–18.

Specific way of controlling yield and quality of crops of rocket (*Eruca sativa* Mill.) and tailoring some of its functional properties

Specyficzna modulacja kontroli wydajności i jakości plonów rukoli (*Eruca sativa* Mill.) oraz niektórych jej właściwości funkcjonalnych

Katarzyna Ciesielska¹, Wojciech Ciesielski¹, Damian Kulawik¹, Zdzisław Oszczyda², Elżbieta Pisulewska³, Piotr Tomasik²

¹ Institute of Chemistry, Jan Długosz University, Armii Krajowej Ave. 13–15, 42-201, Częstochowa, Poland

² Nantes Nanotechnological Systems, Dolnych Młynów Str. 24, 59-700 Bolesławiec, Poland

³ Institute of Health and Economy, State University of Applied Sciences in Krosno, 38-400 Krosno, Poland, e-mail: elzbieta.pisulewska@gmail.com

Keywords: arugula, *Eruca vesicaria*, essential oils, glow plasma, rucola, sensorics

Słowa kluczowe: arugula, *Eruca vesicaria*, olejki eteryczne, plazma jarzeniowa, sensoryka

Summary

Plantations of rocket were watered with water treated for 30 min with low temperature, low-pressure glow plasma of low frequency (LPGP) either in the air (LPGPA), under nitrogen (LPGPN) or carbon dioxide (LPGPC). Watering with LPGPN offered the lushest plants. The kind of the plasma treated water had a minor effect on rooting of the plants. Always watering rocket provided higher yield of crops and watering with LPGPN was the most beneficial in this respect. The watering with the LPGP treated water, regardless its kind, decreased the level of fat in the crops by approximately 14%. Simultaneously, it was meaningless for the level of carbohydrates and slightly increased the level of proteins. All kinds of the LPGP-treated water increased the level of chlorophyll *a* but LPGPA and LPGPC decreased the level of chlorophyll *b*. The watering provided crops of a higher level of carotenoids, ascorbic acid and sulphur containing compounds. Watering with LPGPN was the most beneficial in this respect. Such watering influenced also composition of the essential oils extracted from the leaves. No novel components were found in the extracts but the yield of some components was essentially influenced. Therefore, functional properties of the essential oil suitable as either a spice, flavoring agent and a cure useful in herbal medicine and aromatherapy could be tailored.

Streszczenie

Plantację rukoli nawadniano wodą traktowaną przez 30 min niskotemperaturową, niskociśnieniową plazmą jarzeniową o niskiej częstotliwości pod powietrzem, azotem i ditlenkiem węgla. Stosowanie wody plazmowanej pod azotem wpłynęło na zwiększenie biomasy rośliny. Rodzaj używanej wody miał niewielki wpływ na ukorzenie roślin. Każdy rodzaj wody zwiększał wydajność plonów, a stosowanie wody plazmowanej pod azotem było pod tym względem najkorzystniejsze. Zastosowanie któregośkolwiek rodzaju plazmowanej wody obniżało zawartość tłuszczu w roślinach o około 14%, nie miało wpływu na zawartość węglowodanów i minimalnie zwiększało zawartość białka. Podlewanie upraw którymkolwiek rodzajem plazmowanej wody podnosiło poziom chlorofilu *a*, ale woda plazmowana pod powietrzem lub ditlenkiem węgla obniżała poziom chlorofilu *b*. Każdy rodzaj plazmowanej wody zwiększał zawartość karotenoidów, kwasu askorbinowego i związków siarkowych, a podlewanie wodą plazmowaną pod azotem dawało najlepsze rezultaty. Nawadnianie upraw plazmowanymi rodzajami wody wpływało na skład olejków eterycznych ekstrahowanych z liści i ich wydajność. W żadnym przypadku nie stwierdzono nowych składników w składzie olejków. Nawadnianie upraw różnymi rodzajami plazmowanej wody pozwala na kontrolowanie właściwości olejków stosowanych jako przyprawy, środki nawadniające lub lecznicze wykorzystywane w ziołolecznictwie i aromaterapii.

Introduction

Rocket (*Eruca vesicaria*, *Eruca sativa* Mill.) known also as arugula is commonly known edible leaf vegetable of a pungent, bitter flavour. Its seeds are also edible [1, 2]. The plant is consumed in form of salads and component of additive to various dishes. In West Asia an edible taramira oil is pressed of rocket seeds [3]. Essential oil from the plant leaves is also available [4, 5]. Rocket is appreciated for its high level of vitamins and such bioelements as potassium, calcium, magnesium, iron, manganese, copper and zinc [6]. The pungent flavour of the plant is generated by sulphur containing glucosinolates which decompose into thiocyanates and finally into dialkylsulfides and dialkyldisulfides. These transformations are assisted by microorganisms either residing in the plant or these infecting plants on their storage [4, 5, 7–9].

Recently [10, 11], a new kind of plasma was invented. That plasma generated at 38°C at 5×10^{-3} mbar, 800 V, 50 mA and 10 KHz frequency (LPGP) did not break valence bonds of the compounds exposed to it. Thus, for instance, water exposed to LPGP in the presence of air was solely declusterized into smaller $(\text{H}_2\text{O})_n$ units and neither perhydrol nor ozone were generated. Molecules of atmospheric oxygen

dissolved in water were excited from its ground triplet state into excited singlet state. Resulting small $(\text{H}_2\text{O})_n$ units were stabilized by building aqueous clathrates hosting the excited oxygen molecules [12]. Further papers on the preparation and physicochemical properties of water treated with LPGP either in under ammonia [13], nitrogen [14], carbon dioxide [15], methane [16] or oxygen [17] revealed that these kinds of water better solubilize mineral and organic compounds and corresponding solutions better permeate the cell membranes. Therefore, the LPGP-treated kinds of water became a good vector for various solutes beneficial for processes occurring inside the plant and animal cells [18, 19].

This paper presents an influence of watering rocket (*Eruca sativa* Mill.) with water treated with LPGP in the air, under nitrogen or carbon dioxide upon the yield of crops and their biological and functional properties including composition of corresponding extracted essential oils.

Materials and Methods

Materials

Rocket (*Eruca sativa* Mill.): Seeds only for hobby gardening manufactured by W. Legutko Breeding and Seed Company, Jutrosin, Poland, BK 1007-08302-MON, 2020 were used.

Water

Tap water from Częstochowa municipal supply system had pH 7.6, EMF = 351.8 ± 0.3 mV and conductivity $g = 0.444 \pm 0.004$ mS, It contained totally 672.28 mg minerals/L (193.27 mg Ca^{2+} /L, 46.21 mg Mg^{2+} /L, 23.18 mg Na^+ /L, 5.27 mg K^+ /L, 351.90 mg HCO_3^- /L, 51.20 mg SO_4^- /L, 6.52 mg Cl^- /L, 40 μg Fe/L).

Gases

Nitrogen: Nitrogen from a tank (AIR-PRODUCTS, Warsaw, Poland) was deoxygenated by passing through an absorber filled with an alkaline solution of resorcinol
Carbon dioxide: pure (100%) CO_2 (AIR-PRODUCTS, Warsaw, Poland)

Substrate

Substrate was composed of medium size turf fraction Florabalt® Pot Medium-Coarse (Floragard, Oldenburg, Federal Republic of Germany). The medium of pH 5.6, contained 1.2 g/L total salts including 210 mg N/L, 120 mg P_2O_5 /L, 260 mg K_2O /L and 0.258% S. It was supplemented with multicomponent PG-Mix 18-10-20 fertilizer (1.20 kg/m³) (Yara, Oslo, Norway).

Methods

Rocket cultivation

The monofactorial experiment was carried out from July 4th (sowing) till August 30th (harvesting) 2021 in a greenhouse. Temperature in the greenhouse was set for 22 and 18°C during the day and night, respectively. The daytime took 16 h since the sunup. The passing from the day into the night regime was controlled with computer. The automatic additional 16h illumination with sodium lamps was used when natural light intensity decreased below 100 W/m². The experiment involved three sets of trays with 24 pots each. Ten seeds of the plant were sown into every pot. In one series of experiments 2 multiplates hosted 300 plants. In order to eliminate parietal effect 60 plants on the edge of trays were left apart and, therefore, only 240 plants were harvested. Since the experiments were run in triplicates maximum 720 plants were collected for a given series. Plants watered with tap, non-plazmed water served as control samples.

The watering was adjusted according to tensiometer readings (Irrometer model SR 150 mm) when soil water tension was < - 40 kPa. The plants were watered by hand to avoid the accidental contact of water with leaves. Initially, plants consumed totally 3L water, that is 1L per each replication in the 5 day period until March 24th. In the subsequent 1 month period the watering was intensified and the same amount of water was administered to the plants in 3 day periods. In the final period of breeding plants were watered daily consuming the same amount of water. In such manner the watering consumed totally 40 mL each kind water daily. The experiment terminated on May 18th when the plants were collected. The plants were then dried at 105°C for 4 hours to determine dry mass of the crops.

Saturation of water with a gas

Through either deionized or tap water was a stream of a given gas was bubbled for 15 min. Its flow rate depended on the volume of the water sample. In case of the 200 mL sample it was 10 mL/min).

Treating water with LPGP

Water (200 mL) saturated with a corresponding gas was placed in 250 mL glass bottles and free space over the liquid was additionally filled with corresponding gas. The whole was placed in the chamber of the reactor [14] and exposed to GP for 30 min. Plasma of 38°C was generated at 5×10^{-3} mbar, 800 V, 50 mA and 10 KHz frequency. The produced water was stored at ambient temperature in 100 mL closed teflon containers.

Estimation of crop yield

.000 1g. Weights of samples were measured with Analytical laboratory scale RADWAG AS 220.R2 (Radom, Poland) with precision of ± 0.0001 g.

Estimation of dry mass

Samples were 24 h dried at 100–105°C. Weights of samples were measured with Analytical laboratory scale RADWAG AS 220.R2 (Radom, Poland) with precision of ± 0

Estimation of ash

In a vessel weighed with the 0.0002 g precision a substance was weighed with the same precision and the whole was inserted for 10 min into a front of an oven heated to 815°C. Subsequently, the vessel with the sample was shifted (2 cm/min) into the central region of the chamber. After returning the temperature of the oven to 815°C the analysed sample was maintained inside the chamber for further 25 min. After that time the sample was left in the open for cooling to room temperature than weighed with the 0.0002 g precision.

Fat content

A sample thoroughly disintegrated in a mortar was weighed ($5 \text{ g} \pm 1 \text{ mg}$) then blended with anh. Na_2SO_4 (5 g) and transferred into extracting casing filling it in no more in $3/4^{\text{th}}$ its height. The filled casing was closed with a fat-free cotton wool. The 3 h extraction with n-hexane (200 mL) was carried out in an Soxhlet apparatus equipped in a flask for collecting extract weighed with the $\pm 1 \text{ mg}$ precision. After that time, acetone (2 mL) was added to the flask with the extract cooled to room temperature. On blowing a stream of nitrogen the whole was slowly heated to remove acetone and n-hexane. The flask with extract was heated for 10 min in a drying box at 103°C then left in a desiccator for cooling to room temperature followed by weighing. The fat content (H) [g/100 g or %] was estimated using Eq. (1)

$$H = [(m_2 - m_1)/m_0] \cdot 100 \quad (1)$$

where

m_0 – mass of the sample,

m_1 – mass of empty extracting flask and

m_2 – mass of extracting flask with extract.

Protein content

The Kjeldahl method [20] was applied for the estimations.

Carbohydrate content

Mass of carbohydrates (M) was determined from Eq. (2)

$$M = 100 \text{ g} - \text{mass of fat} - \text{mass of proteins} \quad (2)$$

Chlorophyll content

Leaves of cress (200 mg) were homogenized for 2 min in a cooled mortar then homogenized for further an additional 2 min with the acetone/ammonia (0.05 mol/dm³) 8/2 blend (5 cm³) cooled to 0–5°C. The extraction was continued for 2 more min. by addition of a subsequent 5 cm³ of extracting acetone/ammonia blend. The resulting suspension of well disintegrated sample was transferred into 25 cm³ measuring cylinder, the mortar was washed with extracting blend (10 cm³) and the wash was combined with the extract. The extract was then centrifuged for 10 min at 5000 rpm, and decanted. The volume of the extract was increased to 25 cm³ by adding the extracting blend. The experiments were run in triplicates.

The absorbance (A) of resulting extract was taken at 470, 647 and 664 nm. The content of chlorophylls a and b in mg/g was estimated from the Eqs. (3) and (4), respectively.

$$\text{chl.a} = 25a/m \quad (3)$$

where

$$a = 11.78 A_{664} - 2.29 A_{647}$$

and m denotes the weight (mg) of the fresh plant material.

$$\text{chl.b} = 25b/m \quad (4)$$

where

$$b = 20.05 A_{647} - 4.77 A_{664}$$

and m denotes the weight (mg) of the fresh plant material.

Carotenoids content

The content of carotenoids (β -carotene and xanthophyll) was calculated from Eq. (5).

$$\text{car} = 25c//229m \quad (5)$$

where

$$c = 1000 A_{470} - 3.27$$

a – 104b and m denotes the weight (mg) of the fresh plant material.

Determination of ascorbic acid

Sample of the dried plant (1g) was disintegrated in a mortar 50 cm³ distilled water and 5 cm³ of 0.1M aqueous solution of potato starch added. This solution was titrated with a iodine solution following paper by Al Majidi and Al Qubury [21]. The estimations were triplicated.

Analyses for cations

Samples were mineralized in a microwave oven (MarsXpress CEM Company, Matthews, NC USA). Samples (0.5 g) were digested with nitric acid 65% analytical grade (10 cm³). Determination of metals content was performed with atomic absorption spectrometry with electrothermal device (AA Varian 240 instrument). A palladium standard solution (1000 mg/dm³) was used as a modifier.

Anion analyses with ion chromatography

A DX500 micropore (2 mm) ion chromatograph with a CD20 conductivity detector and GP40 gradient pump (Dionex, California) was used for ion separation and detection. Commercially available Ionpac CG12A guard and CS12A analytical columns (Dionex, California, USA) with carboxylic-phosphonic acid functional groups were used for cation analysis. Ionpac AG14 guard and AS14 analytical columns (Dionex, California) with quaternary ammonium functional groups were used for anion separation. Eluents were stored in vessels pressurized at 8 p.s.i. using high purity argon (BOC gases), and flow-rates were maintained at 0.45 ml/min for anions and 0.40 cm³/min for cations using a GP40 gradient pump (Dionex, California, USA). Samples were loaded from an AS40 automated sampler (Dionex, California, USA).

Estimation of total sulphur

The sulfur content was determined using a CHNS/O FlashSmart Thermo Scientific analyser (Waltham, MA USA).

Preparation of samples for separation of essential oil

Leaves (1.0 – 1.5 g) were placed in 15 mL vials made of dark glass and hexane (10 mL) was added to each vial. Extraction on ultrasonicated bath at room temperature lasted 10 min. After centrifugation at 4000 rpm the samples were filtered through a syringe PVDF 0.2 µm filter.

Separation of essential oils for determination of their yield

Samples of the plant (100 g) were steam distilled in a Deryng apparatus with a closed water circulation. The collected oils were transferred to a closed vials.

Gas chromatographic analyses

Sample (5 µL) was transferred to closed chromatographic vial and evaporated on a heating plate. An Agilent 7890A gas chromatograph (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, Cf. USA) was equipped with a Supelcowax-10 30 cm × 0.32 mm × 0.25 mm column. An injector was maintained at 270°C. Initial temperature of 40°C was

maintained for 1 min, then rose to 220°C with a rate of 4°C/min. Helium (0.5 cm³/min) was used as the gas. Analysed sample mass ranged from 33 to 333Da. Temperature of the ion generator was maintained at 220°C. SPMR injections were performed in a splitless manner. Chromatographic signals were identified by comparison with mass spectra available in the NIST 11 library [22]. Area under particular chromatographic peaks were calculated involving computer program installed in the chromatograph.

Results and Discussion

Figures 1 and 2 present results of watering rocket with LPGP-treated kinds of water upon leaves and roots of the plants, respectively.



Figure 1. Rocket watered with various kinds of the LPGP-treated water.

Source: own research.



Figure 2. Rooting of rocket watered with various kinds of LPGP-treated water.

Source: own research.

Specific way of controlling yield and quality of crops of rocket...

Results of estimations of the yield of crops are presented in Table 1.

Table 1. Quantitative characteristics of the rocket crops watered with LPGP-treated kinds of water^a.

Estimations	Non-treated Water	LPGP treated water		
		LPGPA	LPGPN	LPGPC
Number of plants	4.84 ± 0.15a	5.02 ± 0.16a	5.79 ± 0.33b	5.12 ± 0.33a
Height of plants/1 pot [cm]	38.1 ± 4.0a	42.4 ± 2.1a	51.6 ± 2.4b	46.3 ± 2.4a
Total mass of plant [g]	12.52 ± 0.51a	14.27 ± 0.77b	20.86 ± 0.35c	15.17 ± 0.47b
Total number of leaves	36.2 ± 1.1a	41.2 ± 1.4b	45.3 ± 1.2c	48.4 ± 1.1d
Number of leaves per plant	4.9 ± 1.1a	4.2 ± 1.2b	5.1 ± 1.4a	4.3 ± 1.1b
Mass of stems [g]	2.53 ± 0.13a	3.29 ± 0.19b	4.96 ± 0.31c	3.79 ± 0.21d
Total mass of foliage [g]	7.93 ± 0.39a	9.99 ± 0.64b	12.08 ± 0.32c	10.99 ± 0.14d
Mass of one leaf	2.559± 0.012a	3.137± 0.013b	3.751 ±0.012c	3.514± 0.012d

^a Average number of plants collected from triplicated experiments involving 3 × 24 trays. Each tray contained 10 seeds. Presented data were recalculated for the number of plants in one tray.

Source: own research.

Effect of watering rocket with LPGP-treated water upon fat, protein and carbohydrate content, and content of chlorophylls, carotenoids, ascorbic acid and sulphur compounds are given in Tables 2 and 3, respectively.

Table 2. Fat, protein and carbohydrate content in rocket watered with non-treated and LPGP-treated kinds of water.

Water	Content [g/100g]		
	Fat	Protein	Carbohydrates
Non-treated	0.7±0.01	2.6±0.02	96.7±0.01
LPGPA	0.6±0.01	2.8±0.02	96.6±0.02
LPGPN	0.6±0.01	3.1±0.01	96.3±0.01
LPGPC	0.6±0.02	2.9±0.01	96.3±0.01

Source: own research.

Table 3. Effect of LPGP treated water on the content of chlorophylls, carotenoids, ascorbic acid and sulphur compounds in watered rocket.

Water	Chlorophyll [mg/g]			Carotenoids [mg/g]	Ascorbic acid [mg/g]	Sulphur compounds [%]
	a	b	Total			
Non-treated	1.332 ± 0.016a	0.378 ± 0.016a	1.882 ± 0.031a	0.339 ± 0.011a	0.332 ± 0.016a	0.44 ± 0.02a
LPGPA	1.713 ± 0.012b	0.359 ± 0.011a	2.151 ± 0.012b	0.461 ± 0.011b	0.419 ± 0.009b	0.59 ± 0.01b
LPGPN	1.762 ± 0.013c	0.452 ± 0.009b	2.365 ± 0.011c	0.418 ± 0.010c	0.443 ± 0.015c	0.93 ± 0.03c
LPGPC	1.663 ± 0.012d	0.349 ± 0.011a	2.108 ± 0.012d	0.477 ± 0.008b	0.411 ± 0.012b	0.83 ± 0.02d

Source: own research.

Estimations of dry mass, ash and total sulfur content in rocket watered with particular kinds of water are reported in Table 4.

Table 4. Estimations of dry mass and ash in rocket watered with particular kinds of water.

Water	Dry mass [g]	Ash [%]
Non-treated	7.9 ± 0.1a	2.13 ± 0.02a
LPGPA	8.3 ± 0.2b	2.32 ± 0.02b
LPGPN	9.6 ± 0.1c	3.23 ± 0.01c
LPGPC	8.9 ± 0.1d	2.63 ± 0.02d

Source: own research.

Tables 5 collects data on bioaccumulation of cations and anions in so watered rocket.

Table 5. Bioaccumulation of cations in rocket watered with particular kinds of water.

Water	Content [mg/100 g]					
	Cations					
	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Mn ²⁺	Fe ³⁺
Non-treated	28 ± 1a	369 ± 3a	156 ± 2a	47 ± 1a	0.3 ± 0.1a	1.5 ± 0.2a
LPGPA	29 ± 1a	377 ± 2b	161 ± 1b	46 ± 1a	0.4 ± 0.1a	1.6 ± 0.1a
LPGPN	29 ± 1a	376 ± 2b	163 ± 1b	46 ± 1a	0.3 ± 0.1a	1.8 ± 0.1a
LPGPC	36 ± 1b	387 ± 2c	167 ± 1c	53 ± 12b	0.6 ± 0.1ab	2.4 ± 0.1b
Anions						
Water	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	PO ₄ ³⁻	
Non-treated	218.13 ± 0.01a	0.00 ± 0.00a	41.23 ± 0.01a	119.23 ± 0.02a	9.16 ± 0.02a	
LPGPA	219.31 ± 0.02b	0.00 ± 0.00a	41.83 ± 0.01b	121.32 ± 0.01b	9.07 ± 0.02b	
LPGPN	221.14 ± 0.02c	0.02 ± 0.01b	46.23 ± 0.01c	126.22 ± 0.01c	8.56 ± 0.02c	
LPGPC	224.11 ± 0.02d	0.00 ± 0.00a	42.53 ± 0.01d	120.29 ± 0.01d	8.96 ± 0.02d	

Source: own research.

Composition of essential oils extracted from so planted rocket is given in Table 6.

Table 6. Composition of essential oil collected from rocket watered with non-treated water and water treated with glow plasma in the air (LPGPA), under nitrogen (LPGPN) and carbon dioxide (LPGPC).

Peak number	Retention time [min]	Compound	Content [%] of component in the oil from the plant watered with watera			
			Non-treated water	LPGPA	LPGPN	LPGPC
1	2	3	4	5	6	7
1.	21.38	Butyl isothiocyanate	0.23	-	-	-
2.	21.90	cis-3-Hexenyl acetate	0.31	0.03	0.16	0.09
3.	22.43	4,4-Dimethyl thiacyclobutane-2-one	0.04	-	0.02	-
4.	22.63	5-Methyl hexanenitrile	0.31	-	-	0.11
5.	23.30	Propanal	1.02	1.13	0.98	0.91
6.	24.38	3-Butenyl isothiocyanate	0.02	-	-	-
7.	24.68	Furfural	0.02	0.11	0.35	0.11
8.	25.55	iso-Hexyl isothiocyanate	0.51	0.42	0.38	0.31
9.	25.78	1-Octanol	0.26	0.28	0.38	0.11
10.	26.37	Hexyl isothiocyanate	0.11	-	0.09	-
11.	30.53	Thiophene	0.71	0.62	0.13	-
12.	30.97	2-Methyl propanoic acid	0.11	0.16	0.21	0.3
13.	31.20	Propanoic acid	0.03	-	-	-
14.	31.38	2-Pentanitrile	6.25	6.11	8.68	7.56
15.	31.67	Nonadecane	0.03	-	-	-
16.	32.10	5-Methylthiopentanitrile	13.58	13.78	20.39	17.43
17.	32.83	3-Methylthiopropyl isothiocyanate	0.51	1.23	1.6	1.49
18.	33.33	Eicosane	0.08	0.10	0.03	0.12
19.	35.00	Heneicosane	0.06	-	-	-
20.	35.58	4-Methylthiobutyl isothiocyanate	62.38	63.26	53.41	61.38
21.	35.87	Eugenol	0.94	1.32	1.11	1.01

1	2	3	4	5	6	7
22.	37.37	5-Methylthiopentyl isothiocyanate	0.62	0.52	0.73	0.68
23.	38.33	Tricosane	0.87	0.73	0.36	0.38
24.	41.67	Pentacosane	1.32	1.12	1.23	0.78
25.	43.20	Isophytol	2.61	2.36	3.38	1.25
26.	43.33	Hexacosane	0.99	0.84	0.84	0.79
27.	44.13	Myristic acid	0.06	0.03	-	-
28.	45.00	Heptacosane	0.82	0.71	0.12	0.14
29.	45.28	Eicosanol	0.03	-	-	-
30.	46.67	Octacosane	0.18	0.18	0.14	0.13
31.	48.33	Nonacosane	1.92	1.82	1.82	1.98
32.	50.00	Triacontane	0.28	0.21	0.32	0.33
33.	51.03	Squalene	0.09	-	-	-
34.	51.67	Untriacontane	0.23	0.19	0.11	0.12
37.	52.58	Linoleic acid	0.31	0.32	0.22	0.22
38.	53.18	Linolenic acid	0.10	-	-	0.06
39.	54.42	Oleamide	2.06	2.32	2.44	2.04
Total numer of components			39	29	30	29
Total yield of essential oil [mL/100 g dry mass]			0.2	0.2	0.2	0.2

^a Total yield of essential oil = 100%

Source: own research.

In every case, watering with LPGP-treated water provided higher yield of crops (Table 1). Evidently, watering experimental rocket plantations with LPGP-treated kinds of water was beneficial for the yield of crops. LPGPN offered the highest yield of crops. The data showed that watering rocket with LPGPC provided more leaves per one plant, but they are less handsome than these observed in rocket watered with LPGPN. Plants were lusher when watered with particular kinds of LPGP-treated water and the watering with LPGPN was the most efficient in this respect (Figure 1).

The watering with the LPGP-treated water, regardless its kind, decreased the level of fat in the crops by approximately 14%. It was meaningless for the level of carbohydrates and the level of proteins slightly increased. The latter was the highest in case of watering with LPGPN (Table 2).

Application of the LPGP-treated water had a diverse effect upon the level of chlorophylls, carotenoids and ascorbic acid (Table 3). Such watering always increased the level of total chlorophylls but that effect upon the levels of chlorophylls *a* and *b* was not parallel. All kinds of LPGP-treated water always increased the level of chlorophyll *a* but LPGPA and LPGPC decreased the level of chlorophyll *b*.

The borders given below present effect of particular kinds of water upon the level of carotenoids and ascorbic acid:

- carotenoids: non-treated < LPGPN < LPGPA < LPGPC
- ascorbic acid: non-treated < LPGPC ≤ LPGPC < LPGPN

Thus, for achieving the crops the richest in carotenoids and ascorbic, watering with LPGPC and LPGPN, respectively, should be recommended. Watering rocket with LPGP-treated water appeared beneficial for formation of sulphur compounds essential for the taste and scent of that plant. Watering rocket with LPGPN was the most beneficial in this respect. Increased yield of crops resulted in an increase in the dry mass of crops and ash from it (Table 4).

An increased yield of dry mass resulted from a higher content of organic components listed in Tables 2 and 3 and bioaccumulated minerals as suggested by an increase in the level of estimated ash. Such kind watering facilitated bioaccumulation of sulphur compounds from the turf. Only watering rocket with LPGPC considerably increased accumulation of cations in the crops (Table 5). It might suggest trapping the cations by carbonic acid formed from CO₂ assimilated from that water. Also bioaccumulation of anions by rocket watered with LPGP-treated water was affected to a certain extent. One could observe bioaccumulation of the NO₂⁻ and NO₃⁻ anions in the plant watered with LPGPN. This fact together with increased level of proteins estimated in so watered rocket provided evidence for assimilation of the nitrogen present in LPGPN and its incorporation in processes catalysed by either enzymes or metal ions (Table 5).

Miyazawa et al. [4] isolated 67 components from the essential oil of rocket watered with non-treated water. Among them, 25 components resided in the concentration below 0.1%. Essential oil isolated from the plant grown in the present studies contained 39 components at the concentration of 0.1% and above (Table 6). The number of those components was reduced to 29, 30 and 29 in the essential oils extracted from the plant watered with LPGPA, LPGPN and LPGPC, respectively. That effect resulted solely from the elimination of some components residing in the essential oil isolated from control sample. The watering with all three LPGP-treated kinds of water did not produce any novel components absent in the control sample. The scent of the plant and its essential oil could be modified by the effect of used water upon the yield of components.

Regardless the kind of applied water sulphur containing compounds constituted the major fraction of extracted oils. That fraction contained chiefly isothiocyanates with dominating 4-methylthiobutylisothiocyanate. There were 62.38w% of that compound in the oil extracted from the plant watered with non-treated water. The latter compound was accompanied by other thiocyanates present in amounts below 1w%. 5-methylthiopentane- nitrile and thiophene (13.58 w% and 0.71w%, respectively) completed the composition of the fraction of the sulphur containing compounds. The yield of 4-methylthiobutylisothiocyanate could be slightly modified by watering rocket with LPGPA. An increase by ~1% was noted. LPGPN and PGPC decreased its content by ~10 and ~1%, respectively. Simultaneously, the yield of 5-methylthiopentanonitrile increased by ~0.2 ~7% and ~4%, respectively, and the yield of thiophene declined in the order: non-treated water (0.71%) > LPGPA (0.62%) > LPGPN (0.13%) > LPGPC (0%).

Apart from 10 sulphur containing components, the control essential oil contained also 29 sulphur-free compounds. Among them propanal, 2-pentanonitrile, pentacosane, isophytol, nonacosane and oleamide resided in amount exceeding 1.0 %.

The yield of pentacosane in the control sample declined to 1.12, 1.23 and 0.78%, respectively. That component is toxic to animals because as cytochrome P450 liberates pentanocyanide from it . The cyanide is detoxified and excreted in urine as thiocyanate. It resides also in *Brassica* species and varieties such as broccoli [23]. Its 6.25% concentration in control sample decreased to 6.11% in the essential oil extracted from the LPGPA watered plant and increased to 8.68 and 7.56 in the oil form the plant watered with LPGPN and LPGPC, respectively. Pentacosane is part of the female sex pheromone of the bee *A. nigroaenea*, and of females of the long-horned beetle *Xylotrechus colonus* [24].

The control sample of essential oil contained 2.61% isophytol, a terpenoid alcohol that is used as a fragrance and as an intermediate in the production of vitamin E and K1 [25, 26]. The watering plant with either LPGPA, LPGPN or LPGPC changed the concentration of that component to 2.36, 3.38 and 1.25, respectively. Thus, the watering rocket with LPGPN seemed to be beneficial for the plant. Nonacosane, a hydrocarbon, occurs naturally as a component of an mosquito pheromone [25]. Its 1.92% concentration in control essential oil was practically independent of the kind of water used for watering. The control essential oil contained also 2.06% oleamide. In nature, that amide accumulates in the cerebrospinal fluid during sleep deprivation and induces sleep in animals [27, 28]. For that sake it is considered as a factor for potential treatment for mood and sleep disorders, as well as cannabinoid-regulated depression [29]. It is one of the most frequent non-cannabinoid ingredients associated with spice products [30]. In essential oils extracted from rocket watered with LPGPA or LPGPN the concentration of oleamide increased to 2.32 and 2.44%,

respectively, whereas watering with LPGPC declined the yield of that compound to 2.04%. Watering with either LPGPA, LPGPN or LPGPC increased the concentration of eugenol from 0.94% in control extract to 1.32, 1.11 and 1.01%, respectively. Eugenol is used as a flavour or aroma ingredient in teas, meats, cakes, perfumes, flavourings, and essential oils [31]. It is also used as a local antiseptic and anaesthetic [32, 33]. For that sake the use of LPGPA, LPGPN and LPGPC seemed to be beneficial as watering with those kinds of water increased the level of eugenol in the essential oils.

Elucidation of the mechanisms of observed effects for particular organisms and kinds of used water requires separate studies. Undoubtedly, several factors are involved. Among them condition of solvation of reagents, including enzymes should be taken into account. Composition of the cells and, hence, conditions of osmosis should also be essential. Since clathrates resulting from the LPGP treatment are unstable in acidic media, the pH inside the cells can also be involved.

Conclusions

Watering rocket with the water treated with plasma under nitrogen provides the most lush plant. The kind of plasma treated water had a minor effect on rooting of the plants. Watering rocket with all kinds of plasma treated water offered higher yield of crops and watering with water treated with plasma under nitrogen was the most beneficial in this respect. The watering with the plasma treated water regardless its kind decreased the level of fat in the crops by approximately 14%. It was meaningless for the level of carbohydrates and slightly increased the level of proteins. All kinds of the plasma-treated water always increased the level of chlorophyll *a* but water treated with plasma in the air and under carbon dioxide decreased the level of chlorophyll *b*. The watering with the plasma treated water provides crops of a higher level of carotenoids, ascorbic acid and sulphur containing compounds. Watering rocket with LPGPN was the most beneficial in this respect. Watering rocket with various kinds of the plasma treated water influences the composition of the essential oils extracted from the leaves. No novel components were found in the extracts but the yield of some components was essentially influenced. Diverse effects of various kinds of the plasma treated water provide tailoring functional properties of the plant and essential oil extracted from it.

References

- [1] Flora of NW. *Eruca vesicaria*. Archived 2007-10-14 at the Wayback Machine.
- [2] Arugula, Raw, Nutrition Data.com. 2021. (retrieved Oct. 17, 2021).
<https://nutritiondata.self.com/facts/vegetables-and-vegetable-products/3025/2>
- [3] Denton O.A., *Vegetables*. In: *Grubbern, G.J.H., Denton, O.A. (Eds)*. Vegetables. Plant Resources of Tropical Africa. 2. PROTA Foundation, Wageningen, Netherlands/ Backhuys Publishers, Leiden Netherlands, 2004, p. 295.
- [4] Miyazawa M., Maehara T., Kurose K., Composition of the essential oil from leaves of *Eruca sativa*, *Flavours and Fragrances Journal*, 2002, 17, p. 89–190.
- [5] Omri Hichri A., Mosbah H., Majouli K., Besbes Hlila M., Ben Jannet H., Flamini G., Aouni M., Selmi B., Chemical composition and biological activities of *Eruca vesicaria* subsp. *longirostris* essential oils, *Pharmaceutical Biology*, 2016, 54, s. 2236–2243.
- [6] US Department of Agriculture. Arugula raw. Agricultural Research Service, FoodData Central Search Results, Arugula raw. 2012. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/169387/nutrients><https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/169387/nutrients> (retrieved Oct. 15, 2021).
- [7] Bell L., Metheven L., Signore A., Oruna-Concha M.J., Wagstaff C., Analysis of seven salad rocket (*Eruca sativa*) accessions: The relationships between sensory attributes and volatile and non-volatile compounds, *Food Chemistry*, 2017, 218, p. 181– 191.
- [8] Nielsen T., Bergstrom B., Borch E., The origin of off-odours in packaged rucola (*Eruca Sativa*), *Food Chemistry*, 2008, 110, p. 96–105.
- [9] Villatoro-Pulido M., Priego-Capote F., Álvarez-Sánchez B., Saha S., Philo M., Obregón-Cano S., De Haro-Bailón A., Font R., Del Río-Celestino M., An approach to the phytochemical profiling of rocket [*Eruca sativa* (Mill.) Thell], *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013, 93, p. 3809–3819.
- [10] Oszczęda Z., Elkin I., Stręk W., Equipment for treatment of water with plasma, Polish Patent PL 216025 B1, 28 February 2014.
- [11] Reszke E., Yelkin I., Oszczęda Z., Plasming lamp with power supply, Polish Patent PL 227530 B1, 2017.
- [12] Białopiotrowicz T., Ciesielski W., Domański J., Doscocz M., Fiedorowicz M., Graż K., Kołoczek H., Kozak A., Oszczęda Z., Tomasik P., Structure and physicochemical properties of water treated with low-temperature low-frequency plasma, *Current Physical Chemistry*, 2016, 6, p. 312–320.
- [13] Ciesielska A., Ciesielski W., Kołoczek H., Kulawik D., Kończyk J., Oszczęda Z. Tomasik P., Structure and some physicochemical and functional properties of water treated under ammonia with low-temperature low-pressure glow plasma of low frequency, *Open Chemistry*, 2020,18, p. 1–12.
- [14] Chwastowski J., Ciesielska K., Ciesielski W., Khachatryan K., Kołoczek H., Kulawik D., Oszczęda Z., Tomasik P., Witczak M., Structure and physicochemical properties of water treated under nitrogen with low-temperature glow plasma, *Water*, 2020, 12, art. 1314.
- [15] Ciesielska A., Ciesielski W., Khachatryan K., Kołoczek H., Kulawik D., Oszczęda Z., Soroka J.A., Tomasik P., Structure and physicochemical properties of water under carbon dioxide with low-temperature glow plasma of low frequency, *Water*, 2020, 12, art. 1920.
- [16] Ciesielska A., Ciesielski W., Khachatryan K., Kołoczek H., Kulawik D., Oszczęda Z., Soroka J.A., Tomasik P., Structure and physicochemical properties of water treated under methane with low-temperature glow plasma of low frequency, *Water*, 2020,12, art. 1638.

- [17] Chwastowski J., Ciesielski W., Khachatryan K., Kołoczek H., Kulawik D., Oszczyda Z., Soroka J.A., Tomasik P., Witczak M., Water of increased content of molecular oxygen, *Water*, 2020, 12, art. 02488.
- [18] Tomasik P., *Fundamentals of food nanotechnology*, Lambert, Saarbruecken, 2017.
- [19] Tomasik P., *Fundamental of nanotechnology of food and cosmetics (in Polish)*, Sophia, Warsaw, 2019.
- [20] Polish Standards. 1975. PN-75/A-04018; Polish Committee for Standardization: Warsaw, Poland.
- [21] Al Majidi H.M.I., Al Qubury H.Y., Determination of vitamin C (ascorbic acid) contents in various fruit and vegetable by UV-spectrophotometry and titration methods, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 2016, 9, p. 2972–2974.
- [22] Libraries, Tools, Service, CHEMDATA.NIST.GOV, 2021. <https://chemdata.nist.gov/dokuwiki/doku.php?id=chemdata:start>
- [23] Wang J.-L., Buhler D.R., Valeronitrile, In: Buhler D.R. Reed R.J. (Eds.), *R. Snyder Ethel Browning's Toxicity and Metabolism of Industrial Solvents 2nd Ed.*, vol. 2. Nitrogen and Phosphorus Solvents, Elsevier, Amsterdam, pp. 359–362, 1990.
- [24] Pentacosane, PubChem. 2021, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pentacosane>
- [25] Brei B., Edman J.D., Gerade B., Clark J.M., Relative abundance of two cuticular hydrocarbons indicates whether a mosquito is old enough to transmit malaria parasites, *Journal of Medical Entomology*, 2004, 41, p. 807–809.
- [26] McGinty D., Letizia C.S., Api A.M., Fragrance material review on isophytol, *Food Chemistry and Toxicology*, 2010, 48, p. S76–S81.
- [27] Cravatt B., Prospero-Garcia O., Siuzdak G., Gilula N., Henriksen S., Boger D.L., Lerner R.A., Chemical characterization of a family of brain lipids that induce sleep, *Science*, 1995, 268(5216), p. 1506–1509.
- [28] McKinney M.K., Cravatt B.F., Structure and function of fatty acid amide hydrolase, *Annual Reviews in Biochemistry*, 2005, 74(1), p. 411–432.
- [29] Geraciotti T.D.Jr., Kasckow J.W. Methods of treating anxiety and mood disorders with Oleamide, United States Patent, US 6359010B1, 2002.
- [30] Fattore L., Fratta W., Beyond T.H.C., The new generation of cannabinoid designer drugs, *Frontiers in Behavioral Neurosciences*, 2011, 5, art. 60.
- [31] LiverTox. Eugenol (clove oil), US National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Oct. 28, 2018, Retrieved Oct. 24, 2021, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551727/>.
- [32] Jadhav B.K., Khandelwal K.R., Ketkar A.R., Pisal S.S., Formulation and evaluation of mucoadhesive tablets containing eugenol for the treatment of periodontal diseases, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2004, 30, p. 195–203.
- [33] Sell A.B., Carlini E.A., Anaesthetic action of methyleugenol and other eugenol Derivatives, *Pharmacology*, 1976, 14, p. 367–377.

Do cytowania:

Ciesielska K., Ciesielski W., Kulawik D., Oszczyda Z., Pisulewska E., Tomasik P., Specific way of controlling yield and quality of crops of rocket (*Eruca sativa* Mill.) and tailoring some of its functional properties, *Herbalism*, 2023, 1(9), s. 19–35.

Specific modulation of flavor and aroma of Greek oregano (*Origanum vulgare var. hirtum*) and its essential oil

Specyficzna modulacja smaku i aromatu greckiego oregano (*Origanum vulgare var. hirtum*) i jego olejku eterycznego

Wojciech Ciesielski¹, Maciej Gąstoł², Tomasz Girek¹, Damian Kulawik¹,
Zdzisław Oszczęda³, Elżbieta Pisulewska⁴, Piotr Tomasik³

¹ Institute of Chemistry, Jan Długosz University, 42-201 Częstochowa, Poland

² Faculty of Biotechnology and Horticulture, University of Agriculture, Krakow, Poland

³ Nantes Nanotechnological Systems, 59-700 Bolesławiec, Poland

⁴ State University of Applied Sciences in Krosno, 38-400 Krosno, Poland, e-mail: elzbieta.pisulewska@gmail.com

Keywords: carvacrol, glow plasma, glow plasma treated water, thymol

Słowa kluczowe: karwakrol, plazma jarzeniowa, tymol, woda plazmowana

Summary

Plantations of Greek oregano (*Origanum vulgare var. hirtum*) were watered with water treated for 30 min with low-temperature, low-pressure glow plasma of low frequency either in the air, under nitrogen, carbon dioxide, methane or molecular oxygen.

The kind of the water influenced the yield and quality of crops in terms of a number of plants, their height, total biomass, total number and mass of leaves. Watering the plants with every kind of the plasma treated water provided essential changes in the composition of isolated essential oil. In such manner the composition of the essential oil could be tailored following the consumer demands, particularly in cases of designing better cure potential for herbal medicine and aromatherapy. The selection of particular kind of the plasma treated water for watering provides essential oil of diverse suitability as the spice and flavouring agent. Regarding the kind of water taken for watering always carvacrol was a dominating component of the essential oil. Application of particular kind of treated water always changed the yield of particular components of the oil up to a total inhibition of its formation but never resulted in formation of novel components.

Streszczenie

Plantacje greckiego oregano (*Origanum vulgare var. hirtum*) podlewano wodą traktowaną przez 30 min niskotemperaturową, niskociśnieniową plazmą jarzeniową o niskiej częstotliwości pod powietrzem, azotem ditlenkiem węgla, metanem lub cząsteczkowym tlenem.

Rodzaj wody miał wpływ na wydajność i jakość plonów wyrażoną liczbą roślin, ich wysokością, całkowitą biomasą oraz liczbą i masą liści. Podlewanie roślin każdym rodzajem plazmowanej wody prowadziło do istotnych różnic w składzie wydzielanego olejku eterycznego. Dzięki temu można będzie regulować jakość olejku stosownie do żądań konsumentów, co jest szczególnie istotne w przypadku ziołolecznictwa i aromatoterapii. Wybór rodzaju wody do podlewania pozwalał na pozyskiwanie olejku eterycznego o odmiennych właściwościach przyprawowych i nawaniających. Bez względu na rodzaj wody stosowanej do podlewania karwakrol był zawsze dominującym składnikiem olejku. Stosowanie poszczególnych rodzajów wody odmiennie wpływało też na wydajność poszczególnych składników olejku. Podlewanie plazmowaną wodą pozwalało eliminować niektóre składniki olejku, ale nigdy nie prowadziło do pojawiania się nowych.

Introduction

Invention of low-temperature low pressure glow plasma of low frequency (LPGP) and equipment for its development [1, 2] induced a series of studies on physical, physicochemical and chemical structure of water treated with that plasma. At temperature, pressure and frequency maintained constant on the plasma generation the time of exposure of water to glow plasma and atmosphere under which the treatment was performed appeared crucial for the properties of resulting water. Thus, series of papers was published on the structure and physical, physicochemical and chemical properties of water treated with LPGP in the air (LPGPA) [3], under nitrogen (LPGPN) [4], ammonia (LPGPAM) [5], carbon dioxide (LPGPC) [6], methane (LPGPM) [7] and molecular oxygen (LPGPO) [8].

These kinds of LPGP treated water distinguished from one another with their macrostructure and, hence, with their functional properties. For instance, LPGPAM was suggested as an efficient nitrogen fertilizer [5]. Macrostructure dependent functional properties of LPGP-treated water were particularly extensively studied in case of plant breeding cultivation. Wolski et al. [9] presented beneficial effect of LPGPA on the quality and yield of crops of fodder grass. Pisulewska et al. [10] demonstrated that watering peppermint with LPGPA considerably changed the composition of extracted essential oil. The water macrostructure dependent effect of various kinds of LPGP treated water was well demonstrated in case of watering cress [11].

Subsequently, relevant studies focused on herbs that is, on lavender [12] and basil [13]. The results confirmed pronounced effect of watering on the composition of essential oil and, to a lesser extent, on the yield and quality of the crops. In this study, Greek oregano (*Origanum vulgare var. hirtum*) was taken under consideration to extend the understanding links between the macrostructure of water used for watering plants and the yield as well as quality of the crops. Such studies also contribute to the knowledge of possible mechanisms of the influence of particular kinds of LPGP treated water upon biosynthesis of the components of its essential oil. In this paper effect of the specific modulation of the flavor is signaled. It is based on known [14, 15] effect of associations of sensory impressions. Results of those associations depend on the temperament and personality of individual consumers.

Greek oregano [16] is one of many species of flowering plants in the mint family (Lamiaceae). It originates from Western and Southwestern Eurasia and the Mediterranean region but its plantations spread all over the World. It prefers a hot, relatively dry climate, but does well in other environments.

The soil pH of 6.0 to 8.0 is beneficial [17]. Oregano is used chiefly as a culinary herb. Its taste and aroma depend on climate, season and soil composition and even on the drying method [18]. Over 60 different compounds have been identified in the essential oil either or distilled from the plant.

Among them dominate carvacrol and thymol ranging to over 80% of the total content, while *p*-cymene, γ -terpinene, caryophyllene, spathulenol, germacrene-D, β -fenchyl alcohol, δ -terpineol limonene, pinenes and ocimene are less abundant components [19–22].

These components are responsible for flavour and aroma of the plant. Frequently, cold pressed oil is in use. Apart from flavouring compounds it contains also fatty acids such as linoleic, stearic and palmitic acids in form of glycerides responsible for the taste of the product and tocopherols acting as antioxidants [23]. The commercial cold pressed oils from seeds undergo standardization [24]. Although Greek oregano essential oil was traditionally used in folks therapy any clinical evidence of its beneficial influence on the human health is lacking [25]. Instead, there are warnings on its anti-disease effects [26–28].

Materials and methods

Materials

Greek oregano (*Origanum vulgare var. hirtum*) seeds were provided by Novisem vegetable seed company (Baarlo, The Netherlands). It is perennial, white flowering and extremely aromatic plant.

Substrate

Substrate was composed of medium size turf fraction Florabalt® Pot Medium-Coarse (Floragard, Oldenburg, Germany). The medium had pH = 5.6, total salt 1.2 g/L, 210 mg N/L, 120 mg P₂O₅/L, 260 mg K₂O/L. It was supplemented with multicomponent PG-Mix 18-10-20 fertilizer (1.20 kg/m³) (Yara, Oslo, Norway).

Water

Tap water from Bolesławiec of total hardness 129 mg/dm³ CaCO₃, pH 7.1, conductivity 334 mS/cm, Fe < 50 mg/dm³, Mn < 5 mg/dm³ and 6.93 mg/dm³ dissolved oxygen was used as the standard. That water was LPGP treated for 30 min in contact with the air following Białopiotrowicz et al. [3] providing LPGPA and, alternatively, treated for the same time with LGPG under nitrogen as described by Chwastowski et al. [4], providing LPGPN. LPGPC, LPGPM and LPGPO were prepared following methods described by Ciesielska et al. [5–7], and Chwastowski et al. [8], respectively. LPGP of 38°C was generated at 5x10⁻³ mbar, 800 V, 50 mA and 10 KHz frequency in a plasmothrone patented by Oszczyda et al. [1] and Reszke et al. [2]. The produced water was stored at ambient temperature in 1L closed teflon containers. Water used in particular experiments was stored for no more than 2 weeks.

Trays

Multiplate long life trays model QP 24RW (Herkuplast Kubern GmbH, Ering/Inn, Germany) were used. Each of them contained was composed of 24 trays. and 24 pots, each of 230 cm³ capacity (= 140 trays per 1m²).

Methods

Greek oregano plantation

The monofactorial experiment was carried out from January 24th (sowing) till May 18th (harvesting) 2019 (harvesting) in a greenhouse at the University of Agriculture in Cracow. The greenhouse was set for 22/18°C (day/night) temperature. The automatic additional 16h illumination with sodium lamps early spring was used when natural light intensity decreased below 100 W/m². The experiment involved three sets of trays with 24 pots each. Ten seeds of *origanum* were sown into every pot. The watering was adjusted according to tensiometer readings (Irrometer model SR 150 mm) when soil water tension was < -40 kPa. The plants were watered by hand manually to avoid the accidental contact of water with leaves. Initially, plants consumed totally 3L water, that is 1L per each replication in the 5 day period until March 24th. In the subsequent 1 month period the watering was intensified and the same

amount of water was administered to the plants in 3 day periods. In the final period of breeding the grown plants were watered daily consuming the same amount of water. In such manner the watering consumed totally 40 mL each kind water daily. The experiment terminated on May 18th 2019 when the plants were collected and separated into leaves and stems. The plants were then dried at 105°C for 4 hours to determine dry mass of the crops.

Preparation of extracts

Extracts were prepared on 30 min. grounding of the plant material (leaves and stems) in a mortar (20 g) with 96% ethanol (100 cm³) added. Composition of extracts was studied with gas chromatography

Separation of essential oils by distillation of dry mass of plants

Samples of the plant (leaves and stems) dried at 35°C to constant weight (1 g) were steam distilled for 2 h in a Deryng apparatus with a closed water circulation. The collected oils were transferred to a closed vial and stored in dry ice until analyzed. Gas chromatographic analysis was performed within three days.

Gas chromatographic analyses

Sample of essential oil (5 µL) was transferred to closed chromatographic viol and evaporated on a heating plate. Using gas-tight syringe gaseous sample (10 µL) was analysed using a Bruker 436-GC gas chromatograph coupled with Bruker SCION SQ (single quadruple, electron ionization) mass spectrometer (Durham, UK). The estimations were duplicated.

The instrument was equipped with BR-5ms; 0.25 mm x 30 m, df = 0.25 µm. The column operated at the following temperature programme: 50°C (2 min) at the temperature rate increase 10°C/min up to 170°C (0 min), then at 25°C to 280°C (5 min). Dispenser, transfer line and the ion-source temperature was 300, 280 and 200°C, respectively. Sample separation was set for 1:20, helium was used as the carrier gas. The flow of the mobile phase was 1,0 mL/min, and ionization energy was 70 eV. Scanning was performed in the 50–500 m/z range.

Chromatographic signals were identified by comparison with mass spectra available in the NIST 11 library [29]. Area under particular chromatographic peaks were calculated involving CompassCDS software installed in the chromatograph.

Statistics

Average values of number of plants, height of plants, total mass of plants, total number of leaves, number of leaves per plant, mass of stems, total mass of foliage

and mass of one leaf and corresponding standard deviations (Table 1) were calculated for results of plantations grouped in 6 sets, each containing 24 pots.

The results were subjected to statistical interpretation, mean values and standard errors were calculated, and the significance of the variables was determined. Statistically significant differences between means ($p < 0.05$) were evaluated using one-way analysis of variance (ANOVA) with a post hoc multiply Duncan's range test [30]. Moreover, the Pearson product-moment correlation coefficients between analyzed variables were calculated. The significance level for correlation coefficient was $p = 0.05$, and the number of pairs for the calculations was $N = 216$. All statistical analyses were calculated using Statistica 13.3 software (Tibco Software Inc., Palo Alto, USA).

Table 1. Quantitative characteristics of the oregano crops watered with various kinds of water treated with low-pressure glow plasma in contact with various gases.

Estimation	Plasmed watera					
	Non-plasmed (control)	LPGPA	LPGPN	LPGPC	LPGPM	LPGPO
Number of plants	4.21 ± 0.15a	5.07 ± 0.14b	5.49 ± 0.12c	5.12 ± 0.23d	4.79 ± 0.31b	3.61 ± 0.34e
Height of plants/1 pot [cm]	18.2 ± 3.1a	25.4 ± 3.4b	28.6 ± 3.4b	24.2 ± 1.8b	23.6 ± 2.5ab	20.6 ± 1.1a
Total mass of plant [g]	8.32 ± 0.21a	9.17 ± 0.12b	10.04 ± 0.12c	9.12 ± 0.21b	9.23 ± 0.23b	7.84 ± 0.21d
Total number of leaves	84.7 ± 1.6a	93.2 ± 3.2b	94.4 ± 1.7b	89.4 ± 2.4c	80.6 ± 1.2d	76.3 ± 1.4e
Number of leaves per plant	11.39 ± 0.33a	13.27 ± 0.25b	13.94 ± 0.24c	12.82 ± 0.14d	12.45 ± 0.14e	11.23 ± 0.31a
Mass of stems [g]	1.67 ± 0.13a	2.29 ± 0.21b	2.06 ± 0.22b	2.27 ± 0.11b	2.24 ± 0.11b	2.11 ± 0.12b
Total mass of foliage [g]	6.33 ± 0.33a	7.51 ± 0.64b	7.88 ± 0.28b	7.13 ± 0.18b	6.98 ± 0.22b	5.51 ± 0.22c
Mass of one leaf [g]	0.073 ± 0.007a	0.077 ± 0.009a	0.087 ± 0.005a	0.075 ± 0.008a	0.071 ± 0.008a	0.067 ± 0.009a

^a Every experiment with particular kind of water employed 24 pots. Thus, the values presented in that Table are averages of 24 estimations. Differences in values in verses followed by identical letter differ from one another on statistically unessential manner.

Source: own research.

Results and Discussion

Generally, watering *O. vulgare* with LPGP treated water considerably influenced measured parameters describing the plant (Table 1). Number of plants after watering with LPGPN increased by about 30% whereas watering with LPGPC and LPGPA provided about 20% increase. Watering with LPGPM resulted in solely about 13% increase in that parameter whereas watering with LPGPO reduced the number of plant by about 15% in respect to the result of watering with non-treated water. Watering with LPGP-treated water was beneficial for height of plants. It increased by over 55% in case of LPGPN in order to decline to about 18% in case of the appli-

cation of LPGPO. Total number of leaves increased by approximately to 10% to 5% after watering with LPGPN, LPGPA and LPGPC and watering with LPGPM and LPGP) reduced it by about 5 and 10% in respect to the result collected after watering with control water. Number of leaves per plant increased in all cases except watering with LPGPO by between about 20 to 10% but watering with LPGPO reduced it by about 15% in respect to control. An increase in the mass of stems, depending on the kind of treated water used balanced between 25 and 35%. LPGPN provided the lowest about 25% increase.

Total mass of foliage rose from about 10% for LPGPM to about 25% in case of LPGPN. Solely watering with LPGPO reduced that mass by about 10% in respect to the control. Only watering with LPGPN was beneficial in terms of all kinds of plasma water had a little effect upon mass of one leaf providing about 20% increase whereas no effect on this property could be noted after watering with remained kinds of water.

The use of LPGP-treated water, except LPGPM had no effect on the yield of extracted essential oil. It was extracted from leaves and stems. The use of LPGPM resulted in 50% reduction of the yield of that oil in respect to its yield achieved from the material after watering with remaining kinds of water (Table 2). In that Table only components whose amount reaches 0.01% and above are characterized. Essential oil extracted from material from our plantation of Greek oregano consisted of 41 components. Among them definitely dominated carvacrol constituting over 56% of the total amount of oil. Subsequent 11 components residing in the oil in the amount 1.00% and above constituted hardly 32.88%. They were caryophyllene (8.25%), γ -terpinene (6.40%), thymol (4.43%), p-cymene (3.24%), 3-octanol (2.38%), *cis*- β -terpineol (2.35%), sabinene (1.68%), *trans*-dihydrocarvone (1.61%), methyl thymyl ether (1.36%), thymoquinone (1.14%) and 3-carene (1.04%).

Table 2. Composition of essential oil collected from Greek oregano watered with non-treated water and water treated with glow plasma in the air (LPGPA), under nitrogen (LPGPN), carbon dioxide (LPGPC), methane (LPGPM and under molecular oxygen (LPGPO).

Peak position in chromatogram	Retention time [min]	Component	Non-treated	LPGPA	LPGPN	LPGPC	LPGPO	LPGPM
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	7.08	β -Thujene	0.02	0.04	0.49	-	0.27	-
2	7.27	α -Pinene	0.01	0.03	0.16	1.83	0.09	1.02
3	7.68	Camphene	0.01	0.03	0.02	1.33	-	0.72
5	8.22	Sabinene	1.68	0.14	8.25	0.12	7.09	-

Specific modulation of flavor and aroma of Greek oregano...

1	2	3	4	5	6	7	8	9
6	8.36	1-Octen-3-ol	0.59	0.83	2.42	-	4.82	3.47
8	8.49	3-Octanone	0.69	0.35	0.01	-	-	-
9	8.60	β -Pinene	0.69	0.48	2.09	1.25	4.12	1.15
10	8.79	3-Octanol	2.38	0.08	-	-	-	1.05
12	9.05	α -Phellandrene	0.95	0.10	0.35	0.76	0.30	0.42
13	9.13	3-Carene	1.04	0.04	2.08	1.92	-	2.31
14	9.32	α -Terpinene	0.56	0.82	1.67	0.27	1.56	0.23
16	9.51	p-Cymene	3.24	1.21	0.05	0.28	0.06	0.79
17	9.63	D-Limonene	0.49	0.10	1.60	4.19	1.40	4.74
20	9.77	<i>trans</i> - β -Ocimene	0.34	0.20	0.08	2.94	0.08	-
21	10.04	β -Ocimene	0.23	0.20	0.46	1.62	0.06	-
22	10.37	γ -Terpinene	6.40	4.60	2.13	0.35	2.00	0.37
23	10.67	<i>cis</i> - β -Terpineol	2.35	0.51	5.95	0.62	0.35	0.90
27	11.40	Linalool	0.06	0.53	-	0.35	-	2.44
28	11.46	<i>cis</i> -4-Thujanol	0.20	0.19	1.35	0.35	6.20	0.97
30	12.11	Neo- <i>allo</i> -ocimene	0.19	0.03	0.14	0.15	0.13	0.13
39	13.19	1,3-Dimethyl-1-cyclohexene	0.65	0.06	0.09	0.21	3.48	0.21
40	13,24	<i>endo</i> -Borneol-dupl	0.32	0.57	0.07	1.28	0.07	4.54
44	13.50	Terpinen-4-ol	0.20	0.06	0.72	0.05	0.84	0.62
46	13.80	α -Terpineol	0.65	0.07	3.11	0.35	6.28	4.65
48	13.87	Dihydrocarvone	0.04	0.06	0.14	-	0.15	1.24
50	14.04	<i>trans</i> -Dihydrocarvone	1.61	0.07	-	-	0.09	2.01
53	14.82	Methyl thymyl ether	1.36	0.04	3.65	-	-	4.25
59	15.08	Thymoquinone	1.14	0.64	0.01	-	-	-
66	16.04	Thymol	4.43	0.26	8.92	-	13.26	-
68	16.33	Carvacrol	56.32	81.32	40.94	72.46	31.45	44.65
71	17.05	Elixene	0.95	0.09	0.78	-	0.65	-
73	17.45	Eugenol	0.17	0.10	1.39	6.84	2.42	5.47
76	17.70	Carvacryl acetate	0.06	0.10	2.31	-	1.08	-

1	2	3	4	5	6	7	8	9
82	18.97	Caryophyllene	8.25	0.92	1.56	0.11	7.24	3.75
83	19.14	β -Copaene	0.02	0.04	–	0.06	–	–
86	19.52	Humulene	0.54	0.18	0.06	0.04	1.68	0.51
88	19.83	Germacrene D	0.25	3.81	5.96	–	–	4.28
89	19.99	γ -Elemene	0.08	0.13	0.99	–	2.18	–
91	20.08	β -Bisabolene	0.75	0.92	–	–	0.41	2.14
94	20.74	4- <i>epi</i> -cubedol	0.07	0.03	–	–	0.15	0.12
95	20.80	Caryophyllene oxide	0.02	0.02	–	0.27	0.04	0.85
Total number of components			41	41	34	26	32	30
Yield of essential oil [mL/100 g dry mass] ^a			0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2

^a Data quoted with \pm 0.05% precision.

Source: own research.

Thus, carvacrol was chiefly responsible for flavour and aroma of this essential oil. However, it also introduced antimicrobial and some fungicidal properties [31]. Watering with LPGPA and LPGPC considerably increased the level of that phenol whereas watering with LPGPN, LPGPO and particularly LPGPM reduced its level.

Caryophyllene, a sesquiterpene, is known for its anticancer and analgesic properties [32]. Watering with LPGP-treated water decreased the original content of that component in the essential oil (8.25%) in the order LPGPM (7.24%) > LPGPO (3.75%) > LPGPN (1.56%) > LPGPA (0.92%) > LPGPC (0.11%). It is biosynthesized from the common terpene precursors dimethylallyl pyrophosphate (DMAPP) and isopentenyl pyrophosphate (IPP). First, single units of DMAPP and IPP are reacted via an SN1-type reaction with the loss of pyrophosphate, catalyzed by the enzyme GPPS2, to form geranyl pyrophosphate (GPP). This further reacts with a second unit of IPP, also via an SN1-type reaction catalysed by the enzyme IspA, to form farnesyl pyrophosphate (FPP). Finally, FPP undergoes QHS1 enzyme-catalysed intramolecular cyclization to form caryophyllene [33].

γ -Terpinene was a subsequent component in the order arranged according to its decreasing content in the essential oil. That terpene exhibits antimicrobial properties against various human pathogens [34]. Watering with LPGP-treated water reduced the content of this terpene in the order: control (6.40%) > LPGPA (4.10%) > LPGPN (2.13%) > LPGPO (2.00%) > LPGPM (0.37%) > LPGPC (0.35%).

Apart from a pleasant aromatic scent, thymol, a monoterpenoid phenol, introduced to the essential oil strong antiseptic properties. Hence, it is used as medical disinfectant and non-persisting pesticide [35, 36]. Watering the plant with LPGPO

tremendously increased the content of this compound in the essential oil from 4.43% in control to 13.26%. Also watering with LPGPN doubled the initial concentration therein. LPGPA strongly decreased the content of thymol to 0.26% and watering with either LPGPC or LPGPM completely inhibited formation of thymol.

p-Cymene, the aromatic hydrocarbon contributes to the aroma of the essential oil. It can be dangerous for human health [37, 38]. Watering with the LPGP-treated water considerably but not completely inhibited biosynthesis of that compound. LPGPN and LPGPO were the most efficient in this respect.

3-Octanol is used chiefly as a fragrant compound. Although slightly irritating at higher concentration it is safe in use [39]. Its concentration in control sample (2.35%) was significantly reduced when the plant was watered with LPGPM and LPGPA to 1.05% and 0.68%, respectively, and totally inhibited by watering with LPGPN, LPGPC and LPGPO.

cis- β -Terpineol, the terpene alcohol is used as a fragrant component. It is absorbed by skin, therefore, it is irritating at higher concentration. At low concentration it is safe in use [40]. Watering the plant with LPGPN increased the yield of that terpene by about 120% whereas the watering with other kinds of the LPGP-treated water considerably but not completely inhibited its biosynthesis and, hence, reduced its content in the essential oil.

Sabinene is one of the chemical compounds that contribute to the spiciness of black pepper [41]. In Greek oregano its biosynthesis was strongly promoted by watering its plantation with LPGPN and LPGPO lifting its content from 1.18% in control to 8.25 and 7.09%, respectively. Watering with LPGPA and LPGPC reduced the sabinene content to slightly over 0.10% and watering with LPGPM completely eliminated sabinene from the essential oil.

trans-Dihydrocarvone, terpene of a medium intensity strength of aroma should not be used for fragrance and flavouring [42]. Its biosynthesis is stimulated when the plant was watered with LPGPM and strongly inhibited by watering with other LPGP-treated kinds of water.

Methyl thymyl ether is appreciated for its burnt, smoky, and woody tasting. It causes skin, eye and respiratory tracts irritation [43]. Watering the plant with LPGPN and, particularly with LPGPM strongly promoted its biosynthesis whereas LPGPA, LPGPC and LPGPO inhibited it.

Thymoquinone, a component considered as useful in treating cancer [44, 45] resided in the essential oil extracted after watering the plant with non-treated water (control) in the amount of 1.14%. Watering with either LPGPA or LPGPN reduced the amount of that component to 0.64 and 0.01%, respectively, whereas watering with remained kinds of water under study completely inhibited formation of that component.

The last in the order 3-carene is reported as useful in relieving inflammation related to arthritis or fibromyalgia and boosting bone health, subsequently benefitting people with osteoporosis, osteoarthritis, or other bone diseases. It is also suggested as memory stimulating terpene [46, 47]. The plant watering with LPGPM, LPGPN and LPGPC stimulated biosynthesis of that terpene whereas LPGPA and LPGPO inhibited its formation.

Insight in Table 2 shows that watering plantations with various kinds of LPGP-treated water did not provide any novel component of the essential oil which would be absent in the oil from the control plantation.

Separate studies are required to explain mechanisms of biosynthesis of particular components of the essential oil. Some speculations on that subject were presented in our earlier papers [12, 13]. Recently Krause et al. [48] presented the course of biosynthesis of thymol and carvacrol. It involved the cyclization of geranyl diphosphate to γ -terpinene, followed by a series of oxidations via p-cymene. That finding could rationalize an increment of the carvacrol content and simultaneously decrease of some other components in the essential oil isolated from the plant watered with LPGPA. This water contained singlet oxygen as guests of aqueous clathrates. On decomposition of LPGPA clathrates, singlet oxygen turned in the triplet oxygen molecules providing the medium of oxidative properties and, hence, supporting biosynthesis of carvacrol. An increase in the yield of biomass from the plants watered with LPGPN and LPGPC could be rationalized in terms of the content of the molecules of nitrogen and carbon dioxide, respectively, in their excited states. These molecules were incorporated by the plant for biosynthesis of proteins as presented in our earlier papers [12, 13].

Conclusions

Watering plantations of Greek oregano influences the yield and quality of the crops as well as composition of essential oil isolated from the dried plant. The effect of watering depends on the method of the treatment of water with glow plasma. The selection of particular kind of the plasma treated water for watering provides essential oil of diverse suitability as the spice, flavouring agent and also a potential mean applicable from the point of view of herbal medicine and aromatherapy. Regarding the kind of water taken for watering always carvacrol was a dominating component of the essential oil. Never Application of particular kind of treated water always changed the yield of particular components of the oil up to a total inhibition of its formation but never resulted in formation of novel components. Separate studies are required to explain mechanisms of biosynthesis of particular components of the essential oil.

Literature

- [1] Oszczęda Z., Elkin I., Strek W., Equipment for treatment of water with plasma, Polish Patent PL, 216025 B1, 28 February, 2014.
- [2] Reszke E., Yelkin L., Oszczęda Z., Plasming lamp with power supply, Polish Patent PL, 2017, 227530 B1.
- [3] Białopiotrowicz T., Ciesielski W., Domański J., Doskocz M., Fiedorowicz M., Graż K., Kołoczek H., Kozak A., Oszczęda Z., Tomasik P., Structure and physicochemical properties of water treated with low-temperature low-frequency plasma, *Current Physical Chemistry*, 2016, 6, s. 312–320.
- [4] Chwastowski J., Ciesielska K., Ciesielski W., Khachatryan K., Kołoczek H., Kulawik D., Oszczęda Z., Tomasik P., Witczak M., Structure and physicochemical properties of water treated under nitrogen with low-temperature glow plasma, *Water*, 2020, 12, 1314.
- [5] Ciesielska A., Ciesielski W., Kołoczek H., Kulawik D., Kończyk J., Oszczęda Z., Tomasik P., Structure and some physicochemical and functional properties of water treated under ammonia with low-temperature low-pressure glow plasma of low frequency, *Open Chemistry*, 2020, 18, s. 1–12.
- [6] Ciesielska A., Ciesielski W., Khachatryan K., Kołoczek H., Kulawik D., Oszczęda Z., Soroka J.A., Tomasik P., Structure and physicochemical properties of water treated under carbon dioxide with low-temperature glow plasma of low frequency, *Water*, 2020, 12, 1920.
- [7] Ciesielska A., Ciesielski W., Khachatryan K., Kołoczek H., Kulawik D., Oszczęda Z., Soroka J.A., Tomasik P., Structure and physicochemical properties of water treated under methane with low-temperature glow plasma of low frequency, *Water*, 2020, 12, 1638.
- [8] Chwastowski J., Ciesielski W., Khachatryan K., Kołoczek H., Kulawik D., Oszczęda Z., Soroka J.A., Tomasik P., Witczak M., Water of increased content of molecular oxygen, *Water*, 2020, 12, 02488.
- [9] Wolski K., Talar-Krasa M., Leshschenko A., Dradrach A., Adamczewska-Sowińska K., Oszczęda Z., Application of nanowater and biopreparations in agriculture (in Polish), *Studia i Monografie Politechniki Opolskiej*, 2014, 404, s. 265–372.
- [10] Pisulewska E., Ciesielski W., Jackowska M., Gąstoł M., Oszczęda Z., Tomasik P., Effect of water treated with low-pressure, low-temperature glow plasma of low frequency on planted peppermint (*Mentha piperita*), *EJPAU, Seria Biotechnologia*, 2018, 21(3), #01.
- [11] Ciesielska K., Ciesielski W., Kulawik D., Oszczęda Z., Tomasik P., Cultivation of cress involving water treated under different atmospheres with low temperature, low-pressure glow plasma of low frequency, *Water*, 2020, 12, 2152.
- [12] Ciesielska K., Ciesielski W., Girek T., Kołoczek H., Oszczęda Z., Tomasik P., Reaction of *Lavandula angustifolia* Mill. to water treated with low-temperature, low- pressure glow plasma of low frequency, *Water*, 2020, 12, 3168.
- [13] Ciesielski W., Gąstoł M., Girek T., Kulawik D., Oszczęda Z., Pisulewska E., Tomasik P., Specific controlling essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L.), *Water*, 2020, 12, 3332.
- [14] Tomasik-Krótki J., Strojny J., Scaling of sensory impressions, *Journal of Sensory Studies*, 2008, 23, s. 251–266.
- [15] Szott K., Krzywda M., Strojny J., Tomasik P., Sensual taste – cloro associations and their link to temperament, *Study. Social Science (Canada)*, 2014, 5(3), s. 1–8.

- [16] Kew World Checklist of Selected Plant Families, Royal Botanic Gardens, Oregano, *Origanum vulgare* L. Kew, Richmond, Surrey, UK. 2017.
- [17] Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, Guelph, Canada . Oregano and Marjoram (17 October 2012).
- [18] Figiel A., Szumny A., Gutiérrez-Ortíz A., Carbonell-Barrachina A.A., Composition of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as affected by drying method, Journal of Food Engineering, 2010, 98, s. 240–247.
- [19] Dragland S., Senoo H., Wake K., Holte K., Blomhoff R., Several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants, Journal of Nutrition, 2003, 133, s. 1286–1290.
- [20] Mockute D., Bernotiene G., Judzentiene A., The essential oil of *Origanum vulgare* L. Spp. Vulgare growing wild in Vilnius district (Lithuania), Phytochemistry, 2001, 57, s. 65–69.
- [21] Tair A., Weiss E-K., Palade L.M., Loupassaki S., Makris D.P., Ioannou E., Roussis V., Kefalas P., Origanum species native to the island of Crete: *in vitro* antioxidant characteristics and liquid chromatography–mass spectrometry identification of major polyphenolic components, Natural Products Research, 2014, 28, s. 1284–1287.
- [22] Teixeira B., Marques A., Ramos C., Serrano C., Matos O., Neng N.R., Nogueira J.M.F., Saraiva J.A., Nunes M.L., Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil, Journal of the Science of Food and Agriculture, 2013, 93, s. 2707–2714.
- [23] Cheikhoussef A., Cheikhoussef N., Ramadan M.F., Cold pressed oregano (*Origanum vulgare*) oil, [in:] Cold Pressed Oils, Ramadan, M.F. (ed.), Academic Press, Ch. 25, s. 289–293, 2020.
- [24] Issaoui M., Delgado A.M. Grading, labelling and standardization of edible oils, [in:] Ramadan M. (ed.), Fruit Oils: Chemistry and Functionality. Springer, Cham 2019.
- [25] Oregano, MedlinePlus, US National Library of Medicine, 2016 (Retrieved Nov. 8th 2020).
- [26] LaTonya M.M., Warning Letter: Young Living. Inspections, compliance, enforcement, and criminal investigations, US Food and Drug Administration (22 September, 2014). (Retrieved 7 Nov. 8th 2020).
- [27] McMillan, K.L., Warning Letter: Long Life Unlimited. Inspections, compliance, enforcement, and criminal investigations, US Food and Drug Administration (31 January 2018), (Retrieved Oct. 22nd 2020).
- [28] Zambrana, I.A., Warning Letter: Absonutrix. Inspections, Compliance, Enforcement, and Criminal Investigations. US Food and Drug Administration (25 July, 2017). (Retrieved Oct. 22nd 2020).
- [29] NIST 11 Library, 2021. <https://chemdata.nist.gov/dokuwiki/doku.php?id=chemdata:start>
- [30] Duncan D.B., Multiple range and multiple F tests, Biometrics, 1955, 11, s. 1–42.
- [31] Andersen A., Final report on the safety assessment of sodium p-chloro-m-cresol, p-chloro-m-cresol, chlorothymol, mixed cresols, m-cresol, o-cresol, p-cresol, isopropyl cresols, thymol, o-cymen-5-ol, and carvacrol, International Journal of Toxicology, 2006, 25, s. 29–127.
- [32] Fidyk K., Fiedorowicz A., Strzdała L., Szumny A., β -caryophyllene and β -caryophyllene oxide-natural compounds of anticancer and analgesic properties, Cancer Medicine, 2016, 5, s. 3007–3017.
- [33] Yang J., Li Z., Guo L., Du J., Bae H.-J., Biosynthesis of β -caryophyllene, a novel terpene-based high-density biofuel precursor, using engineered *Escherichia coli*, Renewable Energy, 2016, 99, s. 216–223.

- [34] Tabasum F., Beenish B.N., Gousia G., Tahiya Q.T.A.B., Antioxidant potential and health benefits of cumin Antioxidant potential and health benefits of cumin, *Journal of Medicinal Plants Studies*, 2018, 6, s. 232–236.
- [35] Hu D., Coats J., Evaluation of the environmental fate of thymol and phenethyl propionate in the laboratory, *Pest Management Science*, 2008, 64, s. 775–779.
- [36] Nieto G., Biological activities of three essential oils of the Lamiaceae family, *Medicines* 2017, 4(3), 63.
- [37] Stelmakh V.A., Toxicological properties and the nature of the combined effect of aorthomenthane hydrocarbon mixtures, *Gigiena truda i professionalnye zabolevaniya* 1988, 9, s. 34–37.
- [38] Stelmakh, V.A., Talapin, V.I. & Pertsovskii, A.L. Experimental data to establish MPEL of 1-methyl-2-isopropyl-benzene in the air of work area, *Gigiena truda i professionalnye zabolevaniya* 1985, 3, s. 49–50.
- [39] TGSC Information System, 2020, <http://www.thegoodscentcompany.com/data/rw1027901.html> (Retrieved Nov. 8th 2021).
- [40] Barbieri G., Vallone S., Orsini F., Paradiso R., DePascale S., Negre-Zakharov F., Maggio A., Stomatal density and metabolic determinants mediate salt stress adaptation and water use efficiency in basil (*Ocimum basilicum* L.), *Journal of Plant Physiology*, 2012, 169, s. 1737–1746.
- [41] Shulgin A.T., Sargent T., Naranjo C., The chemistry and psychopharmacology of nutmeg and of several phenylisopropylamines, *Psychopharmacological Bulletin*, 1967, 4(3), s. 13.
- [42] trans-Dihydrocarvone, <http://www.perflavory.com/docs/doc1511171.html#tosafiu> (Retrieved, Nov. 8th, 2021).
- [43] PubChem 2020, 2-isopropyl-5-methylanisole (Compound) <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Thymol-methyl-ether#section=Related-Substances> (Retrieved on Nov. 8th 2021).
- [44] Abu Khader M.M., Thymoquinone in the clinical treatment of cancer: Fact or fiction? *Pharmacognosy Review*, 2013, 7(14), s. 117–120.
- [45] Woo C.C., Kumar P., Seth G., Tan K.H.B., Thymoquinone: Potential cure for inflammatory disorders and cancer, *Biochemistry and Pharmacology*, 2012, 83, s. 443– 451.
- [46] Jeong J-G., Kim Y.S., Min Y.K., Kim S.H., Low concentration of 3-carene stimulates the differentiation of mouse osteoblastic MCC3T3E1 subclone 4 cells, *Phytotherapy Research*, 2008, 22, s. 18–22.
- [47] Lodi M., Terpenes 411:Delta 3-carene, *EMBER Journal of Cannabis Culture*, 2019, 3.
- [48] Krause S.T., Liao P., Crocoll C., Boachon B., Foerster C., Leidecker F., The biosynthesis of thymol, carvacrol, and thymohydroquinone in Lamiaceae proceeds via cytochrome P450s and a short-chain dehydrogenase, *PNAS*, 2021, 118(52), e2110092118.

Do cytowania:

Ciesielski W., Gąstoł M., Girek T., Kulawik D., Oszczyda Z., Pisulewska E., Tomasik P., Specific modulation of flavor and aroma of Greek oregano (*Origanum vulgare* var. *hirtum*) and its essential oil, *Herbalism*, 2023, 1(9), s. 36–49.

Wpływ hesperydyny na rozwój stresu oksydacyjnego w sercu szczurów z cukrzycą typu 1

Effect of hesperidin on the development of oxidative stress in the heart of type 1 diabetic rats

Piotr Bramora, Maria Zych, Weronika Borymska,
Ilona Kaczmarczyk-Żebrowska

Katedra i Zakład Farmakognozji i Fitochemii, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec, e-mail: d200746@365.sum.edu.pl

Słowa kluczowe: cukrzyca typu 1, hesperydyna, stres oksydacyjny, serce

Keywords: type 1 diabetes, hesperidin, oxidative stress, heart

Streszczenie

W przebiegu cukrzycy obserwuje się hiperglikemię, która jest jedną z przyczyn rozwoju stresu oksydacyjnego uszkadzającego różne tkanki i narządy organizmu, w tym serce. Suplementacja związków pochodzenia roślinnego o właściwościach antyoksydacyjnych może być skuteczną metodą zapobiegania powstawaniu stresu oksydacyjnego. W niniejszym badaniu określono rolę flawonoidu hesperydyny na parametry stresu oksydacyjnego w tkance serca w przebiegu cukrzycy typu 1. W tym celu hesperydynę w dawkach 50 i 100 mg/kg podawano *per os* przez 28 dni samcom szczurów szczepu Wistar, u których wywołano cukrzycę poprzez wstrzyknięcie dootrzewnowe streptozotocyny. U gryzoni z cukrzycą wykazano wzrost aktywności katalazy, peroksydazy glutationowej oraz zawartości aldehydu dimalonowego w sercu. Zastosowanie hesperydyny w obu dawkach spowodowało spadek aktywności dysmutazy ponadtlenkowej, zmniejszenie zawartości aldehydu dimalonowego, natomiast efektem wyższej dawki flawonoidu było także obniżenie całkowitego statusu oksydacyjnego połączone ze wzrostem całkowitej odpowiedzi antyoksydacyjnej. Można stwierdzić, że hesperydyna łagodzi zaburzenia równowagi oksydoredukcyjnej w tkance serca w przebiegu cukrzycy typu 1.

Summary

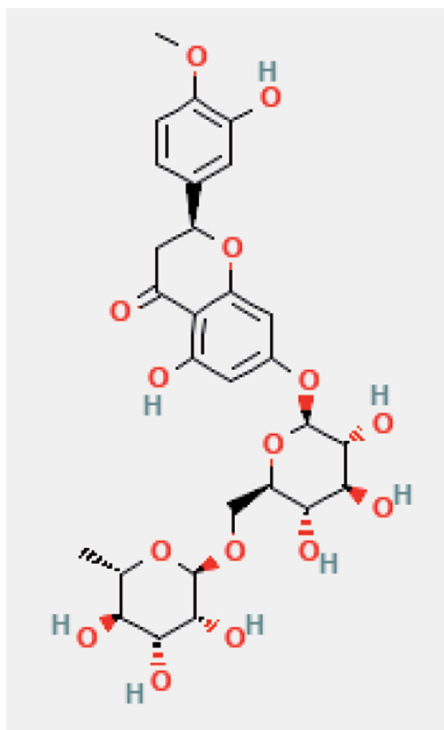
In the course of diabetes, hyperglycemia is observed, which is one of the reasons for the development of oxidative stress that damages various tissues and organs of the body, including the heart. Supplementation of plant-derived compounds with

antioxidant properties can be an effective method of preventing oxidative stress. In this study, the effect of the flavonoid hesperidin on the oxidative stress parameters in the heart tissue in the course of type 1 diabetes was determined. For this purpose, hesperidin at the doses of 50 and 100 mg/kg was administered *per os* for 28 days to male Wistar rats, in which diabetes was induced by an intraperitoneal injection streptozotocin. Diabetic rodents showed an increase in the catalase, glutathione peroxidase activities and dimalonialdehyde content in the hearts. The use of hesperidin at both doses resulted in a decrease in the activity of superoxide dismutase, a decrease in the content of dimalonialdehyde, while the higher dose of this flavonoid also resulted in a decrease in the total oxidative status combined with an increase in the total antioxidant response. It can be concluded that hesperidin alleviates redox imbalances in heart tissue in the course of type 1 diabetes.

Wstęp

Według danych udostępnionych przez International Diabetes Federation (pol. Międzynarodowa Federacja Diabetologiczna) na cukrzycę (łac. *diabetes mellitus*) zachoruje 67 mln Europejczyków w 2030 r., zaś w ciągu kolejnych 15 lat prognozowane jest 69 mln nowych przypadków zachorowań. W tym czasie prawdopodobnie około 36% diabetyków nie będzie świadomych, że cierpi na cukrzycę. Na podstawie dostępnych danych epidemiologicznych można stwierdzić, że cukrzyca staje się coraz bardziej powszechną chorobą metaboliczną o ogromnych konsekwencjach społecznych, zdrowotnych oraz ekonomicznych [1]. Warto zauważyć, że cukrzyca nie jest schorzeniem jednorodnym. Pod tym terminem kryje się wiele wariantów tej choroby, w których dominuje typ 1 i 2. Cukrzyca charakteryzuje się przewlekłą hiperglikemią, która wynika z deficytu insuliny, insulinooporności tkanek bądź insulinooporności połączonej z obniżoną wrażliwością tkanek organizmu na insulinę [2]. Powoduje u pacjentów liczne powikłania sercowo-naczyniowe, w tym niewydolność serca, niezależnie od makronaczyniowych powikłań, takich jak nadciśnienie tętnicze, choroba wieńcowa oraz miażdżyca [3]. Coraz większa liczba przeprowadzanych eksperymentów sugeruje, że w przebiegu cukrzycy dochodzi do nadprodukcji wolnych rodników w sercu, przy jednoczesnym upośledzeniu endogennych mechanizmów obronnych [4–6]. Obecnie brakuje skutecznych terapii, które można wdrożyć w początkowej fazie cukrzycy, aby zmniejszyć ryzyko wystąpienia powikłań narządowych [7, 8].

Z tego powodu przeprowadza się wiele badań eksperymentalnych dotyczących nowych metod zapobiegania i leczenia komplikacji cukrzycowych, w których także bada się niektóre związki pochodzenia roślinnego posiadające właściwości antyoksydacyjne [9].



Rysunek 1. Wzór strukturalny hesperydyny.

Figure 1. Structural formula of hesperidin.

Źródło: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10621>.

Hesperydyna jest związkiem chemicznym zaliczanym do flawonoidów. Znajduje się przede wszystkim w skórce owoców cytrusowych, a zwłaszcza pomarańczy gorzkiej (*Citrus aurantium*), pomarańczy Hassaku (*Citrus hassaku*) i mandarynki Satsuma (*Citrus unshiu*) [10]. Obecne wyniki badań wskazują, że hesperydyna może mieć korzystny wpływ na układ sercowo-naczyniowy [11–15]. W modelu niedokrwienego uszkodzenia reperfuzyjnego hesperydyna hamowała generowanie wolnych rodników, wzmacniała endogenne mechanizmy obrony antyoksydacyjnej oraz zapobiegała zmianom patologicznym w cytoarchitektonice tkanki serca [11]. Zaś u szczurów z kardiotoxycnością wywołaną jednocześnie przez streptozotocynę i izoproterenol zaobserwowano wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych oraz zwiększone stężenia białek PPAR i Bcl-2 połączone ze spadkiem stężenia Bax po podaniu niniejszego związku [12]. Udokumentowano, że wysokie dawki hesperydyny (200 mg/kg, *per os*) mają działanie hipotensyjne u szczurów z samoistnym nadciśnieniem tętniczym [13–15]. Doniesiono także, że hesperetyna (aglikon hesperydyny) pozytywnie wpływa na układ naczyniowy [16], hamuje agregację płytek krwi indukowaną kwasem arachidonowym [17] oraz działa kardioprotekcyjnie [18, 19].

Hesperydyna chroni przed stresem oksydacyjnym, hamuje proces apoptozy poprzez ochronę mitochondriów, a także działa hipoglikemizująco oraz hipolipemizująco w cukrzycy typu 1 [10, 15, 20]. Na podstawie dostępnej literatury można stwierdzić również, że powyższy związek wykazuje działanie przeciwdepresyjne, przeciwzapalne oraz mukoprotekcyjne [10, 15]. Ma szeroko pojęte właściwości przeciwtoksyczne, włączając w to działanie hepatoprotekcyjne i nefroprotekcjne [15].

W niniejszym eksperymencie określono rolę hesperydyny w rozwoju stresu oksydacyjnego w sercu szczurów szczepu Wistar z wywołaną cukrzycą typu 1. W tym celu oznaczono poziom markerów stresu oksydacyjnego oraz określono wydolność systemu antyoksydacyjnego. Ponadto oszacowano stres oksydacyjny w sercu poprzez zbadanie całkowitego stanu oksydacyjnego wraz z całkowitą odpowiedzią antyoksydacyjną.

Materiał i metody

Zwierzęta laboratoryjne

Dokonano tygodniowej aklimatyzacji 3-miesięcznych samców szczurów szczepu Wistar w docelowym pomieszczeniu, gdzie panowała stała temperatura otoczenia, wynosząca $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ oraz 12-godzinny cykl światło/ciemność. Zwierzęta otrzymywały standardową karmę hodowlaną (Labofeed B, Wytwórnia Pasz „Morawski”, Kcynia) i wodę *ad libitum*. Projekt eksperymentu został zatwierdzony przez Lokalną Komisję Etyczną działającą przy Śląskim Uniwersytecie Medycznym w Katowicach (zgoda nr 36/2015). Szczury zostały kupione w Centrum Medycyny Doświadczalnej SUM w Katowicach.

Wywołanie cukrzycy typu 1

W niniejszym badaniu wykorzystano model cukrzycy typu 1, który jest dobrze scharakteryzowany w dostępnej literaturze [21–23]. W tym celu podano jednorazowy, dootrzewnowy zastrzyk zawierający streptozotocynę (STZ) rozpuszczoną w buforze cytrynianowym (0,1 M, pH 4,5) w dawce 60 mg/kg. Stężenie glukozy we krwi oznaczono za pomocą glukometru (MicroDot, Glukopharma) po upływie 2 tygodni po iniekcji STZ. Gryzonię umieszczano w przygotowanym poskromie. Następnie pobierano krew z końcówki ogona. Jeżeli wartości pomiarów stężenia glukozy przekraczały 200 mg/dl, to uznawano, że u szczurów wystąpiła cukrzyca i kwalifikowano je do dalszej części doświadczenia [21, 22].

Projekt eksperymentu

Zwierzęta laboratoryjne były podzielone na 4 grupy:

- grupa I (K): zdrowe szczury otrzymujące wodę,

- grupa II (DM): szczury z cukrzycą typu 1 otrzymujące wodę,
- grupa III (DM+Hes50): szczury z cukrzycą typu 1 otrzymujące hesperydynę w dawce 50 mg/kg *per os*,
- grupa IV (DM+Hes100): szczury z cukrzycą typu 1 otrzymujące hesperydynę w dawce 100 mg/kg *per os*.

Na koniec eksperymentu liczba szczurów wynosiła odpowiednio: n + 9 dla grupy C, n + 8 dla grupy DM, n + 9 dla grupy DM+Hes50, n + 8 dla grupy DM+Hes100. Woda oraz hesperydyna w obydwu dawkach były podawane przy użyciu zgłębnika żołądkowego codziennie przez okres 4 tygodni. Po upływie 28 dni dokonano eutanazji szczurów w znieczuleniu ogólnym.

Do tego celu zastosowano mieszaninę 2 związków wykorzystywanych w anestezji: ketaminę (Ketamina 10%, Biowet Puławy, Puławy) oraz ksylazyne (Xylapan, Vetoquinol Biowet, Gorzów Wlkp.) w dawkach 87,5 i 12,5 mg/kg. Gdy zwierzęta zostały uśpione, pobrano krew przez nakłucie serca, a następnie przystąpiono do pobrania serc oraz określenia ich wagi.

Uzyskiwanie homogenatów serca do analizy biochemicznej

Pobierano fragmenty serca, które homogenizowano w 10 mM buforze PBS w celu uzyskania 10% (obj./wag.) homogenatów. Uzyskane homogenaty wirowano w wirówce MPW-352R (10 000 × g, 4°C, 15 min). Supernatanty zabezpieczono do oznaczeń biochemicznych poprzez natychmiastowe zamrożenie.

Analiza biochemiczna

Do pomiarów wykorzystano czytnik mikroplamki Tecan Infinite M200 PRO (Tecan Group Ltd., Männedorf, Szwajcaria) z oprogramowaniem Magellan 7.2.

Pomiar stężenia białka w homogenatach serca

Stężenie białka oznaczono metodą opisaną przez O.H. Lowry'ego i wsp. [24]. Pomiar został wykonany w celu standaryzacji otrzymanych wartości aktywności enzymów antyoksydacyjnych i zawartości zaawansowanych produktów utleniania białek (AOPP).

Pomiar aktywności enzymów antyoksydacyjnych

Do oceny aktywności enzymatycznej dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT) oraz peroksydazy glutationowej (GPx) zastosowano komercyjne zestawy odczynnikowe produkowane przez firmę Cayman (Cayman Chemicals, AnnArbor, MI, USA).

Oznaczenie markerów uszkodzeń oksydacyjnych: dialdehydu malonowego (MDA), AOPP oraz stężenia witaminy C

MDA, AOPP określono zgodnie z metodami opracowanymi przez J.A. Buege i wsp. [25], V. Witko-Sarsat i wsp. [26], zaś witaminę C oznaczono, wykorzystując do tego protokół przedstawiony przez S.K. Jagotę i wsp. [27].

Ocena zawartości glutationu

Zawartość glutationu całkowitego (tGSH), utlenionego (GSSG) oraz zredukowanego (GSH) w sercu zbadano za pomocą komercyjnego zestawu odczynnikowego Cayman (Cayman Chemicals, AnnArbor, MI, USA).

Oszacowanie stresu oksydacyjnego poprzez zbadanie całkowitego statusu oksydacyjnego (TOS) wraz z całkowitą odpowiedzią antyoksydacyjną (TAR)

Wartości TAR i TOS w tkance serca zostały określone zgodnie z metodami przedstawionymi przez O. Erelą [28, 29].

Analiza statystyczna

Uzyskane wartości parametrów przedstawiono jako średnią \pm błąd standardowy średniej (SEM). W analizie statystycznej wykorzystano jednoczynnikową analizę wariancji (test one-way ANOVA), a następnie test post-hoc NIR. Wyniki uznawano za istotne, w przypadku gdy wartość $p < 0,05$. Do obliczeń wykorzystano program komputerowy Statistica 13.3 software (TIBCO Software Inc.). Przedstawione wyniki są częścią dużego projektu badawczego, dlatego uzyskane wartości dla grupy C i DM są takie same jak w opublikowanym wcześniej artykule [30].

Wyniki

Wpływ hesperydyny na aktywność enzymów antyoksydacyjnych

Aktywność SOD w sercu szczurów kontrolnych (grupa K) wynosiła $3,99 \pm 0,49$ U/mg białka. U szczurów z cukrzycą (grupa DM) aktywność SOD w badanym narządzie nie była istotnie różna w porównaniu do wartości zaobserwowanej w grupie K. Aktywność SOD w sercu szczurów otrzymujących hesperydynę w dawce 50 mg/kg (DM+Hes50) i w dawce 100 mg/kg (DM+Hes100) była istotnie mniejsza ($p < 0,05$) w odniesieniu do aktywności tego enzymu zaobserwowanej w grupie DM. W sercu szczurów z grupy K aktywność CAT wynosiła $8,71 \pm 1,20$ nmol/min/mg białka. Aktywność CAT odnotowana w sercu szczurów z grupy DM w porównaniu do grupy K była istotnie większa ($p < 0,01$). U szczurów z grup DM+Hes50 i DM+Hes100 aktywność CAT w badanym narządzie nie uległa zmianie w porównaniu

do aktywności katalazy obserwowanej w sercu szczurów z grupy DM. U szczurów z grupy K aktywność GPx w sercu wynosiła $127,55 \pm 6,44$ nmol/min/mg białka. Aktywność GPx zmierzona w sercu szczurów w grupie DM w porównaniu do grupy K była istotnie większa ($p < 0,01$). Aktywność GPx w sercu u szczurów z grup DM+Hes50 i DM+Hes100 nie uległa zmianie w porównaniu do aktywności GPx w sercu szczurów z grupy DM.

Tabela 1. Wpływ hesperydyny na aktywność enzymów antyoksydacyjnych SOD, CAT i GPx w sercu szczurów z cukrzycą typu 1.

Table 1. Effect of hesperidin on the activity of antioxidant enzymes SOD, CAT and GPx in the heart of rats with type 1 diabetes.

Rodzaj parametru	K	DM	DM+Hes50	DM+Hes100
SOD (U/mg białka)	$3,99 \pm 0,49$	$4,90 \pm 0,36$	$3,49 \pm 0,36\#$	$3,37 \pm 0,39\#$
CAT (nmol/min/mg białka)	$8,71 \pm 1,20$	$25,75 \pm 5,71^{**}$	$24,55 \pm 3,07^{**}$	$20,90 \pm 3,40^*$
GPx (nmol/min/mg białka)	$127,55 \pm 6,44$	$161,25 \pm 9,13^{**}$	$149,98 \pm 9,42$	$159,79 \pm 9,53^*$

Wyniki przedstawiono w postaci średniej arytmetycznej \pm SEM.

* $p < 0,05$

** $p < 0,01$ – statystycznie istotne różnice w odniesieniu do wyników uzyskanych u szczurów kontrolnych (grupa K)

$p < 0,05$ – statystycznie istotne różnice w odniesieniu do wyników uzyskanych u szczurów z cukrzycą (grupa DM)

Źródło: badanie własne.

Wpływ hesperydyny na zawartość tGSH, GSH i GSSG i współczynnik GSH/GSSG

Zawartość tGSH w sercu szczurów z grupy K wynosiła $223,10 \pm 6,77$ μ M/g tkanki. Zawartość tGSH w grupie DM w porównaniu do grupy K nie uległa zmianie w badanym narządzie. U szczurów z grup DM+Hes50 i DM+Hes100 zawartość tGSH nie różniła się istotnie od wyniku uzyskanego u szczurów z grupy DM.

W grupie K zawartość GSH w sercu wynosiła $112,32 \pm 4,56$ μ M/g tkanki. U szczurów z grupy DM zawartość GSH w sercu nie różniła się w stosunku do grupy K. Zawartość GSH w sercu szczurów z grup DM+Hes50 i DM+Hes100 nie uległa zmianie w porównaniu do wartości uzyskanych dla szczurów z grupy DM.

W sercu szczurów z grupy K zawartość GSSG wynosiła $110,78 \pm 2,79$ μ M/g tkanki. U szczurów z grupy DM zawartość GSSG w analizowanym narządzie nie różniła się istotnie statystycznie od wyniku uzyskanego w grupie K. U szczurów z grup DM+Hes50 i DM+Hes100 zawartość GSSG w sercu nie uległa zmianie w porównaniu do szczurów z grupy DM.

W sercu szczurów z grupy K współczynnik GSH/GSSG wynosił $1,014 \pm 0,029$. Współczynnik GSH/GSSG wyliczony dla serc szczurów z grupy DM był podobny do wyniku otrzymanego dla grupy K. U szczurów z grup DM+Hes50 i DM+Hes100 współczynnik GSH/GSSG w sercu nie uległ zmianie w porównaniu do wartości otrzymanej u szczurów z grupy DM.

Tabela 2. Wpływ hesperydyny na stężenie tGSH, GSH i GSSG oraz na współczynnik GSH/GSSG w sercu szczurów z cukrzycą typu 1.

Table 2. Effect of hesperidin on the concentration of tGSH, GSH and GSSG and on the GSH/GSSG ratio in the heart of rats with type 1 diabetes.

Rodzaj parametru	K	DM	DM+Hes50	DM+Hes100
tGSH ($\mu\text{M/g}$ tkanki serca)	$223,10 \pm 6,77$	$210,88 \pm 29,01$	$252,45 \pm 4,35$	$237,27 \pm 6,18$
GSH ($\mu\text{M/g}$ tkanki serca)	$112,32 \pm 4,56$	$120,41 \pm 7,87$	$126,21 \pm 3,42$	$125,55 \pm 2,36$
GSSG ($\mu\text{M/g}$ tkanki serca)	$110,78 \pm 2,79$	$116,65 \pm 2,78$	$119,67 \pm 1,66^*$	$117,95 \pm 1,34^*$
GSH/GSSG	$1,014 \pm 0,029$	$1,015 \pm 0,050$	$1,054 \pm 1,66$	$1,071 \pm 0,021$

Wyniki przedstawiono w postaci średniej arytmetycznej \pm SEM.

* $p < 0,05$ – statystycznie istotne różnice w odniesieniu do wyników uzyskanych u szczurów kontrolnych (grupa K)

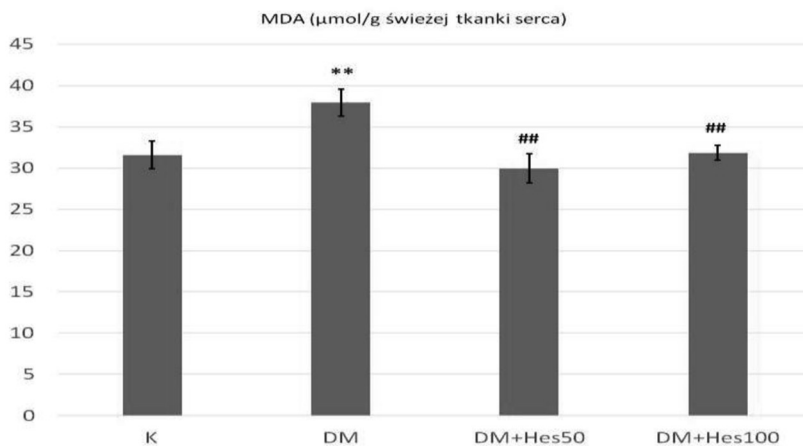
Źródło: badanie własne.

Wpływ hesperydyny na zawartość MDA, AOPP i witaminy C

Zawartość MDA w sercu szczurów z grupy K wynosiła $31,60 \pm 1,67 \mu\text{mol/g}$ tkanki. Zawartość MDA w sercu w grupie DM w porównaniu do grupy K była istotnie większa ($p < 0,01$). Zawartość MDA w sercu szczurów z grup DM+Hes50 oraz DM+Hes100 była istotnie mniejsza ($p < 0,01$) w odniesieniu do grupy DM.

U szczurów z grupy K zawartość AOPP w sercu wynosiła $1,80 \pm 0,08 \text{ nmol/mg}$ białka. W sercu szczurów z grupy DM zawartość AOPP nie różniła się w porównaniu do wartości odnotowanej w grupie K. Zawartość AOPP w sercu szczurów z grup DM+Hes50 i DM+Hes100 nie była istotnie różna od wyników uzyskanych u szczurów z grupy DM.

W sercu szczurów z grupy K zawartość witaminy C wynosiła $1,998 \pm 0,110 \text{ nmol/mg}$ białka. W grupie DM zawartość witaminy C w badanym narządzie nie różniła się istotnie w porównaniu do grupy K. Zawartość witaminy C w sercu szczurów z grup DM+Hes50 i DM+Hes100 nie uległa zmianie w odniesieniu do wartości odnotowanej dla tego parametru w grupie szczurów DM.



Wykres 1. Wpływ hesperydyny na stężenie MDA w sercu szczurów z cukrzycą typu 1.
Figure 1. Effect of hesperidin on MDA concentration in the heart of rats with type 1 diabetes.

Wyniki przedstawiono w postaci średniej arytmetycznej \pm SEM.

** $p < 0,01$ – statystycznie istotne różnice w odniesieniu do wyników uzyskanych u szczurów kontrolnych (grupa K)

$p < 0,01$ – statystycznie istotne różnice w odniesieniu do wyników uzyskanych u szczurów z cukrzycą (grupa DM)

Źródło: badanie własne.

Tabela 3. Wpływ hesperydyny na stężenie AOPP i witaminy C w sercu szczurów z cukrzycą typu 1.
Table 3. Effect of hesperidin on the concentration of AOPP and vitamin C in the heart of rats with type 1 diabetes.

Rodzaj parametru	K	DM	DM+Hes50	DM+Hes100
AOPP (nmol/mg białka)	1,80 \pm 0,08	2,30 \pm 0,10	1,99 \pm 0,19	1,83 \pm 0,17
Witamina C (μ g/g tkanki serca)	1,998 \pm 0,110	1,867 \pm 0,125	2,000 \pm 0,120	2,050 \pm 0,130

Wyniki przedstawiono w postaci średniej arytmetycznej \pm SEM.

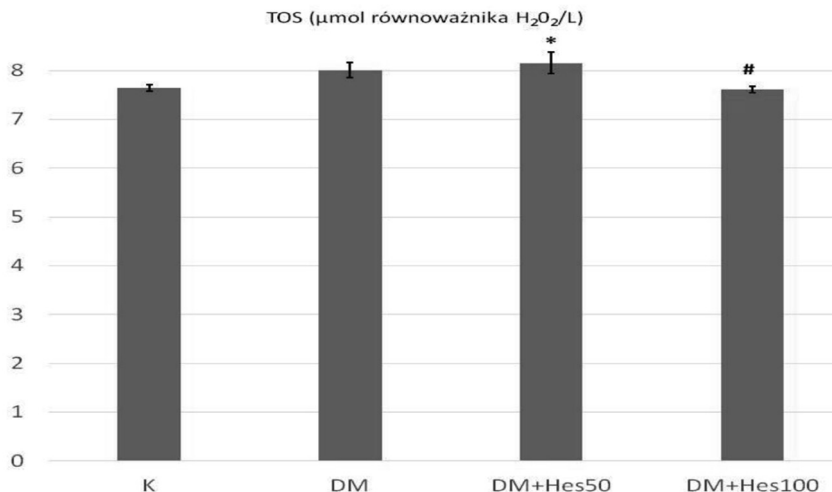
Źródło: badanie własne.

Wpływ hesperydyny na wartość TOS i TAR

Dla serca szczurów z grupy K wartość TOS wynosiła $7,64 \pm 0,07$ μ mol równoważnika H_2O_2/L . U szczurów z grupy DM wartość TOS w sercu była podobna do wartości zmierzonej w sercu szczurów z grupy K. Wartość TOS wyznaczona dla serca szczurów z grupy DM+Hes100 była istotnie mniejsza ($p < 0,05$) w odniesieniu do grupy DM. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian w wartościach TOS pomiędzy grupami szczurów DM+Hes50 i DM.

Wartość TAR oznaczona dla serca szczurów z grupy K wynosiła $79,80 \pm 3,53$ μ mol równoważnika troloksu/L. U szczurów z grupy DM wartość TAR w sercu nie uległa zmianie w porównaniu do grupy K. Wartość TAR zmierzona w sercu szczurów z grupy

DM+Hes100 była istotnie większa ($p < 0,01$) w odniesieniu do grupy DM. Nie stwierdzono istotnych statystycznie zmian w wartości TAR w porównaniu do grupy DM w sercu szczurów, u których stosowano hesperydynę w dawce 50 mg/kg.



Wykres 2. Wpływ hesperydyny na wartość TOS w sercu szczurów z cukrzycą typu 1.

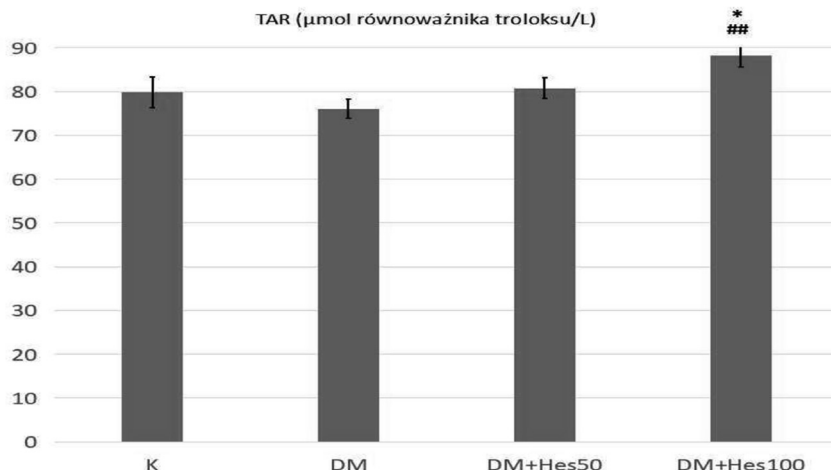
Figure 2. Effect of hesperidin on the TOS value in the heart of rats with type 1 diabetes.

Wyniki przedstawiono w postaci średniej arytmetycznej \pm SEM.

* $p < 0,05$ – statystycznie istotne różnice w odniesieniu do wyników uzyskanych u szczurów kontrolnych (grupa K)

* $p < 0,05$ – statystycznie istotne różnice w odniesieniu do wyników uzyskanych u szczurów z cukrzycą (grupa DM)

Źródło: badanie własne.



Wykres 3. Wpływ hesperydyny na wartość TAR w sercu szczurów z cukrzycą typu 1.

Figure 3. Effect of hesperidin on the TAR value in the heart of rats with type 1 diabetes.

Wyniki przedstawiono w postaci średniej arytmetycznej \pm SEM.

* $p < 0,05$ – statystycznie istotne różnice w odniesieniu do wyników uzyskanych u szczurów kontrolnych (grupa K)

** $p < 0,01$ – statystycznie istotne różnice w odniesieniu do wyników uzyskanych u szczurów z cukrzycą (grupa DM)

Źródło: badanie własne.

Dyskusja

Na przestrzeni ostatnich lat wzrasta odsetek eksperymentów dotyczących związków pochodzenia roślinnego, które zapobiegają zmianom patologicznym (mikro- i makroangiopatiom) w przebiegu cukrzycy typu 1 i 2 u zwierząt laboratoryjnych. Wyniki większości doświadczeń wskazują na obiecującą rolę powyższych związków chemicznych w prewencji przytoczonych powikłań cukrzycowych [30–35].

Do tej pory nie udało się opracować skutecznej terapii zapobiegającej rozwojowi uszkodzenia serca u pacjentów z cukrzycą [36, 37]. W niniejszej pracy próbowano ocenić wpływ hesperydyny na parametry związane ze stresem oksydacyjnym w sercu szczurów w przebiegu cukrzycy typu 1. W tym celu wykorzystano dobrze poznany model cukrzycy streptozotocynowej, który jest powszechnie stosowany w tego typu badaniach [21, 22].

U szczurów jednorazowe podanie streptozotocyny spowodowało zwiększenie aktywności enzymatycznej CAT i GPx w sercu względem grupy K. Podobny trend zaobserwowano również w przypadku SOD, jednak zmiana ta nie była istotna statystycznie. Na podstawie dostępnej literatury można stwierdzić, że aktywność omawianych enzymów antyoksydacyjnych może zwiększać się [30, 38, 39] lub zmniejszać [11, 40–42] w homogenatach tkanek pozyskanych od szczurów z cukrzycą. U zwierząt otrzymujących badany związek odnotowano zmniejszenie aktywności SOD w sercu w porównaniu do gryzoni stanowiących grupę DM, co może wskazywać na korzystne działanie hesperydyny względem analizowanego enzymu. W innym doświadczeniu dotyczącym wpływu hesperydyny na stres oksydacyjny w tkance serca Rezaeyan i wsp. [43] poddali zwierzęta promieniowaniu rentgenowskiemu w dawce 18 Gy. Zwierzęta otrzymywały 100 mg/kg mc. badanego związku roślinnego przez okres jednego tygodnia przed napromieniowaniem. Badacze zauważyli, że zastosowanie hesperydyny spowodowało odwrócenie niekorzystnych zmian związanych z aktywnością SOD w mięśniówce, czego nie odnotowano u gryzoni z grupy, u której związku nie stosowano. W przypadku aktywności CAT i GPx u zwierząt z grup DM+Hes50 oraz DM+Hes100 nie zaobserwowano zmian w stosunku do szczurów z grupy DM. Na podstawie dotychczasowych prac dotyczących wpływu flawonoidów cytrusowych, w tym hesperydyny, stwierdza się na ogół, że pod ich wpływem zwiększa się aktywność CAT oraz GPx w mięśniu sercowym szczurów z cukrzycą streptozotocynową, jeśli wcześniej aktywność tych enzymów w wyniku cukrzycy została patologicznie obniżona [11, 38, 44, 45]. Jak wspomniano powyżej, w niniejszym doświadczeniu zaobserwowano wzrost aktywności tych enzymów w badanym narządzie u szczurów z cukrzycą typu 1, co może wynikać z występujących u zwierząt mechanizmów kompensacyjnych (obronnych) [46], jednak w zastosowanym układzie doświadczalnym użyte dawki flawonoidu nie wpłynęły na ich aktywność.

GSH jest istotnym przeciwutleniaczem endogennym, który wspiera utrzymanie prawidłowej struktury i funkcji komórek. Najczęściej poziom stresu oksydacyjnego w danej tkance jest odzwierciedlany poprzez stosunek GSH do GSSG [47]. W przedstawionym doświadczeniu nie zaobserwowano istotnych zmian w zawartości tGSH, GSH, GSSG oraz wartości współczynnika GSH/GSSG w sercu szczurów z grupy DM w porównaniu do szczurów K, a także po zastosowaniu hesperydyny w grupach DM+Hes50 i DM+Hes100 w odniesieniu do grupy DM. Można przypuszczać, że brak zmian w zawartości wszystkich form glutationu w sercu badanych zwierząt może być związany z mechanizmami kompensacyjnymi w obrębie tego narządu [46], jednak udowodnienie tego wymaga dodatkowych badań.

Udokumentowano wzrost stężenia MDA w sercu szczurów z cukrzycą typu 1 w porównaniu do szczurów z grupy K. Wyniki są zgodne z danymi dostępnymi w literaturze, które dotyczyły badań nad cukrzycą [45, 48, 49]. Po podaniu hesperydyny zwierzętom z cukrzycą typu 1 wykazano niższą zawartość MDA w sercu w odniesieniu do szczurów z grupy DM. Otrzymane rezultaty są w pełni spójne z wynikami przedstawionymi w poprzednim badaniu dotyczącym innego flawonoidu obecnego w cytrusach – naryngeniny [30]. Podobne obserwacje poczyniono w badaniu dotyczącym neuroprotektoryjnego działania hesperydyny u szczurów z cukrzycą typu 1. Zwierzętom podawano przytoczony flawonoid w dawce 200 mg/kg mc. przez 35 dni, czego efektem było obniżenie MDA w tkance mózgowia [50]. Stężenie AOPP w homogenatach serc było podobne we wszystkich badanych grupach szczurów. Brak zmian w tym parametrze po wywołaniu cukrzycy, jak również po zastosowaniu związków może być, podobnie jak w przypadku GSH, wynikiem mechanizmów naprawczych występujących w badanym narządzie.

Wykazano niewielki wzrost wartości TOS w sercu szczurów z cukrzycą. Sugeruje to zwiększony stres oksydacyjny w tym narządzie u szczurów z grupy DM w porównaniu do zwierząt z grupy K. Podobny kierunek zmian obserwowali inni eksperymentatorzy w różnych modelach i narządach [51, 52], a także w badaniach klinicznych obejmujących pacjentów z nefropatią cukrzycową w przebiegu cukrzycy typu 1 [53]. W niniejszym badaniu u gryzoni otrzymujących hesperydynę w dawce 100 mg/kg zanotowano spadek TOS oraz wzrost TAR w odniesieniu do zwierząt z grupy DM. Potwierdza to korzystne antyoksydacyjne właściwości hesperydyny.

W innych badaniach podjęto wstępne próby określenia mechanizmu działania hesperydyny w przebiegu cukrzycy typu 1. E. Dokumacioglu i wsp. [54] stwierdzili, że powyższy flawonoid prawdopodobnie działa hepato- i nefroprotektoryjnie poprzez zwiększenie poziomu ekspresji czynnika wzrostu fibroblastów-23 oraz obniżenie ekspresji białka alfa-klotho. Podobne badania z użyciem metod molekularnych warto wykonać w stosunku do serca w modelu cukrzycy typu 1.

W niniejszym doświadczeniu oznaczono wybrane parametry biochemiczne w homogenatach tkanki serca szczurów (samce szczepu Wistar), u których wywołało cukrzycę. W przyszłości należałoby wykonać diagnostykę histologiczną, na którą się składa histopatologia i immunohistochemia połączona z komputerową analizą obrazu. Ponadto celowa zdaje się ocena profilu cytokin prozapalnych u zwierząt chorych oraz leczonych badanymi związkami. Dodatkowo można również oznaczyć ścieżki sygnałowe wewnątrzkomórkowe, a także markery apoptozy i autofagii. Dlatego należy kontynuować wielośrodkowe eksperymenty naukowe dotyczące hesperydyny, aby definitywnie wyjaśnić jej rolę w terapii powikłań cukrzycy typu 1.

Wnioski

Niniejszy eksperyment sugeruje, że hesperydyna przeciwdziała wybranym zaburzeniom równowagi oksydacyjno-redukcyjnej w przebiegu cukrzycy typu 1. Prawdopodobnie jest to spowodowane właściwościami antyoksydacyjnymi tego flawonoidu. Uzyskane wyniki wskazują, że warto prowadzić dalsze badania nad tą substancją pochodzenia roślinnego, w celu dowiedzenia, czy może stać się ona w przyszłości środkiem farmakologicznym skutecznym w prewencji oraz wspomaganiu terapii cukrzycy i jej powikłań.

Podziękowanie

Niniejsza praca została sfinansowana przez Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach (PCN-2-021/N/2/F).

Literatura

- [1] Saeedi P., Petersohn I., Salpea P., Malanda B., Karuranga S., Unwin N., Colagiuri S., Guariguata L., Motala A.A., Ogurtsova K., Shaw J.E., Bright D., Williams R., Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9 th edition, Diabetes Research and Clinical Practice, 2019, 157, s. 107843.
- [2] Harreiter J., Roden M., Diabetes Mellitus-Definition, classification, diagnosis, screening and prevention, Wiener Klinische Wochenschrift, 2019, 131(Suppl. 1), s. 6–15.
- [3] Van der Wall E.E., Asymptomatic diabetes: screening by routine imaging beneficial?, Netherlands Heart Journal, 2015, 23(2), s. 79–81.
- [4] Hansen S.S., Aasum E., Hafstad A.D., The role of NADPH oxidases in diabetic cardiomyopathy, Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Basis of Disease, 2017, 1864, s. 1908–1913.
- [5] Huynh K., Bernardo B.C., McMullen J.R., Ritchie R.H., Diabetic cardiomyopathy: Mechanisms and new treatment strategies targeting antioxidant signaling pathways, Pharmacology & Therapeutics, 2014, 142, s. 375–415.

- [6] Kayama Y., Raaz U., Jagger A., Adam M., Schellinger I.N., Sakamoto M., Suzuki H., Toyama K., Spin J.M., Tsao P.S., Diabetic cardiovascular disease induced by oxidative stress, *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16, s. 25234–25263.
- [7] Accord Study Group, Nine-Year Effects of 3.7 Years of Intensive Glycemic Control on Cardiovascular Outcomes, *Diabetes Care*, 2016, 39(5), s. 701–708.
- [8] Gilbert R.E., Krum H., Heart failure in diabetes: effects of anti-hyperglycaemic drug therapy, *Lancet*, 2015, 385(9982), s. 2107–2117.
- [9] Wang H.X., Ng T.B., Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antiatherosclerotic and antithrombotic activities, *Life Science*, 1999, 65, s. 2663–2677.
- [10] Li Ch., Schluesener H., Health-promoting effects of the citrus flavanone hesperidin, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2017, 57(3), s. 613–631.
- [11] Agrawal Y.O., Sharma P.K., Shrivastava B., Ojha S., Upadhyia H.M., Arya D.S., Goyal S.N., Hesperidin produces cardioprotective activity via PPAR- γ pathway in ischemic heart disease model in diabetic rats, *PLOS One*, 2014, 9, s. e111212.
- [12] Agrawal Y.O., Sharma P.K., Shrivastava B., Arya D.S., Goyal S.N., Hesperidin blunts streptozotocin-isoproterenol induced myocardial toxicity in rats by altering of PPAR- γ receptor, *Chemico-Biological Interactions*, 2014, 219, s. 211–220.
- [13] Galati E.M., Trovato A., Kirjavainen S., Forestieri A.M., Rossitto A., Monforte M.T., Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid. (Note III): antihypertensive and diuretic activity in rat, *Farmaco*, 1996, 51, s. 219–221.
- [14] Ikemura M., Sasaki Y., Giddings J.C., Yamamoto J., Preventive effects of hesperidin, glucosyl hesperidin and naringin on hypertension and cerebral thrombosis in stroke-prone spontaneously hypertensive rats, *Phytotherapy Research*, 2012, 26(9), s. 1272–1277.
- [15] Ganeshpurkar A., Saluja A., The pharmacological potential of hesperidin, *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, 2019, 56, s. 287–300.
- [16] Kumar B., Gupta S.K., Srinivasan B.P., Nag T.C., Srivastava S., Saxena R., Hesperetin ameliorates hyperglycemia induced retinal vasculopathy via anti-angiogenic effects in experimental diabetic rats, *Vascular Pharmacology*, 2012, 57, s. 201–207.
- [17] Jin Y.R., Han X.H., Zhang Y.H., Lee J.J., Lim Y., Chung J.H., Yun Y.P., Antiplatelet activity of hesperetin, a bioflavonoid, is mainly mediated by inhibition of PLC-gamma2 phosphorylation and cyclooxygenase-1 activity, *Atherosclerosis*, 2007, 194(1), s. 144–152.
- [18] Yang Z., Liu Y., Deng W., Dai J., Li F., Yuan Y., Wu Q., Zhou H., Bian Z., Tang Q., Hesperetin attenuates mitochondria-dependent apoptosis in lipopolysaccharide-induced H9C2 cardiomyocytes, *Molecular Medicine Reports*, 2014, 9(5), s. 1941–1946.
- [19] Trivedi P.P., Kushwaha S., Tripathi D.N., Jena G.B., Cardioprotective effects of hesperetin against doxorubicin-induced oxidative stress and DNA damage in rat, *Cardiovascular Toxicology*, 2011, 11(3), s. 215–225.
- [20] Hanchang W., Khamchan A., Wongmanee N., Seedadee C., Hesperidin ameliorates pancreatic β -cell dysfunction and apoptosis in streptozotocin-induced diabetic rat model, *Life Sciences*, 2019, 235, s. 116858.
- [21] Furman B.L., Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats, *Current Protocols in Pharmacology*, 2015, 70, s. 1–20.

- [22] Goyal S.N., Reddy N.M., Patil K.R., Nakhate K.T., Ojha S., Patil C.R., Agrawal Y.O., Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes – A clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics, *Chemi-co-Biological Interactions*, 2016, 244, s. 49–63.
- [23] Qinna N.A., Badwan A.A., Impact of streptozotocin on altering normal glucose homeostasis during insulin testing in diabetic rats compared to normoglycemic rats, *Drug Design, Development and Therapy*, 2015, 9, s. 2515–2525.
- [24] Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.I., Randall R.J., Protein measurement with the Folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 1951, 193, s. 265–275.
- [25] Buege J.A., Aust S.D., Microsomal lipid peroxidation, *Methods in Enzymology*, 1978, 52, s. 302–310.
- [26] Witko-Sarsat V., Friedlander M., Capeillère-Blandin C., Nguyen-Khoa T., Nguyen A.T., Zingraff J., Jungers P., Descamps-Latscha B., Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia, *Kidney International*, 1996, 49, s. 1304–1313.
- [27] Jagota S.K., Dani H.M., A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent, *Analytical Biochemistry*, 1982, 127, s. 178–182.
- [28] Erel O., A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status, *Clinical Biochemistry*, 2005, 38, s. 1103–1111.
- [29] Erel O., A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions, *Clinical Biochemistry*, 2004, 37, s. 112–119.
- [30] Bramora P., Borymska W., Zych M., Kaczmarczyk-Sedlak I., Effect of naringenin on oxidative stress in the heart tissue of type 1 diabetic Wistar rats, *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*, 2021, 78(5), s. 693–703.
- [31] Mutavdzin S., Gopcevic K., Stankovic S., Jakovljevic Uzelac J., Labudovic Borovic M., Djuric D., The Effects of Folic Acid Administration on Cardiac Oxidative Stress and Cardiovascular Biomarkers in Diabetic Rats, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, s. 1342549.
- [32] Li C.L., Liu B., Wang Z.Y., Xie F., Qiao W., Cheng J., Kuang J.Y., Wang Y., Zhang M.X., Liu D.S., Salvianolic acid B improves myocardial function in diabetic cardiomyopathy by suppressing IGFBP3, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2020, 139, s. 98–112.
- [33] Ali T.M., Abo-Salem O.M., El Esawy B.H., El Askary A., The Potential Protective Effects of Diosmin on Streptozotocin-Induced Diabetic Cardiomyopathy in Rats, *The American Journal of the Medical Sciences*, 2020, 359(1), s. 32–41.
- [34] Talebi A.R., Mangoli E., Nahangi H., Anvari M., Pourentezari M., Halvaei I., Vitamin C attenuates detrimental effects of diabetes mellitus on sperm parameters, chromatin quality and rate of apoptosis in mice, *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2014, 181, s. 32–36.
- [35] Sun Y., Zhou S., Guo H., Protective effects of sulforaphane on type 2 diabetes-induced cardiomyopathy via AMPK-mediated activation of lipid metabolic pathways and NRF2 function, *Metabolism*, 2020, 102, s. 154002.
- [36] American Diabetes Association, 9. Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes-2019, *Diabetes Care*, 2019, 42(Suppl. 1), s. 90–102.

- [37] Larsson S.C., Wallin A., Håkansson N., Stackelberg O., Bäck M., Wolk A., Type 1 and type 2 diabetes mellitus and incidence of seven cardiovascular diseases, *International Journal of Cardiology*, 2018, 262, s. 66–70.
- [38] Rani N., Bharti S., Bhatia J., Nag T.C., Ray R., Arya D.S., Chrysin, a PPAR- γ agonist improves myocardial injury in diabetic rats through inhibiting AGE-RAGE mediated oxidative stress and inflammation, *Chemico-Biological Interactions*, 2016, 250, s. 59–67.
- [39] Sharma I., Aaradhya M., Kodikonda M., Naik P.R., Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant activity of phenolic rich extract of *Brassica oleraceae* var *gongyloides* on streptozotocin induced Wistar rats, *SpringerPlus*, 2015, 4, s. 212.
- [40] Bhatti R., Sharma S., Singh J., Ishar M.P., Ameliorative effect of *Aegle marmelos* leaf extract on early stage alloxan-induced diabetic cardiomyopathy in rats, *Pharmaceutical Biology*, 2011, 49(11), s. 1137–1143.
- [41] Aju B.Y., Rajalakshmi R., Mini S., Protective role of *Moringa oleifera* leaf extract on cardiac antioxidant status and lipid peroxidation in streptozotocin induced diabetic rats, *Heliyon*, 2019, 5(12), s. e02935.
- [42] Al-Numair K.S., Chandramohan G., Veeramani C., Alsaif M.A., Ameliorative effect of kaempferol, a flavonoid, on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats, *Redox Report*, 2015, 20(5), s. 198–209.
- [43] Rezaeyan A., Haddadi G.H., Hosseinzadeh M., Moradi M., Najafi M., Radioprotective effects of hesperidin on oxidative damages and histopathological changes induced by X-irradiation in rats heart tissue, *Journal of Medical Physics*, 2016, 41(3), s. 182–191.
- [44] Zhang N., Yang Z., Xiang S.Z., Jin Y.G., Wei W.Y., Bian Z.Y., Deng W., Tang Q.Z., Nobiletin attenuates cardiac dysfunction, oxidative stress, and inflammatory in streptozotocin: induced diabetic cardiomyopathy, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2016, 417(1–2), s. 87–96.
- [45] Bao H., Chen L.I., Icariin reduces mitochondrial oxidative stress injury in diabetic rat hearts, *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2011, 36(11), s. 1503–1507.
- [46] Hayes J.P., Jenkins S.H., Individual Variation in Mammals, *Journal of Mammalogy*, 1997, 78(2), s. 274–293.
- [47] Jones D.P., Redox potential of GSH/GSSG couple: assay and biological significance, *Methods in Enzymology*, 2002, 348, s. 93–112.
- [48] Zhang Y.F., Meng N.N., Li H.Z., Wen Y.J., Liu J.T., Zhang C.L., Yuan X.H., Jin X.D., Effect of naringin on oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in diabetic cardiomyopathy, *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2018, 43(3), s. 596–602.
- [49] Soetikno V., Sari F.R., Sukumaran V., Lakshmanan A.P., Mito S., Harima M., Thandavarayan R.A., Suzuki K., Nagata M., Takagi R., Watanabe K., Curcumin prevents diabetic cardiomyopathy in streptozotocin-induced diabetic rats: possible involvement of PKC-MAPK signaling pathway, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2012, 47(3), s. 604–614.
- [50] Ibrahim S.S., Protective Effect of Hesperidin, a Citrus Bioflavonoid, on Diabetes-Induced Brain Damage in Rats, *Journal of Applied Sciences Research*, 2008, 4(1), s. 84–95.
- [51] Hazman Ö., Serhat O., Investigation of the anti-inflammatory effects of safranal on high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model, *Inflammation*, 2015, 38(3), s. 1012–1019.

- [52] Turhan U., Yilmaz E., Gul M., Melekoglu R., Turkoz Y., Ozyalin F., Parlakpinar H., Simsek Y., Investigation of the effect of gestational diabetes on fetal cardiac tissue in streptozotocin induced in rats, *Acta Cirúrgica Brasileira*, 2018, 33(4), s. 306–313.
- [53] Aslan M., Sabuncu T., Kocyigit A., Celik H., Selek S., Relationship between total oxidant status and severity of diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients, *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 2007, 17(10), s. 734–740.
- [54] Dokumacioglu E., Iskender H., Musmul A., Effect of hesperidin treatment on α -Klotho/FGF-23 pathway in rats with experimentally induced diabetes, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 109, s. 1206–1210.

Do cytowania:

Bramora P., Zych M., Borymska W., Kaczmarczyk-Żebrowska I., Wpływ hesperydyny na rozwój stresu oksydacyjnego w sercu szczurów z cukrzycą typu 1, *Herbalism*, 2023, 1(9), s. 50–66.

Porównanie właściwości kosmetycznych i dermatologicznych ekstraktu oraz fermentu z owoców rokitnika zwyczajnego otrzymanego w procesie fermentacji z wykorzystaniem grzyba herbacianego kombuchy

Comparison of cosmetic and dermatological properties of extract and ferment of sea buckthorn fruit obtained by fermentation using kombucha tea fungus

Aleksandra Ziemlewska, Katarzyna Klimczak, Martyna Zagórska-Dziok,
Zofia Nizioł-Łukaszewska

Katedra Technologii Produktów Kosmetycznych i Farmaceutycznych, Wyższa Szkoła Informatyki i Zarządzania, ul. Sucharskiego 2, 35-225 Rzeszów; e-mail: aziemlewska@wsiz.edu.pl

Słowa kluczowe: rokitnik zwyczajny, kombucha, właściwości kosmetyczne, fermenty, ekstrakty roślinne

Keywords: *Hippophae rhamnoides* L., kombucha, cosmetic properties, ferments, plant extracts

Streszczenie

Kombucha to napój o działaniu prozdrowotnym wytwarzany poprzez fermentację słodzonej herbaty przy użyciu symbiotycznych kultur bakterii należących do rodzaju *Acetobacter* i *Gluconobacter* oraz drożdży z rodzaju *Saccharomyces* wraz z kwasem glukuronowym. W pracy porównano właściwości kosmetyczne i dermatologiczne ekstraktu z owoców rokitnika zwyczajnego (*Hippophae rhamnoides* L.) oraz jego fermentu otrzymanego w procesie fermentacji za pomocą grzyba herbacianego. W tym celu fermentowane i niefermentowane ekstrakty porównano pod względem składu chemicznego, poddając je analizie chromatograficznej HPLC/ESI-MS. Oceniono aktywność antyoksydacyjną badanych próbek z wykorzystaniem testów DPPH i ABTS. Określono także cytotoksyczność, przeprowadzając testy Alamar Blue i Neutral Red, oceniające stopień żywotności oraz metabolizm komórek skóry: fibroblastów i keratynocytów. Potencjalne właściwości przeciwstarzeniowe określono na podstawie ich zdolności do hamowania aktywności metaloproteinaz: kolagenazy i elastazy. Ponadto zostały przeprowadzone testy aplikacyjne, które wykazały pozytywny wpływ ekstraktów oraz fermentów na transepidermalną ucieczkę wody z naskórka (TEWL) oraz nawilżenie skóry. Uzyskane wyniki wskazują, że zarówno ekstrakt z owoców rokitnika zwyczajnego, jak i ferment otrzymany za pomocą kombuchy mogą stanowić cenny składnik produktów kosmetycznych.

Summary

Kombucha is a health-promoting beverage produced by fermenting sweetened tea using symbiotic cultures of bacteria belonging to the genus *Acetobacter*, *Gluconobacter* and yeast of the genus *Saccharomyces* along with glucuronic acid. The study compared the cosmetic and dermatological properties of sea buckthorn (*Hippophae Rhamnoides* L.) fruit extract and its ferment obtained through a fermentation process using a tea fungus. For this purpose, the fermented and non-fermented extracts were compared in terms of chemical composition using the HPLC/ESI-MS chromatographic method. The antioxidant activity of the tested samples was evaluated using DPPH and ABTS assays. Cytotoxicity was also determined by conducting Alamar Blue and Neutral Red assays assessing cell viability and metabolism using skin cell lines: fibroblasts and keratinocytes. Potential anti-aging properties were determined by their ability to inhibit the activity of metalloproteinases: collagenase and elastase. In addition, application tests have been carried out showing positive effects of the extracts and ferments on TEWL and skin hydration. The results indicate that both sea buckthorn fruit extract and ferment obtained with kombucha can be valuable ingredients in cosmetic products.

Wstęp

Rokitnik zwyczajny (*Hippophae rhamnoides* L.) to krzew należący do rodziny *Elaeagnaceae*, który słynie ze swoich cennych właściwości prozdrowotnych i jest szeroko stosowany w przemyśle spożywczym jako naturalne źródło substancji aktywnych [1]. Roślina ta znajduje jednak o wiele więcej zastosowań, m.in. w przemyśle kosmetycznym i farmaceutycznym. Od lat utrzymującym się trendem w produkcji kosmetyków jest sięganie po surowce pochodzenia naturalnego, w tym ekstrakty roślinne. W Polsce roślina ta występuje naturalnie wzdłuż wybrzeża Bałtyku i jest objęta częściową ochroną [2]. Z roku na rok przybywa również plantacji rokitnika, gdyż popyt na jego owoce stale rośnie. Jagody rokitnika są często przedmiotem badań, które koncentrują się przede wszystkim na jego właściwościach antyoksydacyjnych, przeciwbakteryjnych czy przeciwgrzybiczych [3]. Za właściwości antyoksydacyjne rokitnika w dużej mierze odpowiada dysmutaza ponadtlenkowa oraz proantocyjanidyny, które wykazują działanie ochronne dla mitochondriów przed stresem oksydacyjnym wywołanym przez wolne rodniki, m.in. H_2O_2 [4].

Innowacyjnym podejściem jest poddanie ekstraktów roślinnych procesowi fermentacji, który wzmacnia ich działanie prozdrowotne [5]. Biofermenty wykazują wzmożone działanie przeciwbakteryjne oraz redukujące ilość wolnych rodników, wpływających na szybsze starzenie się organizmu. Badania wskazują, że poddanie surowców roślinnych fermentacji z udziałem konsorcjum mikroorganizmów SCOBY

umożliwia uzyskanie nowych, cennych właściwości, które można modyfikować, dobierając odpowiednie warunki fermentacji [6]. Warto zaznaczyć, że procesowi fermentacji można poddać nie tylko pięknie wybarwione owoce rokitnika, ale również pozostałe części rośliny, które wykazują wiele pożądanych właściwości [7, 8]. Rokitnik zwyczajny stanowi doskonały surowiec kosmetyczny ze względu na swoje działanie przeciwstarzeniowe, odżywcze oraz antybakteryjne. Ostatnia z właściwości jest ściśle związana z utrzymaniem prawidłowego mikrobiomu skóry, z którego zaburzeniem wiążą się liczne problemy dermatologiczne, jak trądzik, łuszczyca czy atopowe zapalenie skóry [9]. Olej z nasion badanej rośliny wykazuje działanie antybakteryjne, regenerujące oraz nawilżające dla skóry poprzez ochronę przed nadmierną utratą wody z naskórka [10, 11]. Ponadto stosowanie kosmetyków z rokitnikiem może regulować wydzielanie sebum. Badania wykazały, że owoc z *H. rhamnoides* zawiera znaczącą ilość witaminy C, znajdującej wiele zastosowań w przemyśle kosmetycznym [12], mającej właściwości rozjaśniające, przyspieszającej regenerację skóry i gojenie się ran [13]. Wysoka zawartość związków polifenolowych obecnych w ekstrakcie wpływa na stymulację syntezy elastyny oraz kolagenu, poprawiając napięcie i nawilżenie skóry oraz redukując oznaki starzenia [14].

Cel pracy stanowiła ocena potencjału biologicznego ekstraktu i fermentu owoców rokitnika zwyczajnego pod kątem zastosowania w kosmetologii i dermatologii. Ekstrakt z owoców rokitnika poddano procesowi fermentacji za pomocą grzyba herbacianego kombuchy (SCOBY). Otrzymane ekstrakty oraz fermenty następnie poddano kompleksowej ocenie biochemicznej oraz analizie fitochemicznej.

Materiał i metody badań

Technologia otrzymywania ekstraktów oraz procedura przeprowadzenia procesu fermentacji

Ekstrakty z owoców rokitnika zwyczajnego (*Hippophae rhamnoides* L.) otrzymano poprzez zmieszanie 15 g rozdrobnionych owoców z 250 ml wody destylowanej o temperaturze pokojowej (około 20°C). Ekstrakcję prowadzono przez 24 godziny na mieszadle magnetycznym. Otrzymane ekstrakty zostały przefiltrowane trzykrotnie z wykorzystaniem sączków wykonanych z bibuły filtracyjnej Whatmana nr 10. Otrzymany ekstrakt poddano procesowi fermentacji. W tym celu do ekstraktu dodano 25 g sacharozy (stężenie końcowe 10,0% m/v). Następnie dodano 5 g grzybka herbacianego SCOBY oraz 25 ml startera kombuchy. Fermentację prowadzono w sterylnych szklanych zlewkach przez okres 14 dni. Po zakończeniu procesu fermentacji otrzymany ferment przefiltrowano przez jałową gazę. Otrzymany ekstrakt i ferment odparowano do sucha, rozcieńczono wodą oczyszczoną o temperaturze pokojowej (około 20°C) do finalnych stężeń i poddano dalszym analizom.

Oznaczenie zawartości aktywnie biologicznych związków

Analizę chromatograficzną HPLC związków aktywnych w otrzymanym ekstrakcie oraz fermentie przeprowadzono przy użyciu kolumny RP18 Titan (Supelco, Sigma-Aldrich) (10 cm × 2,1 mm, wielkość cząstek 1,9 μm). Temperatura termostatu wynosiła 20°C. Jako fazę ruchomą zastosowano mieszaninę acetonitrylu z 0,05% kwasem mrówkowym (rozpuszczalnik A) i wody z 0,05% kwasem mrówkowym (rozpuszczalnik B) przy przepływie 0,2 ml/min. Badane próbki rozdzielono, stosując elucję gradientową według programu: 0–32 min od 10% A do 20% A (od 90% B do 80% B) oraz 32–60 min od 20% A do 40% A (od 80% B do 60% B). Chromatogramy zarejestrowano w zakresie 200–400 nm. Warunki LC-MS: parametry pracy źródła jonów były następujące: temperatura gazu suszącego 325°C, przepływ gazu suszącego 5 l min⁻¹, ciśnienie nebulizatora 30 psi, napięcie kapilary 3500 V, fragmentatora 170 V i skimmera 65 V. Jony pozyskiwano w zakresie od 100 do 1050 m/z.

Pomiar zdolności antyoksydacyjnej metodą redukcji rodnika DPPH

Zdolność zmiatania wolnych rodników w owocach rokitnika oznaczono za pomocą zmodyfikowanej metody opisanej przez Branda-Williamsa [15]. Do analizy właściwości antyoksydacyjnych badanych ekstraktów pobrano po 100 μl ekstraktu w stężeniach: 100, 250, 500, 1000, 1500 oraz 2000 μg/ml, następnie dodano 100 μl 4 mM roztworu DPPH i zmierzono absorbancję przy długości fali λ = 540 nm. Pomiaru zostały wykonane co 5 min przez 30 min z wykorzystaniem czytnika mikroplitek Filtr Max 5 (ThermoScientific). Próbę kontrolną w tym doświadczeniu stanowiło 100 μl wody destylowanej z 100 μl DPPH. Pomiaru analizowano w trzech powtórzeniach dla każdego stężenia.

Do obliczenia procentu zmiatania wolnego rodnika DPPH wykorzystano równanie:

$$\% \text{ zmiatania DPPH} = \frac{A_k - A_b}{A_k} \times 100,$$

gdzie:

A_k – absorbancja próbki kontrolnej,

A_b – absorbancja próby badanej.

Pomiar zdolności antyoksydacyjnej metodą redukcji rodnika ABTS

Druga metoda przeprowadzona w celu oceny właściwości antyoksydacyjnych bazowała na roztworze ABTS [16]. Zmieszano 7 mM roztworu ABTS z 2,4 mM roztworem nadsiarczanu potasu w równych proporcjach i inkubowano przez 14 godzin w temperaturze pokojowej. Po tym czasie otrzymany roztwór rozcieńczono w metanolu do uzyskania absorbancji równej około 1,0 (λ = 734 nm). Kolejno pobrano po 1 ml próbek kontrolnych (o stężeniach: 100, 250, 500, 1000, 1500 oraz 2000 μg/ml) i zmieszano z 1 ml roztworu ABTS, a następnie wykonywano pomiary absor-

bancji ($\lambda = 734 \text{ nm}$) z wykorzystaniem spektrofotometru UV/Vis Aquamate Helion (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Kontrolę w tym doświadczeniu stanowił 1 ml roztworu ABTS zmieszany z 1 ml metanolu. Do obliczeń wykorzystano równanie:

$$\% \text{ redukcji ABTS} = \frac{1 - A_s}{A_c} \times 100,$$

gdzie:

A_s – absorbancja próbki,

A_c – absorbancja próbki kontrolnej.

Testy cytotoksyczności

Procedura prowadzenia hodowli komórkowej

Oceny cytotoksyczności badanych ekstraktów dokonano na dwóch liniach komórkowych: ludzkich keratynocytach (HaCaT) oraz fibroblastach (BJ) pozyskanych z ATCC (American Type Culture Collection; Manassas, VA, 20108, USA). Komórki wyhodowano w medium hodowlanym DMEM suplementowanym L-glutaminą, 5% surowicą bydlęcą (FBS) oraz antybiotykami (100 $\mu\text{g/ml}$ penicyliny i 1000 $\mu\text{g/ml}$ streptomycyny, Gibco). Hodowlę prowadzono w inkubatorze w temp. 37°C i 5% stężeniu CO_2 .

W celu przeprowadzenia testów cytotoksyczności oba typy komórek zostały wysiane na płytki 96-dołkowe o stężeniu 10 000 komórek/dołek. Następnie komórki zostały traktowane ekstraktami z owoców rokitnika zwyczajnego o stężeniach: 100, 250 oraz 1000 $\mu\text{g/ml}$.

Alamar Blue

Pierwszym z przeprowadzonych testów cytotoksyczności był test Alamar Blue (AB) (Sigma, R7017), dzięki któremu oceniono żywotność komórek w odpowiedzi na badane ekstrakty. Test ten umożliwia określenie poziomu aktywności enzymów oddechowych w badanych komórkach. Początkowo komórki BJ oraz HaCaT wysiano na 96-dołkowe płytki i poddano 24-godzinnej inkubacji z badanymi ekstraktami o stężeniach: 100, 250 oraz 1000 $\mu\text{g/ml}$. Na kolejnym etapie komórki traktowano roztworem resazuryiny o stężeniu 60 μM i prowadzono inkubację komórek przez 2 h w temp. 37°C w ciemności. Po tym czasie przeprowadzono pomiar fluorescencji z wykorzystaniem czytnika mikroplatek (FilterMax F5, Molecular Devices, Silicon Valley, CA, USA) przy długości fali 570 nm. Dla każdego badanego ekstraktu wykonano trzy niezależne eksperymenty. Wyniki przedstawiono jako procent żywotności komórek HaCaT oraz BJ w porównaniu do kontroli przyjętej jako 100%.

Neutral Red

Do oceny metabolizmu oraz proliferacji badanych komórek wykorzystano test oparty na barwniku – czerwieni obojętnej (Neutral Red) (Sigma-Aldrich), postępując zgodnie z procedurą opisaną wcześniej przez E. Borenfreunda i J.A. Puernera [17]. Do przeprowadzenia powyższego testu komórki wysiano na płytki 96-dołkowe w gęstości 10 000 komórek/dołek. Na kolejnym etapie komórki (zarówno BJ, jak i HaCaT) traktowano analizowanymi ekstraktami z rokitnika o stężeniach 100, 250 oraz 1000 $\mu\text{g/ml}$ przez 24 godziny. Komórki nietraktowane badanymi próbkami (ani ekstraktem, ani fermentem) hodowane w medium DMEM stanowiły w tym doświadczeniu grupę kontrolną. Po inkubacji medium z badanymi ekstraktami zostało usunięte, a do komórek dodano świeżą pożywkę z dodatkiem barwnika Neutral Red o stężeniu 40 $\mu\text{g/ml}$. Po 2-godzinnej inkubacji komórki w każdym dołku przemyto sterylnym PBS-em i dodano po 150 μl na każdy dołek roztworu odbarwiającego (etanol/kwas octowy/woda destylowana w stosunku odpowiednio 50:1:4). Następnie komórki poddano łagodnemu wytrząsaniu przez 10 min, aż do uwolnienia barwnika z komórek i utworzenia jednorodnego roztworu. W celu oceny żywotności komórek wykonano pomiar gęstości optycznej (OD) barwnika uwolnionego z komórek, mierząc absorbancję przy długości fali $\lambda = 540 \text{ nm}$ z wykorzystaniem czytnika mikropłytek FilterMax F5 (Molecular Devices, Silicon Valley, CA, USA). Dla każdego stężenia analizowanego ekstraktu oraz fermentu przygotowano trzy powtórzenia. Wyniki przedstawiono jako procent żywotności komórek traktowanych badanymi stężeniami ekstraktu i fermentu z rokitnika, przyjmując żywotność komórek kontrolnych na poziomie 100%.

Oznaczenie aktywności hamowania kolagenazy

W celu oceny właściwości przeciwstarzeniowych badanych próbek dokonano oceny zdolności hamowania aktywności enzymu odpowiedzialnego za degradację włókien kolagenowych – kolagenazy. W tym celu wykorzystano zestaw fluorymetryczny (Abcam, ab211108). Analizy przeprowadzono na płytkach 96-dołkowych dla stężeń ekstraktu i fermentu wynoszących 100 oraz 500 $\mu\text{g/ml}$. Na pierwszym etapie kolagenazę (COL) rozpuszczono w buforze reakcyjnym (CAB), a następnie dodano analizowane próbki. Kontrolę inhibitora przygotowano przez zmieszanie inhibitora kolagenazy (1,10-fenantrolina (80 mM)) z kolagenazą i buforem CAB. Natomiast kontrolę enzymu przygotowano przez zmieszanie rozcieńczonego COL z CAB. Dodatkowo bufor CAB został zastosowany jako kontrola tła. Tak przygotowane próbki poddano 15-minutowej inkubacji w temperaturze pokojowej. Następnie sporządzono mieszaninę reakcyjną poprzez zmieszanie substratu kolagenazy z CAB. Przygotowaną mieszaninę dodano do wszystkich analizowanych próbek i dokładnie wymieszano. Wykonano pomiar fluorescencji przy długości fali wzbu-

dzenia $\lambda = 490$ nm i emisji $\lambda = 520$ nm z wykorzystaniem czytnika mikroplitek (FilterMax F5, Molecular Devices, Silicon Valley, CA, USA). Pomiarów dokonywano w trybie kinetycznym przez 60 min w temp. 37°C. Do obliczenia zdolności hamowania aktywności COL przez analizowane próbki wykorzystano wzór:

$$\% \text{inhibicji aktywności kolagenazy} = \frac{\text{kontrola enzymu} - \text{próbka badana}}{\text{kontrola enzymu}} \times 100\%.$$

Oznaczenie aktywności hamowania elastazy

Do oceny zdolności inhibicji elastazy neutrofilowej (NE) odpowiedzialnej za rozpad włókien elastynowych wykorzystano zestaw fluorymetryczny (Abcam, ab118971). Analizie poddano analogiczne stężenia badanych próbek jak w przypadku testu z kolagenazą, a oznaczenia wykonano zgodnie z instrukcją producenta. Doświadczenie przeprowadzono na 96-dołkowych, czarnych płytkach z przezroczystym dnem. Na pierwszym etapie przygotowano roztwory enzymu NE, substratu dla NE oraz kontrolę inhibitora (SPCK). W kolejnym kroku wszystkie studzienki uzupełniono rozcieńczonym roztworem NE. W kolejnych studzienkach umieszczono próbki testowe, kontrolę inhibitora oraz kontrolę enzymu, a także próbkę kontrolną, którą stanowił bufor testowy. Płytkę z badanymi próbkami poddano inkubacji przez 5 min w temp. 37°C. Po tym czasie do każdego dołka dodano mieszaninę reakcyjną składającą się z buforu testowego i substratu NE i niezwłocznie zmierzono fluorescencję w trybie kinetycznym przy użyciu czytnika mikroplitek (FilterMax F5, Molecular Devices, Silicon Valley, CA, USA). Zdolność do hamowania aktywności NE przez badane próbki z rokitnika obliczono ze wzoru:

$$\% \text{inhibicji aktywności NE} = 1 - \frac{\Delta RFU \text{ kontroli inhibitora}}{\Delta RFU \text{ kontroli enzymu}} \times 100\%.$$

Pomiar transepidermalnej ucieczki wody z naskórka (TEWL) oraz nawilżenia skóry

W celu wykonania pomiarów stopnia nawilżenia skóry oraz transepidermalnej ucieczki wody z naskórka wykorzystano aparat do badania skóry TEWAmeter TM 300 oraz sondę Corneometer CM 825 podłączoną do adaptera MPA (Courage + Khazaka Electronic, Kolonia, Niemcy). Badaniu poddano 10 osób w wieku 26–38 lat. Na przedramieniu każdego z ochotników zaznaczono na skórze obszary o wymiarach 2×2 cm, na które наносzono 20 μ l każdej z analizowanych próbek (o stężeniu 300 μ g/ml). Pole kontrolne w tym badaniu stanowił obszar nietraktowany żadną próbką badaną. Analizowane próbki pozostawiono do wyschnięcia i przeprowadzono pomiary po 60, 120, 180, 240 i 300 min. Na ostateczny wynik

składała się średnia arytmetyczna (dotycząca każdej badanej osoby) z 5 niezależnych pomiarów w przypadku analizy poziomu nawilżenia skóry oraz 20 pomiarów w przypadku badania TEWL.

Analiza statystyczna

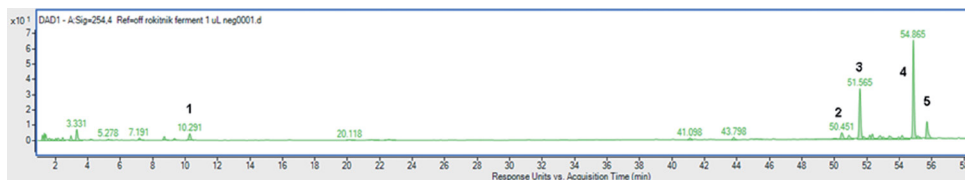
Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono z wykorzystaniem programu GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software, Inc., Sand Diego CA). Wartości badanych parametrów wyrażono jako średnią arytmetyczną \pm odchylenie standardowe (SD). Wszystkie wyniki poddano dwukierunkowej analizie wariancji (ANOVA) a następnie testowi wielokrotnych porównań Tukeya. Istotność statystyczną określono na poziomie $***p < 0,0001$, $**p < 0,001$, $*p < 0,01$ oraz $*p < 0,05$ w porównaniu z kontrolą.

$$\% \text{inhibicji aktywności NE} = 1 - \frac{\Delta RFU \text{ kontroli inhibitora}}{\Delta RFU \text{ kontroli enzymu}} \times 100\%.$$

Wyniki i dyskusja

Oznaczenie zawartości związków biologicznie czynnych

Zawartość związków biologicznie aktywnych obecnych w fermentowanym i niefermentowanym ekstrakcie z rokitnika oznaczono metodą HPLC/ESI-MS. Zidentyfikowane związki oraz ich zawartość (w $\mu\text{g/g}$ ekstraktu/fermentu) przedstawiono w Tabeli 1. Uzyskany profil związków polifenolowych był zbliżony do podanych w literaturze [18, 19]. Otrzymane wyniki wykazały, że zarówno ekstrakt z rokitnika, jak i ferment są bogate w kwasy fenolowe, m.in. kwas protokatechowy, oraz flawonoidy, takie jak: kwercetyna-3-O-rutozyd czy izoramnetyna-3-O-glukozyd-7-O-ramnozyd i izoramnetyna-3-O-glukozyd. Chromatogram przedstawiający identyfikację polifenoli przedstawiono na Rysunku 1. Jak wykazano w Tabeli 1, oznaczone związki biologicznie czynne były zróżnicowane pod względem ich zawartości w ekstrakcie oraz fermentcie. Ferment otrzymany za pomocą kombuchy okazał się bardziej obfity w kwas protokatechowy i flawonoidy. Różnica w zawartości tych kwasów jest nawet 8 razy większa w przypadku związku nr 2 ($14,56 \mu\text{g/g} \pm 0,24$ w fermentcie i $1,8 \mu\text{g/g} \pm 0,08$ w ekstrakcie).



Rysunek 1. Chromatogram związków polifenolowych zawartych w fermentcie z owoców rokitnika.

Figure 1. Chromatogram of biologically active compounds contained in sea buckthorn ferments.

Ponadto związek nr 4 występuje w ilości $162,75 \mu\text{g/g} \pm 6,68$ w fermentie, podczas gdy w ekstrakcie nie zidentyfikowano go w ogóle. Badania wskazują, że podczas procesu fermentacji następuje wzrost zawartości niektórych związków fenolowych oraz czas fermentacji wpływa na wzrost i zawartość tych związków. Różnice pomiędzy ekstraktami fermentowanymi i niefermentowanymi mogą również wynikać z faktu, że złożone związki fenolowe mogą być degradowane do mniejszych cząsteczek podczas procesu fermentacji [3].

Tabela 1. Zawartość związków polifenolowych w ekstrakcie i fermentie z owoców rokitnika.
Table 1. Content of biologically active compounds in sea buckthorn ferments.

Pik	T_R (min.)	Obserwowana masa jonów [M-H] - (m/z)	Związek	Wzór	Zawartość ($\mu\text{g/g}$)	
					Ferment	Ekstrakt
1.	10,29	153,016	Kwas protokatechowy	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$	$23,36 \pm 0,18$	$13,56 \pm 1,18$
2.	50,45	609,1488	Kwercetyna-3-O-rutozyd	$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$	$14,56 \pm 0,24$	$1,8 \pm 0,08$
3.	51,56	623,1645	Izoramnetyna-3-O-glu- kozyd-7-O-ramnozyd	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$	$102,75 \pm 3,51$	$15,62 \pm 1,02$
4.	54,86	623,164	Izoramnetyna-3-O- -rutozyd	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$	$162,75 \pm 6,68$	-
5.	55,71	477,1062	Izoramnetyna-3-O-glu- kozyd	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$	$20,06 \pm 1,74$	$2,67 \pm 0,07$

Źródło: opracowanie własne.

Ocena właściwości antyoksydacyjnych

Ocenę zdolności do neutralizowania wolnych rodników badanego ekstraktu oraz fermentu z owoców rokitnika przeprowadzono przy użyciu dwóch niezależnych metod: DPPH oraz ABTS. DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl) ma zdolność do tworzenia stabilnego kationorodnika, którego metanolowy roztwór DPPH charakteryzuje się ciemnofioletową barwą, która przechodzi w kolor żółty, w przypadku gdy analizowany związek cechuje się właściwościami antyoksydacyjnymi. W teście ABTS rodniki odczynnika ABTS (2,2'-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian)) tworzone są podczas reakcji chemicznych z nadsiarczanem potasu, a zdolność ich redukcji przez antyoksydanty jest zależna od czasu trwania reakcji, stężenia przeciwutleniacza oraz jego aktywności. Następuje zanik barwy roztworu, przy czym spadek intensywności zabarwienia jest proporcjonalny do zawartości w nim przeciwutleniaczy. Starzenie się skóry wynikające z nadmiernej ekspozycji na wolne rodniki, które powodują powstanie stresu oksydacyjnego, jest dużym wyzwaniem dla przemysłu kosmetycznego. Towarzyszący nam stres, niewłaściwa dieta,

zmęczenie to tylko niektóre czynniki wpływające na uwalnianie wolnych rodników w organizmie, prowadząc tym samym do wielu niekorzystnych zmian. Miarą aktywności przeciwutleniającej jest wartość parametru IC₅₀, który określa stężenie przeciwutleniacza powodujące 50% spadek początkowego stężenia rodników. Uzyskane wyniki korelują z doświadczeniami innych badaczy, którzy również obserwowali właściwości antyoksydacyjne rokitnika [20, 21]. Wyniki otrzymane w ramach tej pracy dowodzą, że fermenty wykazują silniejsze działanie antyoksydacyjne w porównaniu do badanych ekstraktów z rokitnika, co wskazuje na zasadność przeprowadzania procesu fermentacji otrzymanych ekstraktów. Wyższa aktywność antyoksydacyjna fermentów jest związana prawdopodobnie z większą zawartością związków biologicznie czynnych, co zostało potwierdzone analizami chromatograficznymi.

Tabela 2. Ocena właściwości antyoksydacyjnych metodą DPPH i ABTS.

Table 2. Assessment of antioxidant properties by DPPH and ABTS methods.

	Ekstrakt	Ferment
Test zmiatania rodników DPPH		
IC ₅₀ [µg/ml]	1709,28 ± 14,39	1618,58 ± 15,24
Test zmiatania rodników ABTS		
IC ₅₀ [µg/ml]	247,85 ± 3,26	268,62 ± 2,31

Źródło: opracowanie własne.

Ocena cytotoksyczności

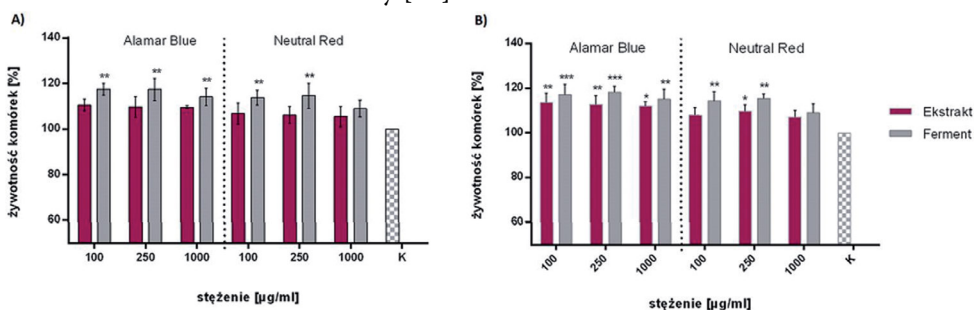
Ocenię cytotoksyczności względem badanych ekstraktów i fermentów z rokitnika poddano dwie ludzkie linie komórkowe: keratynocyty (HaCaT) oraz fibroblasty (BJ). Analizy przeprowadzono z wykorzystaniem dwóch testów: Alamar Blue oraz Neutral Red. Stosowana w teście Alamar Blue resazuryna (7-hydroksy-3H-fenoksazyn-3-on 10-tlenek) o barwie niebieskiej ulega redukcji do rezorufiny o barwie różowej fluorescencji poprzez oddychanie tlenowe komórek aktywnych metabolicznie, dzięki czemu jest wykorzystywana jako wskaźnik ich żywotności [22]. Z kolei barwnik Neutral Red ma zdolność do przenikania przez błony komórkowe i akumulacji w żywych, nieuszkodzonych lizosomach. Na podstawie uzyskanych wyników (wykres 1) można zaobserwować wyraźną różnicę w żywotności oraz aktywności metabolicznej obu typów komórek w odpowiedzi na traktowanie ekstraktem oraz fermentem z rokitnika. Przeprowadzone analizy pokazały, iż zarówno ekstrakt, jak i ferment z rokitnika nie wykazują cytotoksycznego działania na oba typy komórek skóry. Co więcej, badania przeprowadzone z wykorzystaniem obu te-

stów wykazały również, iż zarówno ekstrakt, jak i ferment pozytywnie wpływają na aktywność metaboliczną oraz integralność błon w komórkach skóry w warunkach *in vitro* we wszystkich analizowanych stężeniach.

Zarówno w przypadku keratynocytów (HaCaT), jak i fibroblastów (BJ) zaobserwowano bardziej korzystny wpływ fermentu w porównaniu do ekstraktu, co sugeruje, iż fermenty z rokitnika mogą stanowić bezpieczny składnik preparatów przeznaczonych do mycia czy pielęgnacji skóry. Jednak biorąc pod uwagę tendencję spadkową w żywotności komórek poddanych wzrastającym stężeniom badanych próbek, należy odpowiednio dobrać ich stężenie w preparatach docelowych, by nie wywołać efektu cytotoksycznego.

Pozytywny wpływ rokitnika na komórki skóry został potwierdzony również przez innych autorów, którzy dowiedli, że olej z rokitnika częściowo zapobiega powstawaniu reaktywnych form tlenu po poddaniu keratynocytów i fibroblastów promieniowaniu UV oraz zmniejsza w nich ekspresję receptorów kannabinoidowych. Olej ten zwiększa również poziom nieenzymatycznych przeciwutleniaczy, takich jak glutation (GSH), tioredoksyna (Trx), witaminy E i A, oraz stymuluje aktywność Nrf2, co prowadzi do zwiększonej aktywności enzymów antyoksydacyjnych.

Dodatkowo zastosowanie oleju z nasion rokitnika zmniejsza ilość produktów peroksydacji lipidów oraz podwyższa poziom fosfolipidów i wolnych kwasów tłuszczowych po napromieniowaniu UV, co sugeruje, iż może być on postrzegany jako obiecujący naturalny związek fotoochronny skóry [23]. Inni autorzy wskazali również, iż ekstrakty z rokitnika zwiększają syntezę prokolagenu, zmniejszają ekspresję MMP-1, a także hamują wytwarzanie interleukiny IL-1 β i IL-6 oraz cyklooksygenazy-2 (COX-2) w ludzkich fibroblastach napromieniowanych UVB. Wyniki te wskazują więc, że zarówno ekstrakty, jak i oleje z nasion tej rośliny mogą być postrzegane jako potencjalny środek terapeutyczny mogący znaleźć zastosowanie w zapobieganiu i leczeniu fotostarzenia skóry [24].

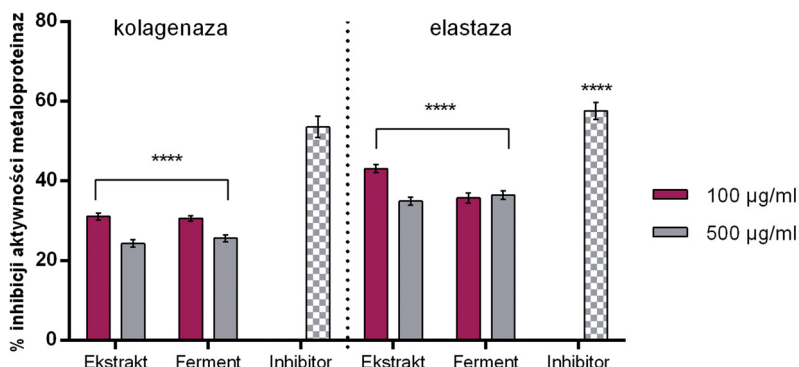


Wykres 1. Ocena cytotoksyczności badanych ekstraktów i fermentów na keratynocyty HaCaT (A) oraz fibroblasty BJ (B).

Figure 1. Assessment of cytotoxicity of tested extracts and ferments to HaCaT keratinocytes (A) and BJ fibroblasts (B).

Oznaczenie aktywności hamowania metaloproteinaz

Ludzka skóra zbudowana jest z trzech głównych warstw: naskórka, skóry właściwej oraz warstwy podskórnej [25]. Najbardziej zewnętrzną część stanowi macierz zewnątrzkomórkowa (ECM – *extracellular matrix*), wypełniająca przestrzeń między komórkami skóry [26]. W skład ECM wchodzi włókna kolagenowe i elastynowe wytwarzane przez fibroblasty, glikozaminoglikany (głównie kwas hialuronowy) oraz glikoproteiny. Macierz zewnątrzkomórkowa jest swoistą barierą, która z jednej strony kontroluje przepływ związków odżywczych w głąb skóry, a z drugiej stanowi barierę ochronną dla czynników zewnętrznych, takich jak promieniowanie UV. Ze względu na pełnione funkcje jej degradacja jest ściśle związana ze starzeniem skóry [27]. Na drodze do utrzymania prawidłowej struktury ECM stają dwa enzymy hydrolizujące białka macierzy metaloproteiny: kolagenaza oraz elastaza, które przyczyniają się do degradacji włókien kolagenowych i elastynowych, prowadząc do utraty jędrności i do starzenia się skóry [28]. Wiele ekstraktów roślinnych wykazuje działanie hamujące aktywność tych enzymów [29]. Wykres 2 przedstawia zdolność badanych ekstraktów i fermentów o stężeniach 100 i 500 µg/ml do hamowania aktywności kolagenazy i elastazy. W przypadku inhibicji aktywności kolagenazy zarówno dla ekstraktu, jak i fermentu wyniki oscylują na poziomie 30% dla stężenia 100 µg/ml oraz 20% dla stężenia 500 µg/ml. Wartości aktywności hamowania elastazy zarówno dla ekstraktów, jak i fermentów są zbliżone i wynoszą około 35%, z wyjątkiem ekstraktu o stężeniu 100 µg/ml. Wartości procentowe aktywności hamowania metaloproteinaz porównano z powszechnie stosowanymi inhibitorami. Otrzymane wyniki wykazały umiarkowaną zdolność hamowania metaloproteinaz, co więcej, fermentowany ekstrakt z owoców rokitnika może być równie dobrym co ekstrakt surowcem stosowanym w produktach kosmetycznych o działaniu przeciwstarzeniowym.



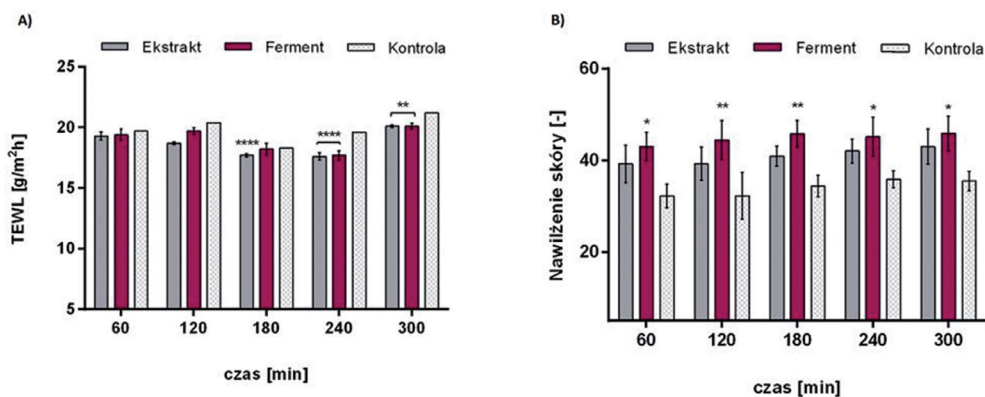
Wykres 2. Oznaczenie hamowania metaloproteinaz: kolagenazy oraz elastazy przez analizowane ekstrakty oraz fermenty z rokitnika zwyczajnego.

Figure 2. Determination of the inhibition of metalloproteinases: collagenase and elastase by the analyzed sea buckthorn extracts and ferments.

Oznaczenie transepidermalnej ucieczki wody z naskórka (TEWL) oraz nawilżenia skóry

Stopień nawilżenia skóry jest nierozzerwalnie związany z transepidermalną ucieczką wody z naskórka, gdyż oba te parametry ściśle ze sobą korelują. Skóra nawilżona wolniej oddaje wodę, a tym samym pozostaje lepiej odżywiona i elastyczna. W wyniku przeprowadzonych badań można zauważyć, że zarówno ekstrakt, jak i ferment z owoców rokitnika zwyczajnego wpływają pozytywnie na ograniczenie transepidermalnej ucieczki wody z naskórka w porównaniu do kontroli (wykres 3A). Badania przeprowadzono po 60, 120, 180, 240 i 300 min od nałożenia próby badanej na skórę. Wyniki wykazały, że wraz z czasem maleje poziom TEWL w stosunku do kontroli, przy czym porównując ekstrakt i ferment, nie zauważono istotnych zmian.

Analizując wpływ badanych ekstraktów i fermentów z rokitnika na poziom nawilżenia skóry, można zaobserwować jego znaczący wzrost w przypadku obu badanych próbek (wykres 3B). Zarówno ekstrakt, jak i ferment z rokitnika wpływają korzystnie na wzrost nawilżenia skóry, natomiast w przypadku fermentu wzrost ten jest wyższy w porównaniu do ekstraktu i utrzymuje się w czasie trwania całej analizy. Nasze doniesienia potwierdzają badania nad ekstraktem z rokitnika, w których wykazano jego pozytywne działanie na skórę, dzięki obecności związków biologicznie czynnych [30].



Wykres 3. Wpływ badanego ekstraktu oraz fermentu na TEWL (A) oraz poziom nawilżenia skóry (B) w czasie 5 h.

Figure 3. The effect of the tested extract and ferment on TEWL (A) and the level of skin hydration (B) within 5 hours.

Podsumowanie

Dzięki szerokiej gamie związków biologicznie aktywnych rokitnik zwyczajny jest surowcem szeroko stosowanym w przemyśle kosmetycznym. Dodatkowo na rynku kosmetycznym pojawia się coraz więcej ekstraktów roślinnych fermentowanych mikroorganizmami, takimi jak: *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. czy grzybem herbacianym SCOBY. Badania wykazały, że ekstrakty, jak i fermenty z owoców rokitnika stanowią uniwersalny surowiec kosmetyczny, który może pełnić wiele funkcji jednocześnie.

Ekstrakt z rokitnika redukuje liczbę wolnych rodników, pozytywnie wpływa na żywotność i metabolizm komórek skóry, hamuje hydrolityczne działanie metalopeptydaz takich jak elastaza i kolagenaza, wspomagając zachowanie jędrnej i napiętej skóry, a także pozytywnie wpływa na stopień nawilżenia skóry i ograniczenie transepidermalnej ucieczki wody z naskórka. Właściwości te mają ogromne znaczenie dla zapobiegania procesowi starzenia się skóry, redukcji powstałych zmarszczek oraz wpływają na ogólną kondycję skóry poprzez utrzymanie jej bariery ochronnej, co jest ściśle związane z regulacją jej mikroflory bakteryjnej, jak również istotne dla zapobiegania stanom zapalnym prowadzącym do powstawania trądziku lub innych schorzeń dermatologicznych.

Literatura

- [1] Żuchowski J., Phytochemistry and pharmacology of sea buckthorn (*Elaeagnus rhamnoides*; syn. *Hippophae rhamnoides*): progress from 2010 to 2021, *Phytochemistry Reviews*, 2022, 1, s. 1–31.
- [2] Zając A., Zając M., Bróz E., Atlas rozmieszczenia roślin naczyniowych w Polsce, Pracownia Chorologii Komputerowej Instytutu Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków 2001.
- [3] Ivanišová E., Blašková M., Terentjeva M., Grygorieva O., Vergun O., Brindza J., Kačániová M., Biological Properties of Sea Buckhorn (*Hippophae rhamnoides* L.) derived products, *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 2020, 19, s. 195–205.
- [4] Hou Z., Zhao L., Wang Y., Liao X., Purification and Characterization of Superoxide Dismutases from Sea Buckthorn and Chestnut Rose, *Journal of Food Science*, 2019, 84, s. 746–753.
- [5] Tkacz K., Chmielewska J., Turkiewicz I.P., Nowicka P., Wojdyło A., Dynamics of changes in organic acids, sugars and phenolic compounds and antioxidant activity of sea buckthorn and sea buckthorn-apple juices during malolactic fermentation, *Food Chemistry*, 2020, 332, 127382.
- [6] Ziemlewska A., Nizioł-Łukaszewska Z., Zagórska-Dziok M., Bujak T., Evaluation of Cosmetic and Dermatological Properties of Kombucha-Fermented Berry Leaf Extracts Considered to Be By-Products, *Molecules*, 2022, 27(7), s. 2345.

- [7] Janceva S., Andersone A., Lauberte L., Bikovens O., Nikolajeva V., Jashina L., Zaharova N., Telysheva G., Senkovs M., Rieksts G., Ramata-Stunda A., Krasilnikova J., Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) Waste Biomass after Harvesting as a Source of Valuable Biologically Active Compounds with Nutraceutical and Antibacterial Potential, *Plants*, 2022, 11(5), s. 642.
- [8] Kubczak M., Khassenova A.B., Skalski B., Michlewska S., Wielanek M., Skłodowska M., Aralbayeva A.N., Nabiyeva Z.S., Murzakhmetova M.K., Zamaraeva M., Bryszewska M., Ionov M., *Hippophae rhamnoides* L. leaf and twig extracts as rich sources of nutrients and bioactive compounds with antioxidant activity, *Scientific Reports*, 2022, 12, s. 1–14.
- [9] Balkrishna A., Sakat S.S., Joshi K., Joshi K., Sharma V., Ranjan R., Bhattacharya K., Varshney A., Cytokines driven anti-inflammatory and anti-psoriasis like efficacies of nutraceutical sea buckthorn (*hippophae rhamnoides*) oil, *Frontiers in Pharmacology*, 2019, 10, s. 1–15.
- [10] Dudau M., Codrici E., Tarcomnicu I., Mihai S., Popescu I.D., Albuiescu L., Constantin N., Cucolea I., Costache T., Rambu D., Enciu A.M., Hinescu M.E., Tanase C., A Fatty Acid Fraction Purified From Sea Buckthorn Seed Oil Has Regenerative Properties on Normal Skin Cells, *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12, s. 1–10.
- [11] Smida I., Pentelescu C., Pentelescu O., Sweidan A., Oliviero N., Meuric V., Martin B., Colceriu L., Bonnaure-Mallet M., Tamanai-Shacoori Z., Benefits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) pulp oil-based mouthwash on oral health, *Journal of Applied Microbiology*, 2019, 126, s. 1594–1605.
- [12] Fatima T., Kesari V., Watt I., Wishart D., Todd J.F., Schroeder W.R., Paliyath G., Krishna P., Metabolite profiling and expression analysis of flavonoid, Vitamin C and tocopherol biosynthesis genes in the antioxidant-rich sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.), *Phytochemistry*, 2015, 118, s. 181–191.
- [13] Draelos Z.D., Diaz I., Cohen A., Mao J., Boyd T., A novel skin brightening topical technology, *Journal of Cosmetic Dermatology*, 2020, 19, s. 3280–3285.
- [14] Ji M., Gong X., Li X., Wang C., Li M., Advanced research on the antioxidant activity and mechanism of polyphenols from hippophae species – a review, *Molecules*, 2020, 25, s. 917.
- [15] Brand-Williams M.E.C., Cuvelier M.E., Berse C., Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, *Food Science and Technology*, 1995, 28(1), s. 25–30.
- [16] Raudonė L., Liaudanskas M., Vilkickytė G., Kviklys D., Žvikas V., Viškėlis J., Viškėlis P., Phenolic profiles, antioxidant activity and phenotypic characterization of *Lonice-ra caerulea* l. Berries, cultivated in Lithuania, *Antioxidants*, 2021, 10, s. 1–15.
- [17] Borenfreund E., Puerner J.A., A simple quantitative procedure using monolayer cultures for cytotoxicity assays (HTD/NR-90), *Journal of Tissue Culture Methods*, 1985, 9, s. 7–9.
- [18] Rösch D., Bergmann M., Knorr D., Kroh L.W., Structure-antioxidant efficiency relationships of phenolic compounds and their contribution to the antioxidant activity of sea buckthorn juice, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(15), s. 42.
- [19] Morgenstern A., Ekholm A., Scheewe P., Rumpunen K., Changes in content of major Phenolic compounds during leaf development of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.), *Agricultural. Food Science*, 2014, 23, s. 207–219.

- [20] Raudone L., Puzerytė V., Vilkickytė G., Niekytė A., Lanauskas J., Viskelis J., Viskelis P., Sea buckthorn leaf powders: The impact of cultivar and drying mode on antioxidant, phytochemical, and chromatic profile of valuable resource, *Molecules*, 2021, 26, s. 4765.
- [21] Dienaitė L., Pukalskas A., Pukalskienė M., Pereira C.V., Matias A.A., Venskutonis P.R., Phytochemical composition, antioxidant and antiproliferative activities of defatted sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berry pomace fractions consecutively recovered by pressurized ethanol and water, *Antioxidants*, 2020, 9(4), s. 274.
- [22] Kumar P., Nagarajan A., Uchil P.D., Analysis of cell viability by the alamarblue assay, *Cold Spring Harbor Protocols*, 2018, 6, s. 462–464.
- [23] Gęgotek A., Jastrzab A., Jarocka-Karpowicz I., Muszyńska M., Skrzydlewska E., The effect of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil on UV-induced changes in lipid metabolism of human skin cells, *Antioxidants*, 2018, 7(9), s. 110.
- [24] Kim H., Cho H., Seo Y.K., Kim S., Yoon M.Y., Kang H., Park C.S., Park J.K., Inhibitory effects of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed on UVB-induced photoaging in human dermal fibroblasts, *Biotechnology Bioprocess Engineering*, 2012, 17, s. 465–474.
- [25] Marte B., Finkelstein J., Anson L., *Skin Biology*, Nature, 2007, 445, s. 833.
- [26] Olczyk P., Mencner Ł., Komosińska-Vassev K., The role of the extracellular matrix components in cutaneous wound healing, *BioMed Research International*, 2014, 747584, s. 12–14.
- [27] Farage M.A., Miller K.W., Elsner P., Maibach H.I., Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: A review, *International Journal of Cosmetic Science*, 2008, 30, s. 87–95.
- [28] Shirzad M., Hamed J., Motevaseli E., Modarressi M.H., Anti-elastase and anti-collagenase potential of Lactobacilli exopolysaccharides on human fibroblast, *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 2018, 46, s. 1051–1061.
- [29] Jiratchayamaethasakul C., Ding Y., Hwang O., Im S.T., Jang Y., Myung S.W., Lee J.M., Kim H.S., Ko S.C., Lee S.H., *In vitro* screening of elastase, collagenase, hyaluronidase, and tyrosinase inhibitory and antioxidant activities of 22 halophyte plant extracts for novel cosmeceuticals, *Fisheries and Aquatic Sciences*, 2020, 23, s. 1–9.
- [30] Yao Q., Jia T., Qiao W., Gu H., Kaku K., Unsaturated fatty acid-enriched extract from *Hippophae rhamnoides* seed reduces skin dryness through up-regulating aquaporins 3 and hyaluronan synthetases 2 expressions, *Journal of Cosmetocs Dermatology*, 2021, 20, s. 321–329.

Do cytowania:

Ziemlewska A., Klimczak K., Zagórska-Dziok M., Nizioł-Łukaszewska Z., Porównanie właściwości kosmetycznych i dermatologicznych ekstraktu oraz fermentu z owoców rokitnika zwyczajnego otrzymanego w procesie fermentacji z wykorzystaniem grzyba herbacianego kombuchy, *Herbalism*, 2023, 1(9), s. 67-82.

Masłosz Parka *Vitellaria paradoxa* jako źródło cennego surowca kosmetycznego

Shea tree *Vitellaria paradoxa* as a source of valuable cosmetic raw material

Wiktoria Simka¹, Katarzyna Kowalik²

¹ Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Botaniki Farmaceutycznej i Ziolarstwa, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Ostrogórska 30, 41-200 Sosnowiec

² Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej i Ziolarstwa, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Ostrogórska 30, 41-200 Sosnowiec

Słowa kluczowe: działanie przeciwstarzeniowe, masło shea, naturalne kosmetyki, skóra, surowiec kosmetyczny, właściwości antyutleniające

Keywords: anti-aging effect, antioxidant activity, cosmetic substance, natural cosmetics, shea butter, skin

Streszczenie

Masłosz Parka *Vitellaria paradoxa* jest rośliną, która należy do rodziny sączyńcowatych *Sapotaceae* i występuje w Afryce Subsaharyjskiej. Wykazuje wiele zastosowań, a najbardziej popularna jest ze względu na tłuszcz otrzymany z owoców. Nazywa się go masłem shea i wykorzystuje m.in. jako surowiec kosmetyczny. Dzięki obecności licznych substancji biologicznie czynnych masło shea ma szereg dobroczynnych właściwości. Wpływa korzystnie na skórę oraz jej przydatki, działając przede wszystkim nawilżająco, ochronnie, przeciwzapalnie i antyoksydacyjnie. Masło shea wykorzystywane jest do produkcji kosmetyków różnego przeznaczenia – do pielęgnacji skóry, włosów i paznokci – a także produktów leczniczych. Wielu producentów oferuje kosmetyki z masłem shea w składzie. Niniejsza praca przeglądowa przedstawia aktualne informacje dotyczące gatunku *Vitellaria paradoxa* jako źródła cennego surowca stosowanego w preparatach kosmetycznych.

Abstract

Shea tree *Vitellaria paradoxa* is a plant that belongs to *Sapotaceae* family and is found in sub-Saharan Africa. It has many uses but it is best known for the fat obtained from its fruit. The fat is called shea butter and is used, inter alia, as a cosmetic

substance. Due to the presence of numerous biologically active substances, shea butter has a number of beneficial properties. It has a positive effect on the skin and its appendages, having a moisturizing, protective, anti-inflammatory and antioxidant effect. Shea butter is used in the production of cosmetics for various purposes – for skincare, haircare and nail care – as well as medicinal products. On the market there is a wide range of manufacturers offering cosmetics with shea butter in the composition. This review work presents up-to-date information on the *Vitellaria paradoxa* species and as a source of valuable cosmetic raw material used in cosmetic preparations.

Wstęp

Surowce roślinne od najdawniejszych czasów były stosowane w medycynie do leczenia i prewencji wielu chorób [1]. Obecnie ich właściwości terapeutyczne są coraz częściej doceniane zarówno w dziedzinie medycyny, jak i prężnie rozwijającej się kosmetologii. W związku z rosnącą świadomością konsumentów popularne stało się również wybieranie naturalnych kosmetyków, których składniki pochodzą ze zrównoważonych źródeł. Do takich składników, zapewniających znaczące korzyści dla skóry, można zaliczyć masło shea – tłuszcz roślinny pozyskiwany z nasion masłosza Parka, który pielęgnuje skórę oraz chroni ją przed przedwczesnym starzeniem [2].

Masłosz Parka *Vitellaria paradoxa* C.F. Gaertn. jest gatunkiem pochodzącym z Afryki Subsaharyjskiej, którego właściwości wykorzystywane są tam od tysięcy lat. Każda część rośliny – kora, liście, korzenie, owoce – wykazuje inne zastosowanie terapeutyczne. Na przykład masło shea wykorzystywane jest jako pokarm, środek leczniczy czy kosmetyczny. Stosowane jest w kosmetykach do pielęgnacji skóry oraz włosów [1].

Celem pracy było zebranie i przedstawienie aktualnych informacji na temat drzewa masłosza Parka i jego zastosowania jako źródła cennego surowca kosmetycznego.

Charakterystyka gatunku *Vitellaria paradoxa*

Masłosz Parka *Vitellaria paradoxa* C.F. Gaertn., zwany również drzewem masłowym, po angielsku *shea butter tree*, a w języku francuskim *karité* [2–5], to gatunek należący do rodziny sączyńcowatych *Sapotaceae* [3, 4, 6, 7]. Gatunki tej rodziny charakteryzuje powolny wzrost i odporność na suche warunki klimatyczne; stanowią bogate źródło steroidów, terpenoidów i garbników, a w ich korze, gałęziach, liściach i owocach występuje lateks [8, 9].

Gatunek *Vitellaria paradoxa* został po raz pierwszy opisany w 1807 r. przez Carla Friedricha von Gaertnera. Łacińska nazwa rośliny *Butyrospermum Parkii* pochodzi od nazwiska odkrywcy, dzięki któremu w XVIII w. gatunek ten dotarł do Europy. Był nim Mungo Park – szkocki badacz i podróżnik, który eksplorował kontynent afrykański [4, 7]. Z upływem lat nazwa rośliny ulegała zmianom, a obecnie obowiązująca wprowadza podział gatunku *Vitellaria paradoxa* na dwa podgatunki – aktualnie najbardziej popularny i rozpowszechniony *Vitellaria paradoxa* subsp. *paradoxa* oraz *Vitellaria paradoxa* subsp. *nilotica* [6, 10]. Podgatunki różnią się nieznacznie wyglądem i występowaniem, jednak wykorzystywane są w tym samym celu [3, 5, 6].

Masłosz Parka jest drzewem liściastym z rozłożystą koroną, rosnącym do wysokości 25 m. Dojrzałe drzewa mają średnicę wynoszącą nawet 1 m, a ich kora jest gruba, podłużnie i głęboko spękana. Liście osadzone są spiralnie i skupione na końcach grubych gałązek. Są podłużne i mają jajowaty kształt. Błyszcząca i ciemnozielona. Kwiat jest obupłciowy i pięciokrotny, występuje w barwie białej lub kremowobiałej i charakteryzuje się intensywnym zapachem, podobnym do zapachu heliotropu. Utworzone na końcach gałązek kwiatostany mogą liczyć nawet ponad 100 kwiatów. Średnica pojedynczego kwiatu to około 1,5 cm. Kwiaty podgatunku *nilotica* są na ogół większe niż podgatunku *paradoxa* i posiadają grubsze i gęstsze włoski na łodygach [3–5]. Owoce to mięsiste, eliptyczne jagody wielkości brzoskwini. Są barwy żółtej lub żółtozielonej i zawierają zwykle po jednym, czasem dwa czerwono-brązowe nasiona, które w języku potocznym bywają nazywane orzechami shea, co jednak nie jest poprawne według nomenklatury botanicznej. Masłosz Parka jest drzewem długowiecznym, może żyć nawet 300 lat, a raz w roku obficie owocuje. Jednak do pierwszego owocowania dochodzi po około 10 latach życia rośliny [3, 4, 11].

Masłosz Parka występuje głównie w półpustynnym pasie sawanny, rozciągającym się na południe od Sahelu w całej Afryce Subsaharyjskiej, od Mali po Sudan i Ugandę. Podgatunek *paradoxa* jest bardziej popularny w Afryce Zachodniej, z kolei *nilotica* dominuje w Afryce Wschodniej [2, 3, 5, 6, 11]. Najwięcej drzew masłosza występuje w Nigerii [12].

Zastosowanie gatunku *Vitellaria paradoxa*

Masłosz Parka wykorzystywany jest w przemyśle cukierniczym, farmaceutycznym i kosmetycznym. Z drewna masłosza wytwarza się węgiel drzewny o bardzo wysokiej jakości i wydajności, a jego owoce dostarczają kalorii i stanowią odżywczy pokarm dla lokalnej ludności [1, 3]. Liście, korzenie, owoce i kora *Vitellaria paradoxa* na przestrzeni wieków były stosowane w medycynie tradycyjnej do leczenia różnych chorób i dolegliwości [13]. Obecnie nadal wykorzystuje się je

do leczenia m.in. bólu brzucha, bólu głowy, gorączki i żółtaczki. Preparaty otrzymywane z kory i liści stosowane są w leczeniu problemów skórnych, takich jak suchość, oparzenia, owrzodzenia czy zapalenie skóry [3].

Vitellaria paradoxa jest rośliną najbardziej cenioną ze względu na pozyskiwany z owoców tłuszcz nazywany masłem shea, który jest powszechnie stosowany jako emolient do pielęgnacji skóry [2, 14]. W Afryce masło shea od dawna jest wykorzystywane przede wszystkim jako tłuszcz jadalny o właściwościach korzystnych dla ludzkiego organizmu, ale także jako lek oraz kosmetyk do pielęgnacji skóry. Do Europy sprowadzone zostało w XVIII w., początkowo głównie w celu produkcji świec i mydeł, a obecnie wykorzystywane jest przede wszystkim jako surowiec kosmetyczny [4, 5, 13]. Chociaż tzw. orzechy shea są ważnym i pożądanym towarem, nie istnieją komercyjne plantacje masłosza. Praktycznie wszystkie owoce na rynku międzynarodowym zbierane są z drzew rosnących we wsiach krajów Afryki Zachodniej [2, 4, 15].

Charakterystyka masła shea

Z nasion masłosza Parka ekstrahuje się tłuszcz nazywany masłem shea [2, 3, 6, 15, 16]. Surowe masło w stanie stałym ma postać miękkiej, kremowej pasty o barwie od białej przez beżową do żółtawej, a nawet żółtawej z lekkim zielonym odcieniem. Różnorodność kolorów jest normalna, nie stanowi wady i nie wpływa na jakość masła. Może wynikać ze sposobu pozyskiwania substancji. Masło shea ulega topnieniu w temperaturze ciała, zatem łatwo rozpuszcza się w dłoniach. Wówczas przyjmuje brązowawy odcień i konsystencję płynnego oleju. Nieprzetworzone surowe masło posiada charakterystyczny delikatny zapach, często opisywany jako lekko orzechowy [1, 6, 7, 13, 14, 16].

Sposoby pozyskiwania tłuszczu z nasion masłosza Parka różnią się w zależności od regionu. Ekstrakcja masła shea wymaga dużego nakładu pracy i składa się z wielu etapów, które mają wpływ na jego jakość. Tradycyjne metody pozyskiwania masła przebiegają w naturalnych warunkach i nie wykorzystują żadnych związków chemicznych w celu przyspieszenia tego procesu. W afrykańskich wioskach od wieków kobiety zajmują się produkcją masła shea, samodzielnie wykonując wszystkie czynności [3, 5]. Współcześnie produkcja masła shea na szeroką skalę odbywa się z wykorzystaniem nowoczesnej technologii i bardziej wydajnych procesów przy użyciu odpowiedniej przemysłowej infrastruktury [1, 17].

Surowe masło shea, poza tradycyjnymi metodami, może zostać także pozyskane mechanicznie, enzymatycznie lub chemicznie. Ostatnia z metod wykorzystuje rozpuszczalniki chemiczne (najczęściej eter naftowy lub n-heksan), których użycie przyspiesza proces produkcji oraz zwiększa jego wydajność, jednakże wpływa nie-

korzystnie na jakość uzyskanego masła, obniżając efektywność lub kompletnie niwelując lecznicze właściwości tej substancji. Ponadto, ze względów bezpieczeństwa, po ekstrakcji chemicznej wymagane jest poddanie masła rafinacji [18]. Rafinacja to proces oczyszczania metodami fizycznymi i/lub chemicznymi, w wyniku którego oleje pozbawiane są substancji zapachowych, smakowych i kolorystycznych, a także cennych, delikatnych substancji, takich jak witaminy czy mikro- i makroelementy. Głównym celem rafinacji jest przedłużenie trwałości produktu. Masło shea poddane takiemu procesowi jest twarde i białe, pozbawione wielu substancji bioaktywnych i właściwości leczniczych, ale zachowuje właściwości nawilżające [14, 19].

Skład chemiczny masła shea

Masło shea składa się z dwóch komponentów – frakcji zmydlającej i niezmydlającej. Skład masła zależy od jego pochodzenia geograficznego i botanicznego, obróbki nasion i ich przetwarzania oraz warunków przechowywania [6, 13].

Frakcja zmydlająca stanowi 90% masy masła i składa się głównie z trójglicerydów i kwasów tłuszczowych. Wykazano, że najbardziej dominującymi z szesnastu występujących w maśle kwasów tłuszczowych są kwasy: oleinowy, stearynowy, palmitynowy, linolowy i arachidonowy [1, 11, 13, 16]. Owoce podgatunku *paradoxa* wykazują wyższą zawartość kwasu stearynowego, ale niższą – oleinowego, w wyniku czego masło jest bardziej zwarte. Z kolei *nilotica* ma owoce bogatsze w kwas oleinowy, a uboższe w kwas stearynowy, czego rezultatem jest bardziej płynne masło [5, 12].

Frakcja nieulegająca zmydlaniu odpowiedzialna jest za właściwości lecznicze masła. Składa się przede wszystkim z alkoholi triterpenowych, steroli, fenoli i tokoferoli [1, 11, 15, 16].

Alkohole triterpenowe lub triterpeny to naturalnie występujące związki organiczne, które stanowią główny składnik frakcji niezmydlającej masła shea. Zalicza się do nich przede wszystkim α -amyrynę, β -amyrynę, butyrospermol i lupeol. Związki te charakteryzują się właściwościami przeciwzapalnymi. W maśle shea występują w formach estrów uzyskanych przy użyciu kwasów cytrynowego oraz octowego [1, 2, 11]. Choć obecne są też w wielu innych roślinach, nasiona masłosza zawierają ich wyjątkowo dużo, dzięki czemu masło shea jest tak cenną substancją leczniczą. Istnieją badania wykazujące, że surowiec podgatunku *paradoxa* zawiera więcej tych biologicznie czynnych składników niż *nilotica* [11].

Tokoferole to pochodne α -tokoferolu, które wykazują podobne właściwości fizjologiczne i wspólnie określane są mianem witaminy E. Są głównymi przeciwutleniaczami w ludzkich komórkach, chroniąc przede wszystkim wielonienasycone kwasy tłuszczowe i fosfolipidy budujące błony komórkowe, oraz pełniąc ważną rolę w ochronie przed stresem oksydacyjnym. Witamina E jest rozpuszczalna

w tłuszczach i działa antyoksydacyjnie, stabilizując nienasycone kwasy tłuszczowe. W zależności od metylacji pierścienia benzenowego wyróżnia się cztery formy – α , β , γ i δ -tokoferol; wszystkie występują w maśle shea. Ilość tokoferoli wzrasta wraz ze wzrostem temperatury otoczenia, co związane jest ze strefą klimatyczną, z której pochodzi masło [4, 11, 20].

Polifenole to duża grupa związków należąca do fenoli. Związki polifenolowe, podobnie jak tokoferole, wykazują silne właściwości antyoksydacyjne, a co za tym idzie – przeciwzapalne, przeciwnowotworowe i przeciwwirusowe. Źródła podają różną ilość głównych związków fenolowych w maśle shea, ale do najważniejszych z nich na pewno można zaliczyć kwas galusowy, katechinę, epikatechinę, galokatechinę, kwercetynę, rutynę, arbutynę i kwas trans-cynamonowy. Stężenie polifenoli w maśle shea zależy od metody jego pozyskiwania [6, 11, 15, 21, 22].

Niezmydlająca się frakcja masła shea zawiera również niewielką część steroli [3, 11, 16]. Zalicza się do nich m.in. α -spinasterol, β -sitosterol, stigmasterol, kampesterol i γ -7-awenasterol [15, 21].

W maśle shea można znaleźć też alantoinę i węglowodór kariten [4, 6, 15] oraz makroelementy (wapń, magnez, azot, potas) i mikroelementy (żelazo, cynk, miedź, mangan) [3, 11].

Właściwości i zastosowanie masła shea

Masło shea współcześnie znalazło zastosowanie w wielu dziedzinach życia i przemysłu. Przez lokalną ludność afrykańską wykorzystywane jest jako produkt spożywczy nadający charakterystyczny smak tradycyjnym potrawom [3, 5]. W przemyśle spożywczym stanowi zamiennik masła kakaowego i wykorzystywane jest do produkcji czekolady [2, 5, 14, 16, 18]. Z masła shea produkuje się również margarynę, świece, mydła czy farby [6, 13, 16, 18, 23]. Najnowsze źródła wspominają zastosowanie masła shea lub produktów pośrednich procesu jego otrzymywania jako biodiesła, czyli rodzaju biopaliwa. Potencjalnym wykorzystaniem masła shea może być również produkcja bioetanolu, biogazu, materiałów biodegradowalnych czy bionawozu [12, 23].

W pierwszej połowie XIX w., kiedy masło shea było popularnym towarem importowanym do Europy, przeprowadzono liczne badania kliniczne dotyczące stosowania masła shea w pielęgnacji skóry. Zaobserwowano, że w populacjach stosujących masło shea choroby skóry są rzadkim problemem, a sama skóra jest wyjątkowo jędrna i gładka [7]. Właśnie dzięki korzystnemu wpływowi na skórę i jej przydatki w Europie i na Zachodzie masło shea używane jest głównie w kosmetyce [5].

Kosmetyczne wykorzystanie masła shea wynika przede wszystkim z obecnej w jego składzie frakcji niezmydlającej, której zawartość jest znacznie większa niż w przypadku innych olejów roślinnych. Składowe tej frakcji odpowiadają za właści-

wości lecznicze i kosmetyczne masła, tak bardzo pożądane i chętnie wykorzystywane w kosmetologii [3, 11, 16]. Masło shea często występuje jako składnik aktywny kosmetyków, ale skutecznie działa również w czystej postaci [16]. Bez ograniczeń może być stosowane cały rok, chroniąc skórę przed niekorzystnym wpływem czynników zewnętrznych, takich jak wiatr, chłód czy promieniowanie słoneczne [5]. Wykorzystywane jest w preparatach kosmetycznych na szeroką skalę. Występuje przede wszystkim jako składnik balsamów, maści i kremów ochronnych. Sprawdza się w pielęgnacji skóry oraz jej przydatków – włosów i paznokci [5, 11]. Wykazuje wiele korzystnych właściwości, które są wynikiem jego stosowania miejscowego [16].

Masło shea dzięki obecności kwasów tłuszczowych działa przede wszystkim nawilżająco i ochronnie. Wykazuje właściwości emolientyjne, dobrze wiąże wodę i szybko wchłania się w skórę [1, 2, 16, 21]. Emolienty (od łac. *mollire* – zmiękczać) są środkami nawilżającymi, które zmiękcżają skórę, poprawiają jej funkcję barierową, działając okluzyjnie i natłuszczająco, oraz łagodzą suchość, świąd i stan zapalny [24]. Stwierdzono, że masło shea chroni skórę przed transepidermalną utratą wody (TEWL) lepiej niż olej mineralny [21]. Jako preparat nawilżający sprawdza się zarówno do skóry, jak i włosów [1, 5, 16]. Naturalne masło shea, poza tym że jest doskonałym środkiem nawilżającym, wykazuje również wyjątkowe właściwości wspomagające procesy gojenia skóry. Jest skuteczne w przypadku skóry suchej, szorstkiej i łuszczącej się, łagodzi objawy podrażnień posłonecznych, ukąszeń owadów czy zapalenia skóry, wspomaga gojenie drobnych ran i pęknięć, a zastosowane jako preparat po goleniu, wygładza i koi skórę [1, 18].

Masło shea sprawdza się również w pielęgnacji skóry dziecka. W Afryce w tym celu używane jest od najdawniejszych czasów. Zapewnia nawilżenie skóry dziecka, a także koi ją i odżywia. Dzięki zawartym kwasom tłuszczowym i witaminom łagodzi podrażnienia i stanowi barierę ochronną dla skóry pod pieluszką [5]. Polecane jest także do stosowania przez kobiety w ciąży w celu zapobiegania wystąpieniu rozstępów, czyli zmian skórnych powstających w wyniku nadmiernego mechanicznego rozciągania skóry właściwej i jej degradacji. Wykazano, że masło shea nawilża skórę, zwiększając jej elastyczność i tym samym zmniejszając prawdopodobieństwo wystąpienia rozstępów [1, 5, 25].

Właściwości przeciwzapalne masła shea wynikają przede wszystkim z obecności triterpenów, a zwłaszcza α - i β -amyryny, oraz polifenoli [3, 11, 16, 26]. α -amyryna aplikowana miejscowo hamuje reakcje zapalne skóry, dzięki czemu ograniczone są zjawiska takie jak powstawanie obrzęków, migracja leukocytów i wzrost stężenia interleukiny (IL) 1β w tkankach [1, 16]. IL- 1β wraz z IL- 1α i kilkunastoma innymi interleukinami należy do rodziny cytokin, czyli białkowych cząsteczek regulujących odpowiedź immunologiczną i biorących udział w reakcjach stanu zapalnego

[27, 28]. Wykazano, że alkohole triterpenowe nawet przy niskich stężeniach przejawiają działanie przeciwzapalne, które powoduje zmniejszenie uwalniania wewnątrzkomórkowego mediatora prozapalnego, jakim jest IL-1 α . Przeciwzapalne działanie znajdujących się w masle shea octanów oraz cynamonianów triterpenów jest porównywalne do działania indometacyny należącej do niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) [2].

Ogólne właściwości przeciwzapalne masła shea uwarunkowane są jego działaniem supresyjnym względem mediatorów prozapalnych, takich jak cyklooksygenaza-2 (COX-2), indukowalna syntaza tlenu azotu (iNOS) oraz cytokiny [1, 2]. Działanie takie wykazują zarówno alkohole triterpenowe, jak i polifenole. Ponadto stwierdzono, że polifenole mają zdolność do hamowania syntezy interferonu γ (INF- γ), czynnika TNF- α i reaktywnych form tlenu (RFT) oraz blokowania aktywności enzymów skórnych, takich jak hialuronidaza, kolagenaza i elastaza, a także czynnika jądrowego NF- κ B, którego zwiększona aktywność wiąże się z postępującym stanem zapalnym [26, 29].

Kwasy tłuszczowe są niezbędne do produkcji prostaglandyn, tromboksanów, prostacyklin i leukotrienów, które są związkami zaangażowanymi m.in. w procesy kontrolujące stan zapalny [30].

Składniki frakcji niezmydlającej masła shea, posiadając cechy filtrów chemicznych, wykazują zdolność pochłaniania promieniowania ultrafioletowego (UV), szczególnie w zakresie długości fali od 250 do 300 nm [1, 15, 16, 24]. W tym zakresie mieści się promieniowanie UV-B (290–320 nm), które bezpośrednio oddziałuje na DNA komórki, będąc główną przyczyną zmian nowotworowych w obrębie skóry powstałych pod wpływem promieniowania ultrafioletowego i nasilając objawy fotostarzenia skóry. Estry cynamonowe triterpenów wykazują silne właściwości absorbujące promienie UV, wykazano jednak, że zapewniają one ochronę przeciwsłoneczną na poziomie zaledwie SPF (ang. *sun protection factor*) 3–6. Właściwość ta daje jednak możliwość użycia masła shea w preparatach przeciwsłonecznych dodatkowo, w celu zwiększenia absorpcji szkodliwego promieniowania UV-B oraz wykorzystania innych, pielęgnujących, właściwości masła [1, 4, 11, 16].

Istnieją badania kliniczne, które potwierdzają zdolność masła shea do redukcji oznak starzenia i przeciwdziałania fotostarzeniu skóry. Przeciwdziałanie właściwości wynikają ze zdolności do zwiększania produkcji kolagenu. Kolagen wraz z elastyną są głównymi białkami strukturalnymi skóry, które odpowiadają za jej jędrność i elastyczność. Zdolność pobudzania produkcji kolagenu przypisuje się głównie alkoholom triterpenowym, które inaktywują enzymy proteolityczne, takie jak kolagenaza czy elastaza, które rozkładają odpowiednie białka [1, 4, 11, 16]. Kwasy tłuszczowe i sterole obecne w masle shea mogą przyczyniać się do pośredniego

splęcenia zmarszczek, ze względu na swoje działanie polegające na pobudzaniu procesów odnowy komórkowej [5, 13]. Ponadto masło shea, działając przeciwrumieniowo i ochronnie względem promieni UV, wspomaga regenerację komórek i przyczynia się do wygładzenia skóry [1, 16].

W kontekście kosmetologicznym antyoksydanty odpowiadają za usuwanie wolnych rodników, których działanie oksydacyjne niekorzystnie wpływa na kondycję skóry. Do związków antyoksydacyjnych zawartych w maśle shea zalicza się α -tokoferol i polifenole, które tworzą drugą linię obrony przed wolnymi rodnikami. Wolne rodniki aktywowane są pod wpływem m.in. niekorzystnych warunków zewnętrznych, np. zanieczyszczeń środowiskowych lub promieniowania ultrafioletowego. Wywołują one stres oksydacyjny, powodujący uszkodzenia kolagenu i elastyny, lipidów błon komórkowych oraz DNA, co przyczynia się do przedwczesnego starzenia i zwiększenia ryzyka wystąpienia choroby nowotworowej skóry. Nie bez powodu zatem witamina E została nazwana „witaminą młodości” [4, 11, 31].

Kwasy tłuszczowe zapewniają również działanie ochronne. Przestrzenie między komórkami w warstwie rogowej naskórka wypełniają ceramidy, czyli lipidy zbudowane m.in. z kwasów tłuszczowych. Ceramidy tworzą tzw. cement międzykomórkowy, który pełni rolę ochronnej bariery skóry. Istnieją badania, które w przypadku pacjentów chorujących na charakteryzujące się niedoborem ceramidów atopowe zapalenie skóry (AZS) potwierdzają, że masło shea wykazuje taką samą skuteczność jak produkt będący prekursorem ceramidów. Można zatem wnioskować, że masło shea odbudowuje barierę ochronną skóry, zapewniając jej nawilżenie i przyspieszając regenerację [32].

Dzięki doskonałym właściwościom okluzyjnym masło shea jest składnikiem kosmetyków ochronnych, przede wszystkim kremów dla skóry suchej i wrażliwej, którą zabezpiecza przed szkodliwym działaniem czynników zewnętrznych [4].

Masło shea przejawia również właściwości przeciwbakteryjne, które pomagają w procesach naprawczych uszkodzonej skóry. Działa dezynfekująco i przyspiesza regenerację, dzięki obecności witaminy E i pochodnych kwasu cytrynowego. Istnieją badania wykazujące istotne znaczenie lupeolu działającego m.in. przeciwdrobnoustrojowo [2, 5].

Przeciwwskazania do stosowania masła shea

Nie ma doniesień o reakcjach alergicznych wywołanych spożyciem lub miejscowym stosowaniem tej substancji. Badania przeprowadzone przez Mount Sinai School of Medicine z Nowego Jorku w 2010 r. wykazały, że nasiona masłosza Parka i masło shea zawierają bardzo mało rozpuszczalnych białek wiążących immunoglobuliny klasy E (IgE). Aktywność tych białek może być dodatkowo ograniczona ze

względu na wysoką zawartość tłuszczu i obecność lateksu w nasionach. Dzięki temu masło shea jest bezpieczne do stosowania nawet u osób z alergią na orzechy i u dzieci. Ponadto zawarte w maśle shea triterpeny działają przeciwzapalnie, a zatem hamują reakcje nadwrażliwości, do których zalicza się reakcje alergiczne wywoływane IgE [1, 16, 33].

Masło shea w preparatach kosmetycznych

Na rynku dostępnych jest mnóstwo kosmetyków, których składnikiem jest masło shea. Są to kosmetyki wszelakiego przeznaczenia – do pielęgnacji twarzy, ciała, włosów, paznokci. Substancja ta występuje w nich często jako bazowy składnik aktywny, czyli taki, który stanowi podstawę kosmetyku niosącą wiele korzystnych właściwości.

Masło shea najczęściej jest składnikiem kremów do skóry suchej i wrażliwej, preparatów dla skóry dojrzałej o właściwościach przeciwzmarszczkowych i produktów regenerujących, np. po opalaniu. Znajduje też zastosowanie w produktach przeciwrostępom i cellulitowi, kremach do stóp i rąk, balsamach ochronnych do ust czy w preparatach do masażu. Często wchodzi w skład szamponów, odżywek i masek do włosów, zarówno suchych i łamliwych, poddawanych zabiegom farbowania czy prostowania, jak i kręconych, które wymagają intensywnego nawilżenia [1, 4, 5].

Literatura

- [1] Maanikuu P.M.I., Peker K., Medicinal and Nutritional Benefits from the Shea Tree (*Vitellaria Paradoxa*), Journal of Biology, Agriculture and Healthcare, 2017, 7(22), s. 51–57.
- [2] Anderson A.C., Alander J., Shea Butter Extract for Bioactive Skin Care, Cosmetics & Toiletries, 2015, 6, s. 18–25.
- [3] Choungou Nguekeng P.B., Hendre P., Tchoundjeu Z., Kalousová M., Tchanou Tchapda A.V., Kyereh D., Masters E., Lojka B., The Current State of Knowledge of Shea Butter Tree (*Vitellaria paradoxa* C.F. Gaertner.) for Nutritional Value and Tree Improvement in West and Central Africa, Forests, 2021, 12, s. 1740–1766.
- [4] Lamer-Zarawska E., Chwała C., Gwardys A., Rośliny w kosmetyce i kosmetologii przeciwstarzeniowej, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2012.
- [5] Koudoro Y.A., Konfo T.R.C., Bakrou O.D.E., Félicien A., Dahouenon-Ahoussi E., Souhounhloue D., Valorization of *Vitellaria paradoxa* butter in cosmetics and agrifood in Africa, GSC Advanced Research and Reviews, 2022, 10(1), s. 96–104.
- [6] Abagale S.A., Oseni L.A., Abagale F.K., Chemical Analyses of Shea Butter from Northern Ghana: Assessment of Six Industrially Useful Chemical Properties, Journal of Chemical Engineering and Chemistry Research, 2016, 3(1), s. 953–961.
- [7] Goreja W.G., Shea butter. The Nourishing Properties of Africa's Best-Kept Natural Beauty Secret, Amazing Herbs Press, Nowy Jork 2004.

- [8] Zomlefer W.B., Guide to Flowering Plant Families, The University of North Carolina Press, Chapel Hill 1994.
- [9] Swenson U., Anderberg A.A., Phylogeny, character evolution, and classification of *Sapotaceae* (*Ericales*), *Cladistics*, 2005, 21, s. 101–130.
- [10] Lovett P.N., Natural butters: fractionation alternatives, *Personal Care*, 2014, 2, s. 49–52.
- [11] Honfo F.G., Akissoe N., Linnemann A.R., Soumanou M., Van Boekel M.A., Nutritional Composition of Shea Products and Chemical Properties of Shea Butter: A Review, *Food Science and Nutrition*, 2014, 54(5), s. 673–686.
- [12] Ogunsola A.D., Durowoju M.O., Alade A.O., Jekayinfa S.O., Ogunkunle O., Modeling and optimization of two-step shea butter oil biodiesel synthesis using snail shells as heterogeneous base catalysts, *Energy Advances*, 2022, 1(2), s. 113–128.
- [13] Adamu H.M., Ushie O.A., Nansel E., Okon J.E., Esenowo G., Etim G., Umoh N.U., Edet E.V., Ganesh K.S., Sundaramoorthy P., Baskaran L., Rajesh M., Rajasekaran S.A., Essiett U., Unung I., Antimicrobial Activity of Oil from *Butyrospermum parkii* Seed (Shea Butter), *International Journal of Modern Biology and Medicine*, 2013, 3(2), s. 50–59.
- [14] Saadawi S., Alennabi K.A., Mughrbi H.N., Lotfi K., Abdalnabi N.S.A., Physical Properties, Antibacterial and Antioxidant Properties of Raw South Africa Shea Butter against Samples from Libyan Market, *International Journal of Progressive Sciences and Technologies*, 2020, 20(1), s. 194–200.
- [15] Maranz S., Wiesman Z., Garti N., Phenolic Constituents of Shea (*Vitellaria paradoxa*) Kernels, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51, s. 6268–6273.
- [16] Oluwaseyi M., Effects of topical and dietary use of shea butter on animals, *American Journal of Life Sciences*, 2014, 2(5), s. 303–307.
- [17] Jasaw G.S., Saito O., Takeuchi K., Shea (*Vitellaria paradoxa*) Butter Production and Resource Use by Urban and Rural Processors in Northern Ghana, *Sustainability*, 2015, 7, s. 3592–3614.
- [18] Abdul-Mumeen I., Didia B., Abdulai A., Shea butter extraction technologies: Current status and future perspective, *African Journal of Biochemistry Research*, 2019, 13(2), s. 9–22.
- [19] Wroniak M., Kwiatkowska M., Krygier K., Charakterystyka wybranych olejów tłoczonych na zimno, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, 2(47), s. 46–58
- [20] Allal F., Piombo G., Bokary A., Kelly B.A., Okullo J.B.L., Thiam M., Diallo O.B., Nyarko G., Davrieux F., Lovett P.N., Bouvet J-M., Fatty acid and tocopherol patterns of variation within the natural range of the shea tree (*Vitellaria paradoxa*), *Agroforestry Systems*, 2013, 87(5), s. 1065–1082.
- [21] Ayanlowo O., Cole-Adeife O., Ebie C., Ilomuanya M., Shea butter as skin, scalp, and hair moisturizer in Nigerians, *Dermatologic Therapy*, 2021, 34(2), e14863.
- [22] Sadowska A., Świdorski F., Kromołowska R., Polifenole – źródło naturalnych przeciwutleniaaczy, *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 2011, 1, s. 108–111.
- [23] Musah M., Umar M.T., Alkali M., Preliminary Studies on Biofuel Potentials of Shea Nut Cakes in Niger State, Nigeria, *Caliphate Journal of Science and Technology*, 2021, 1, s. 76–82.
- [24] Kaczmarczyk-Sedlak I., Ciołkowski A., *Zioła w medycynie. Choroby skóry, włosów i paznokci. Tom 2*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2020.

- [25] Bogdan C., Iurian S., Tomuta I., Moldovan M., Improvement of skin condition in striae distensae: development, characterization and clinical efficacy of a cosmetic product containing *Punica granatum* seed oil and *Croton lechleri* resin extract, *Drug Design, Development and Therapy*, 2017, 11, s. 521–531.
- [26] Owczarek K., Fichna J., Lewandowska U., Aktywność przeciwzapalna związków polifenolowych, *Postępy Fitoterapii*, 2017, 18(1), s. 17–23.
- [27] Dinarello C.A., Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity, *Immunological Reviews*, 2018, 281(1), s. 8–27.
- [28] Piłat D., Mika J., Rola cytokin z rodziny interleukiny-1 w transmisji nocycyptywnej, *Ból*, 2014, 15(4), s. 39–47.
- [29] Narożna M., Krajka-Kuźniak V., Czynniki transkrypcyjny NF- κ B jako terapeutyczny punkt uchwytu, *Farmacja Współczesna*, 2019, 12, s. 92–101.
- [30] Garti H., Agbemaflle R., Mahunu G.K., Physicochemical Properties And Fatty Acid Composition Of Shea Butter From Tamale, Northern Ghana, *UDS International Journal of Development*, 2019, 6(3), s. 34–40.
- [31] Czerwonka W., Puchalska D., Zarzycka-Bienias R., Lipińska M., Witek R., Habrat A., Południak S., Zastosowanie witaminy E w kosmetologii, *Kosmetologia Estetyczna*, 2019, 8(1), s. 13–16.
- [32] Wiśniowska J., Dzierżewicz Z., Balwierz R., Ceramidy – budowa i ich znaczenie w warstwie lipidowej naskórka, *Kosmetologia Estetyczna*, 2019, 8(4), s. 451–456.
- [33] Chawla K.K., Bencharitiwong R., Ayuso R., Grishina G., Nowak-Wegrzyn A., Shea butter contains no IgE-binding soluble proteins, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2011, 127(3), s. 680–682.

Do cytowania:

Simka W., Kowalik K., Masłosz Parka *Vitellaria paradoxa* jako źródło cennego surowca kosmetycznego, *Herbalism*, 2023, 1(9), s. 83–94.

Potencjał antyoksydacyjny wodnych ekstraktów z kwiatów roślin jagodowych

Antioxidant potential of water extracts from flowers of berry plants

Agnieszka Wysokińska¹, Iwona Wawer², Katarzyna Paradowska³

¹ Koło Naukowe „Free Radicals” przy Zakładzie Chemii Organicznej i Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny, WUM, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

² Państwowa Akademia Nauk Stosowanych w Krośnie, Rynek 1, 38-400 Krosno

³ Zakład Chemii Organicznej i Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny, WUM, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa, e-mail: katarzyna.paradowska@wum.edu.pl

Słowa kluczowe: aronia, czarny bez, porzeczka czarna i czerwona, FRAP, ABTS, DPPH, ORAC

Keywords: chokeberry, elderberry, black and red currant, FRAP, ABTS, DPPH, ORAC

Streszczenie

Stres oksydacyjny jest jedną z przyczyn przeciążenia i nieskuteczności działania systemu obronnego organizmu. Czynnikiem aktywującym stres oksydacyjny są rodniki. Ważną rolę w zmniejszeniu uszkodzeń spowodowanych reaktywnością rodników pełnią antyoksydanty żywieniowe, których dostarczanie ma charakter prewencyjny, opóźniając proces utleniania. Przykładami surowców zawierających duże ilości antyoksydantów są owoce jagodowe, w tym aronii i bzu czarnego. Natomiast kwiaty aronii, porzeczki czarnej oraz porzeczki czerwonej nie były do tej pory powszechnym materiałem badawczym. Oznaczenia polifenoli ogółem (TP) metodą Folina-Ciocalteu oraz zastosowanie testów FRAP, ABTS⁺, DPPH i ORAC, wykonanych dla ekstraktów wodnych otrzymanych z kwiatów aronii, porzeczki czarnej i czerwonej oraz czarnego bzu pozwoliły na określenie ich aktywności przeciwutleniającej. Spośród badanych ekstraktów z liofilizatów kwiatów największą aktywność antyoksydacyjną wykazuje aronia, mniejszą – porzeczka czarna, jeszcze mniejszą – bez czarny, a najmniejszą – porzeczka czerwona. Na podstawie uzyskanych wyników wykazano, że istnieje korelacja pomiędzy zawartością związków polifenolowych a aktywnością antyoksydacyjną. Wyniki są istotne ze względu na możliwości wykorzystania kwiatów jako źródła polifenoli i innych naturalnych antyoksydantów.

Summary

The oxidative stress is one of the causes of overload and ineffectiveness of the body's defense system. The factor that activates oxidative stress are radicals. An important role in reducing damage caused by the reactivity of radicals is played by dietary antioxidants, the supply of which is preventive, delaying the oxidation process. Examples of raw materials containing large amounts of antioxidants are the berry fruits, including chokeberry (or simply aronia) and elderberry. However, chokeberry, black currant and red currant flowers have not been a common research material so far. The aim of the study was to analyze the antioxidant properties of water extracts obtained from chokeberry, black currant, red currant and elderberry flowers by determining the total polyphenol content (TP) using the Folin-Ciocalteu method and the FRAP, DPPH, ORAC, and ABTS⁺ tests. Antioxidant properties of the extracts of lyophilized flowers decrease in the order: aronia > black current > elderberry > red currant. According to our results, there is a relationship between total polyphenolics content and antioxidant activity of the extracts. These results are important from the perspective of utilization of berry flowers, which might be potential sources of phenolics and other natural antioxidants.

Wstęp

Stres oksydacyjny jest jedną z przyczyn przeciążenia i nieskuteczności w działaniu systemu obronnego organizmu. Czynnikiem aktywującym stres oksydacyjny są rodniki, które są bardzo reaktywne i powodują liczne uszkodzenia lipidów, białek czy DNA, co przyczynia się do powstawania zespołów chorobowych – chorób cywilizacyjnych. Źródłem reaktywnych form tlenu (RFT) (z ang. *reactive oxygen species*, ROS) są nie tylko zjawiska atmosferyczne czy przemysł, ale także podstawowe procesy fizjologiczne, np. oddychanie komórkowe. RFT są naturalnymi produktami metabolizmu, jednak w przypadku gdy ich liczba znacznie wzrośnie, dochodzi do niszczenia struktur komórkowych, a co za tym idzie – powstawania patologii i rozwoju schorzeń, często o charakterze przewlekłym.

Organizm człowieka posiada system ochronny, który stanowią antyoksydanty endogenne neutralizujące reaktywne formy tlenu. Ważną rolę w zmniejszeniu uszkodzeń spowodowanych utlenianiem pełnią także antyoksydanty żywieniowe, których dostarczanie ma charakter prewencyjny. Już nawet w niewielkich stężeniach związki te chronią lub znacznie opóźniają proces utleniania. Są to substancje roślinne o różnej budowie chemicznej. Jednym z głównych źródeł przeciwutleniających w diecie są owoce. Ponadto inne części roślin, takie jak kwiaty, liście i kora, powszechnie stosowane w medycynie tradycyjnej, także są bogate w składniki o działaniu przeciwutleniającym [1–4].

Od wieków rośliny stanowiły dla ludzi jedno z najważniejszych źródeł substancji o charakterze leczniczym. Były one wykorzystywane w celu leczenia chorób, usmierzania bólu czy zapobiegania różnym dolegliwościom. Poza lekami roślinnymi stosowane były także leki pochodzenia mineralnego oraz zwierzęcego. Leki roślinne wciąż zajmują ważne miejsce wśród leków ujętych w oficjalnym wykazie leków. Na rynku zachodnim około 35% leków jest pochodzenia roślinnego [5], ale zaledwie 0,1% substancji roślinnych jest wykorzystywana do uzyskania leków, czyli pochodzi z dobrze poznanych i zbadanych gatunków roślin. Dlatego też preparaty roślinne są postrzegane jako nieograniczony materiał do badań [6].

Poszerzanie wiedzy o szkodliwości wolnych rodników skłania do poszukiwania substancji mogących wspomóc naturalną obronę antyoksydacyjną organizmu. Z tego względu jednym z wiodących kierunków badań surowców roślinnych jest ich analiza pod kątem właściwości antyoksydacyjnych. Badane są te z nich, które od dawna są stosowane w ziołolecznictwie i medycynie naturalnej, jak i te wykorzystywane we współczesnej fitoterapii. Poszukiwane są także nowe surowce, potencjalnie stanowiące wydajniejsze źródło naturalnych antyoksydantów, w tym polifenoli, mogące znaleźć zastosowanie przy produkcji preparatów leczniczych, suplementów diety czy kosmetyków o właściwościach przeciwutleniających [3].

Przykładami surowców zawierających duże ilości antyoksydantów są owoce roślin jagodowych, w tym aronii i bzu czarnego. Cieszą się one ogromnym zainteresowaniem, o czym mogą świadczyć liczne publikacje na ich temat. Natomiast kwiaty aronii, porzeczki czarnej oraz porzeczki czerwonej nie były do tej pory dokładnie zbadane. Nadal nie poznano w pełni ich składu ani profilu substancji odpowiedzialnych za działanie biologiczne, w tym działanie przeciwrodnikowe. Wiadomo natomiast, że tak jak większość kwiatów zawierają one znaczne ilości flawonoidów, substancji szeroko wykorzystywanych zarówno w lecznictwie, jak i w kosmetologii. Mogą być one stosowane jako czyste, wyselekcjonowane substancje, ale także jako cały zespół związków w ekstraktach standaryzowanych. Ponadto ze względu na synergizm działania poszczególnych składników wyciągi mogą wykazywać większą aktywność niż wyizolowany pojedynczy związek. Ponieważ poznano już skład i profil substancji odpowiedzialnych za właściwości kwiatów bzu czarnego, posłużyły one w badaniach jako odniesienie [1, 7, 8].

Celem pracy było określenie potencjału antyoksydacyjnego ekstraktów wodnych otrzymanych z kwiatów aronii, porzeczki czarnej i czerwonej oraz czarnego bzu poprzez oznaczenie zawartości polifenoli ogółem metodą Folina-Ciocalteu (TP) oraz zastosowanie testu FRAP, ABTS⁺, DPPH oraz ORAC.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły ekstrakty z kwiatów krzewów owocowych, należących do roślin jagodowych:

- czarnego bzu (*Sambucus nigra*),
- aronii (*Aronia melanocarpa*),
- czarnej porzeczki (*Ribes nigrum*),
- czerwonej porzeczki (*Ribes rubrum*).

Materiał w postaci kwiatów został zebrany w okresie kwitnienia (czyli od kwietnia do początku lipca), zamrożony, a następnie poddany procesowi liofilizacji (liofilizator Christ Alpha 1-4 LSC basic / 2-4 LSC basic, czas trwania procesu – 48 godzin). Próbkę liofilizowano w temp. -25°C przy próżni 0,63 mBar. Liofilizaty zostały przeniesione do młynka laboratoryjnego i zmielone (2×15 s). Tak przygotowane próbki przechowywane były w eksykatorze ze środkiem zabezpieczającym przed wilgocią.

Przygotowanie ekstraktów

Do kolbki o pojemności 200 ml odważono 1 g rozdrobnionego liofilizatu i zalano 100 ml gorącej wody destylowanej (temp. 99°C). Następnie kolbki umieszczono w łaźni wodnej (100°C) na 30 min. Po tym czasie mieszane były na mieszadle magnetycznym przez 30 min. W kolejnym kroku próbki zostały przesączone pod zmniejszonym ciśnieniem przez lejek Schotta zaopatrzonego w sączone bibułowy. Objętość otrzymanego przesącza została zanotowana, a następnie odparowano go do sucha przy użyciu wyparki próżniowej Heidolph (temp. 40°C , obroty 60 rpm/min).

Do czasu analizy odparowane ekstrakty przechowywano w zamrażarce, a do analiz rozpuszczano je w wodzie Millipore o objętości 10 ml. Podział ekstraktów i ich numeracje stosowane w opisie przedstawia Tabela 1.

Tabela 1. Numeracja ekstraktów zastosowana do badanych próbek w pracy.

Table 1. The numbering of extracts applied to the tested samples in the work.

Numer próbki	Wodne ekstrakty z kwiatów
1	czarny bez
2	aronia
3	czerwona porzeczka
4	czarna porzeczka

Źródło: badanie własne.

Oznaczanie aktywności przeciwutleniającej

Oznaczanie całkowitej aktywności przeciwutleniającej w warunkach *in vitro* wykorzystuje zdolność antyoksydantów do dezaktywacji wolnych rodników. W przeprowadzonych badaniach stosowane były metody wykorzystujące zarówno mechanizm HAT (ang. *hydrogen atom transfer*), jak i SET (ang. *single elektron transfer*). Do metod z zastosowaniem mechanizmu HAT (polegającego na przeniesieniu pojedynczego elektronu) zaliczamy metodę FRAP oraz z wykorzystaniem testów DPPH i ABTS.

Test ORAC jest metodą, w której wykorzystywany jest mechanizm HAT (polegający na przeniesienia atomu wodoru) [3].

Oznaczanie związków polifenolowych ogółem metodą spektroskopową z odczynnikiem Folina-Ciocalteu (F-C)

Oznaczenie wykonano metodą Folina-Ciocalteu z małymi modyfikacjami przy użyciu spektrofotometru UV-Vis Evolution 60. Podstawą oznaczania jest odwracalna reakcja redukcji związków fenolowych, zachodząca w alkalicznym środowisku molibdenianu (VI) sodu, będącego składnikiem odczynnika Folina-Ciocalteu (F-C). Maksimum absorpcji związku powstałego na skutek reakcji redoks występuje przy długości fali 765 nm. Do sporządzenia krzywej wzorcowej wykorzystano standardowo wodny roztwór wyjściowy kwasu galusowego o stężeniu 0,5 g/100 ml.

Obliczenia zostały wykonane na podstawie równania otrzymanego dla krzywej wzorcowej wykonanej dla kwasu galusowego (równanie: $y = 0,0009x + 0,0164$, gdzie y – oznacza absorbancję próbki, zaś x – stężenie kwasu galusowego [mg/l]). Współczynnik determinacji 0,99. W każdej próbie wykonano pomiar trzykrotnie.

Oznaczenie aktywności antyoksydacyjnej metodą FRAP

(z ang. the ferric reducing ability of plasma; ferric reducing antioxidant power)

Metoda FRAP pozwala na oznaczenie aktywności antyoksydacyjnej z zastosowaniem mechanizmu SET. Polega ona na bezpośrednim określeniu redukcyjnych zdolności mieszaniny substancji poprzez redukcję jonów żelaza. W wyniku reakcji z bezbarwnego odczynnika powstaje niebieski produkt wykazujący maksimum absorpcji przy długości fali 593 nm [3].

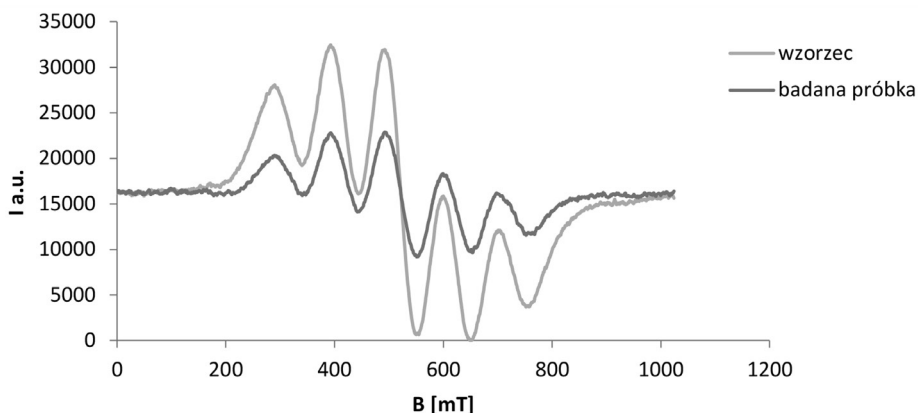
Pomiar wykonano z użyciem spektrofotometru UV-Vis Evolution 60. Do sporządzenia krzywej wzorcowej użyty został wzorcowy roztwór siarczanu (VI) żelaza (II). Równanie krzywej wzorcowej (zależność absorbancji (593 nm) od stężenia FeSO_4 $\mu\text{mol/L}$) to równanie liniowe: $y = 0,0011x - 0,0852$ gdzie y – absorbancja (przy długości fali 593 nm), x – stężenie FeSO_4 ($\mu\text{mol/L}$).

Oznaczenie aktywności antyoksydacyjnej z zastosowaniem rodnika ABTS* [2,2'-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian)]

Metoda ta polega na określeniu stopnia zmiatania rodników ABTS powstałych uprzednio w wyniku reakcji chemicznych. Rodniki te mają barwę niebieskozieloną, a na skutek aktywności antyoksydantów dochodzi do redukcji kationorodnika i roztwór się odbarwia [3, 9]. Badanie polega na pomiarze spadku intensywności barwy przy użyciu spektrofotometru UV-Vis. Pomiar absorbancji wykonywany był przy długości fali 734 nm, dokładnie w 6. minucie od momentu wprowadzenia roztworu ABTS do badanej próbki. Jako odnośnik zastosowany był czysty metanol. Krzywą wzorcową sporządzono, wykorzystując roztwór wzorcowy troloksu kwas 6-hydroksy-2,5,7,8-tetrametylochroman-2-karboksylowy w ilości 13 mg troloksu (TE) w 50 ml metanolu. Równanie krzywej wzorcowej wykorzystane do obliczeń ma postać: $y = -0,0042x + 0,644$, gdzie y – absorbancja (przy długości fali 734 nm), x – stężenie TE ($\mu\text{mol/L}$).

Oznaczenie całkowitej aktywności przeciwutleniającej z wykorzystaniem testu z rodnikiem DPPH

Pomiar wykonywany był z wykorzystaniem metody spektroskopii paramagnetycznego rezonansu jądrowego (EPR) z użyciem spektrometru MiniScope MS200. Roztwór rodnika o stężeniu 12,5 mg/50 ml został rozcieńczony metanolem i pozostawiony na 24 godziny w lodówce. Kolbka została zabezpieczona przed światłem folią aluminiową. Następnie ustalone zostały proporcje zmieszania roztworu DPPH z analitem i po 30 min wykonano pomiary. Pierwsze widmo zarejestrowano dla roztworu rodnika (wzorca), a następnie dla wszystkich próbek. Przykładowy zestaw widm dla roztworu wyjściowego DPPH i próbki przedstawiono na Rycinie 1.



Rycina 1. Widma EPR dla rodnika DPPH.

Figure 1. EPR spectra of free radicals DPPH.

Źródło: badanie własne.

Oznaczenie całkowitej aktywności przeciwutleniającej z wykorzystaniem testu ORAC

Pomiar wykonywany był z wykorzystaniem fluorymetru, mierzącego spadek intensywności fluorescencji. Do sporządzenia krzywej wzorcowej użyto roztworu wzorcowego troloksu w ilości 25 mg TE, który rozpuszczono w buforze PBS (roztwór soli fizjologicznej, ang. *Phosphate-buffered saline*) o pH = 7,4). Wyznaczone równanie z krzywej wzorcowej to to: $y = 0,2022 + 1,0102x$, przy $R = 0,99$.

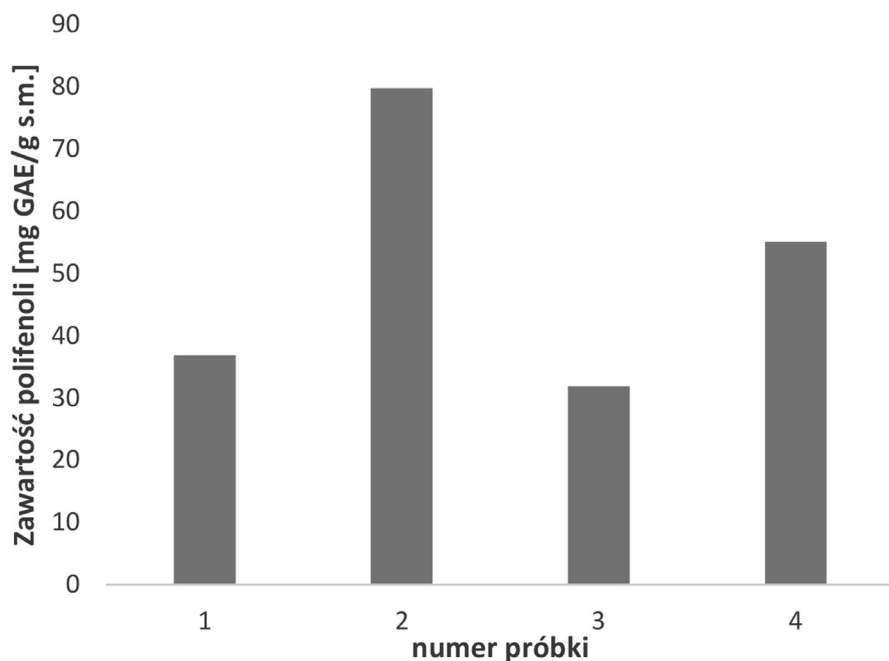
Wyniki i dyskusja

Ekstrakty pochodzenia roślinnego są bogatym źródłem bioaktywnych, często unikalnych kompozycji składników o właściwościach przeciwutleniających. Są to związki mające zastosowanie zarówno w leczeniu (w profilaktyce i wspomaganiu leczenia), kosmologii, jak i w przemyśle spożywczym. Ze względu na synergizm działania składników występujących w ekstraktach mogą one cechować się lepszymi właściwościami, w tym antyoksydacyjnymi, niż wyizolowane pojedyncze substancje.

Źródłem tych składników są poszczególne części roślin: owoce, korzenie, kłącza, kora a także kwiaty. W kwiatach roślin jagodowych najliczniej występującymi polifenolami są flawonoidy. Jednak ich aktywność antyoksydacyjna nie może być bezpośrednio porównana z aktywnością, jaką wykazują rozwijające się z nich owoce. Jest to spowodowane obecnością w owocach związków polifenolowych o charakterze barwników – antocyjanów. Wykazano, że obecność dużej ilości tych związków wiąże się ze szczególnie silnymi właściwościami antyoksydacyjnymi ciemnych jagód.

Zawartość antocyjanów w kwiatkach jest znikoma [10], jednakże zawierają one inne flawonoidy posiadające także silne właściwości przeciwutleniające, co daje możliwość pozyskania nowego surowca roślinnego. Mogą być one wykorzystywane w podobnych wskazaniach jak kwiaty zawierające znaczne ilości polifenoli (głóg, lipa, bez czarny), chociażby jako herbaty ziołowe, wskazane przy narażeniu na chroniczny stres, preparaty napotne i moczopędne czy jako składniki kosmetyków naturalnych [7, 11, 12].

Oznaczenie całkowitej zawartości polifenoli wykonano metodą Folina-Ciocalteu. Uzyskane wyniki zostały wyrażone w miligramach kwasu galusowego na 1 g ekstraktu (Rycina 2).



Rycina 2. Całkowita zawartość polifenoli (TP) w wodnych ekstraktach, gdzie: 1 – bez czarny, 2 – aronia, 3 – porzeczka czerwona, 4 – porzeczka czarna.

Figure 2. Total content of polyphenols (TP) in aqueous extracts, where: 1 – elderberry, 2 – chokeberry, 3 – redcurrant, 4 – blackcurrant.

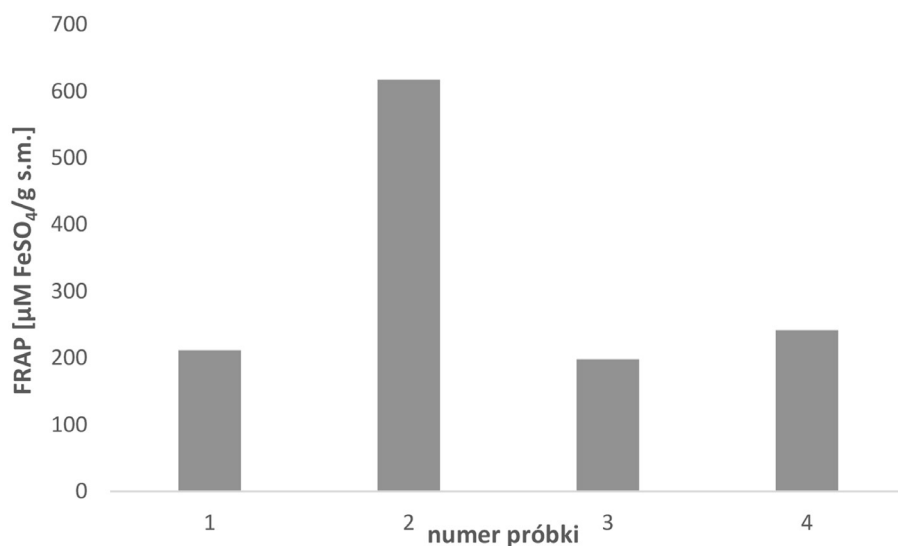
Źródło: badanie własne.

Stwierdzono, że najwięcej polifenoli ogółem występuje w ekstraktach wodnych z kwiatów aronii (próbka 2), prawie 80 mg/g suchej masy, więcej niż w kwiatach czarnego bzu. Według Kołodziej i Drożdżał [1], ekstrakt wodny z kwiatów bzu czarnego zebranych na terenie Podlasia zawierał dużo polifenoli, bo aż 53,33 mg w przeliczeniu na gram suchej masy. Jednak wartość ta może dotyczyć zarówno suchej masy kwiatów, jak i suchej masy ekstraktu. Ponadto dane z piśmiennictwa odnoszą się do innego sposobu suszenia kwiatów (materiał suszono w temp. 45°C i mielono z użyciem młynka IKA M20 (Labart), nie liofilizowano), a także innej metody otrzymania ekstraktów (wodna ekstrakcja przy użyciu ekstraktora mikrofalowego MARS 5 firmy Varian) [1].

Według Kołodziej i Drożdżał [1], ekstrakty z owoców bzu charakteryzowały się mniejszą zawartością polifenoli niż ekstrakty z kwiatów. W przypadku ekstraktu wodnego z owoców bzu czarnego zawartość polifenoli wynosiła 35,73 mg/g s.m. Ekstrakty wodne z owoców aronii zawierały 19,77 mg GAE/g surowca, co stanowiło w przybliżeniu tylko 25% zawartości związków polifenolowych w stosunku do ekstraktu z kwiatów aronii. Podobnie było w przypadku ekstraktu z owoców porzeczki

czarnej, w którym zawartość polifenoli ogółem [13] była nieco większa i wynosiła 30,91 mg/g, co stanowiło około 50% zawartości polifenoli ogółem w odniesieniu do uzyskanego w pracy wyniku ekstraktu z kwiatów porzeczki czarnej.

Oznaczenie aktywności antyoksydacyjnej metodą FRAP w ekstraktach wodnych w przeliczeniu na 1 g s.m. wraz z odchyleniami standardowymi przedstawiono na Rycinie 3.



Rycina 3. Zdolność redukcji jonów żelaza FRAP wodnych ekstraktów z liofilizowanych kwiatów bzu czarnego (1), aronii (2) oraz porzeczki czerwonej (3) i czarnej (4).

Figure 3. The ability to reduce FRAP iron ions of water extracts from freeze-dried flowers of elderberry (1), chokeberry (2), red currant (3) and black currant (4).

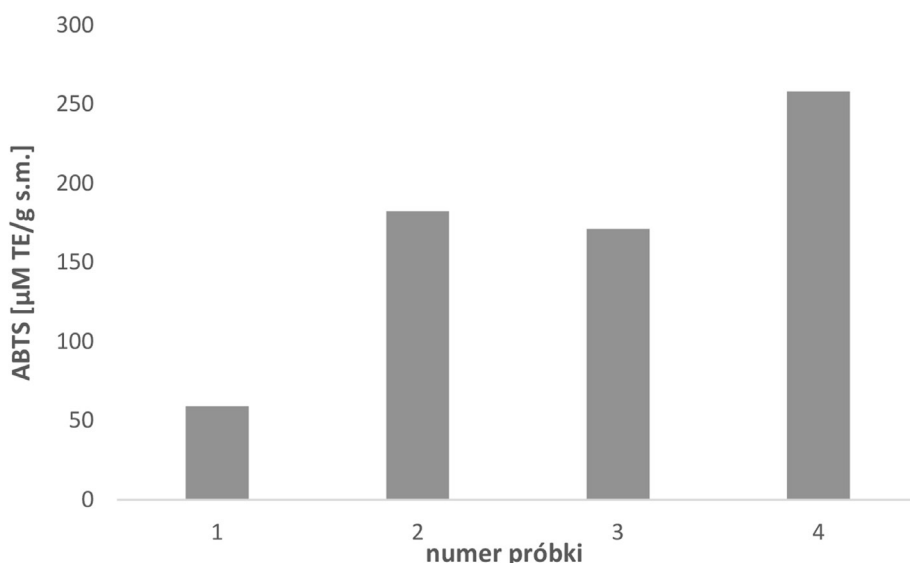
Źródło: badanie własne.

Z przeprowadzonych badań wynika, że istniały różnice we właściwościach przeciwutleniających między ekstraktami, co prawdopodobnie jest spowodowane zróżnicowanym składem poszczególnych ekstraktów i różną ich trwałością (rozpuszczalnik stanowiła woda). Przyczyną tego może być także rozkład przeciwutleniaczy w czasie przechowywania. Niemniej jednak najsilniejszą aktywność antyoksydacyjną zachował ekstrakt z kwiatów aronii. Znacznie słabszą aktywność wykazywały pozostałe ekstrakty. W przypadku metody FRAP można zauważyć, że dla pozostałych ekstraktów, to znaczy z kwiatów bzu czarnego oraz czerwonej i czarnej porzeczki, wartości były zbliżone.

Aktywność antyoksydacyjna uzyskana metodą FRAP ekstraktu wodnego z kwiatów bzu jest niższa w porównaniu z wynikami, które otrzymali Kołodziej i wsp. [1]. Przyczyną tego może być zarówno inny sposób suszenia kwiatów, jak i odmienna metoda przygotowania ekstraktów. Porównując natomiast wyniki

uzyskane dla ekstraktów z kwiatów bzu czarnego z aktywnością przeciwutleniającą ekstraktów z owoców podaną w literaturze (232,4 $\mu\text{M FeSO}_4/\text{g s.m.}$) [1], można wywnioskować, że kwiaty charakteryzują się większą ilością substancji o charakterze antyoksydacyjnym niż rozwijające się z nich owoce.

Test z wykorzystaniem rodnika ABTS określa zdolność antyoksydacyjną poprzez porównanie zmian absorbancji badanej próbki z wartością zmiany absorbancji roztworu wzorcowego troloksu (TE) z wykorzystaniem spektrofotometru UV-Vis. Oznaczenie aktywności antyoksydacyjnej z wykorzystaniem testu ABTS w ekstraktach wodnych w przeliczeniu na 1 g suchej masy przedstawiono na wykresie (Rycinie 4).



Rycina 4. Zdolność redukcji rodnika ABTS wodnych ekstraktów z liofilizowanych kwiatów bzu czarnego (1), aronii (2) oraz porzeczki czerwonej (3) i czarnej (4).

Figure 4. The ability to reduce the ABTS radical of water extracts from freeze-dried flowers of elderberry (1), chokeberry (2), red currant (3) and black currant (4).

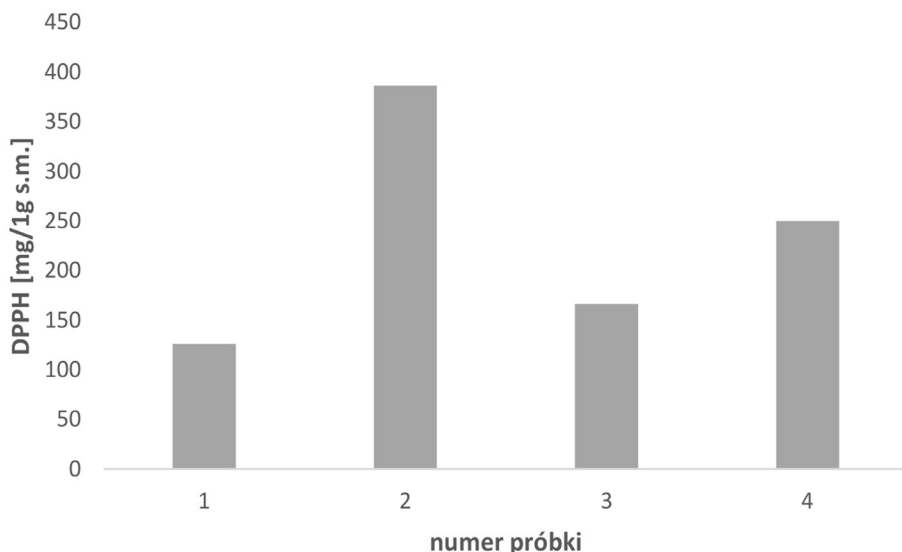
Źródło: badanie własne.

Ekstrakt wodny z kwiatów porzeczki czarnej (próbka 4) wykazywał największą zdolność redukcji rodnika ABTS. Interesujące są również wyniki uzyskane dla ekstraktów wodnych z kwiatów czerwonej porzeczki, w których zdolność do zmniejszenia rodnika ABTS była porównywalna do właściwości przeciwutleniających uzyskanych dla ekstraktów z aronii. W przypadku testu ABTS⁺ ekstrakt z kwiatów bzu czarnego cechuje się najsłabszą aktywnością przeciwutleniającą (Rycina 4). Zastanawiająca jest wysoka wartość uzyskana dla ekstraktów z kwiatów porzeczki czerwonej i czarnej. Być może metoda ta wykazuje czułość na obecność związków znajdu-

jących się w największych ilościach w porzeczkach, których ilość jest znikoma w pozostałych gatunkach kwiatów. Ponadto według K. Thaipong i wsp. [14] wynik testu z wykorzystaniem rodnika ABTS jest w dużej mierze zależny od czasu, zarówno przechowywania roztworu roboczego, jak i reakcji z próbką, co determinuje otrzymane wyniki. Na tej podstawie można przypuszczać, że stabilność niektórych ekstraktów (dwóch) jest zmienna, a trwałość pozostałych różni się w niewielkim stopniu.

Porównując wyniki testu ABTS uzyskane dla ekstraktów z kwiatów z wynikami przedstawionymi przez A. Kucharską i wsp. [13] dla ekstraktów z owoców aronii i porzeczki czarnej, także można zauważyć przewagę tych pierwszych. W ekstraktach z owoców aronii otrzymano wartość 143,4 μM troloksu (TE) w przeliczeniu na 1 g próbki, natomiast w ekstrakcie z owoców porzeczki czerwonej 144,4 μM TE/g, co stanowi odpowiednio 80 i 56% wartości uzyskanych w ekstraktach z kwiatów.

Koleją z metod służących do oznaczenia właściwości antyoksydacyjnych są badania z wykorzystaniem elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR). Przy użyciu tej metody określana jest zdolność ekstraktów do wymiatania rodnika DPPH. Wyniki oznaczenia właściwości antyoksydacyjnych z wykorzystaniem rodnika DPPH w ekstraktach w przeliczeniu na 1 g suchej masy ekstraktu przedstawiono na Rycinie 5.



Rycina 5. Zdolność redukcji rodnika DPPH dla ekstraktów wodnych, gdzie: 1 – bez czarny, 2 – aronia, 3 – porzeczka czerwona, 4 – porzeczka czarna.

Figure 5. The ability to reduce the DPPH radical of water extracts, where: 1 – elderberry, 2 – chokeberry, 3 – redcurrant, 4 – blackcurrant.

Źródło: badanie własne.

Największą zdolnością do zmiatania rodników DPPH charakteryzował się wodny ekstrakt z kwiatów aronii. Ekstrakt z porzeczki czarnej wykazuje o 35% mniejsze zdolności zmiatania rodnika DPPH od ekstraktu z kwiatów aronii. Pozostałe ekstrakty cechują się zbliżoną aktywnością antyoksydacyjną. Najmniejszą zdolność, średnio o 75% mniejszą w porównaniu do wyników kwiatów aronii, wykryto w ekstraktach z kwiatów bzu czarnego.

Istotą tej metody jest pomiar spadku fluorescencji na skutek rozkładu fluoresceiny, poprzez indukowane termicznie rodniki nadtlenkowe. Proces ten jest spalniany poprzez antyoksydanty obecne w badanej próbce. Pomiarzy zostały wykonane we wszystkich sporządzonych ekstraktach, w każdym w trzech różnych rozcieńczeniach, w czterech powtórzeniach.

Otrzymane wyniki wraz z wyliczonymi odchyleniami standardowymi przedstawiono w Tabeli 2.

Tabela 2. Wartości aktywności antyoksydacyjnej czterech ekstraktów wodnych metodą ORAC, gdzie: 1 – bez czarny, 2 – aronia, 3 – porzeczka czerwona, 4 – porzeczka czarna.

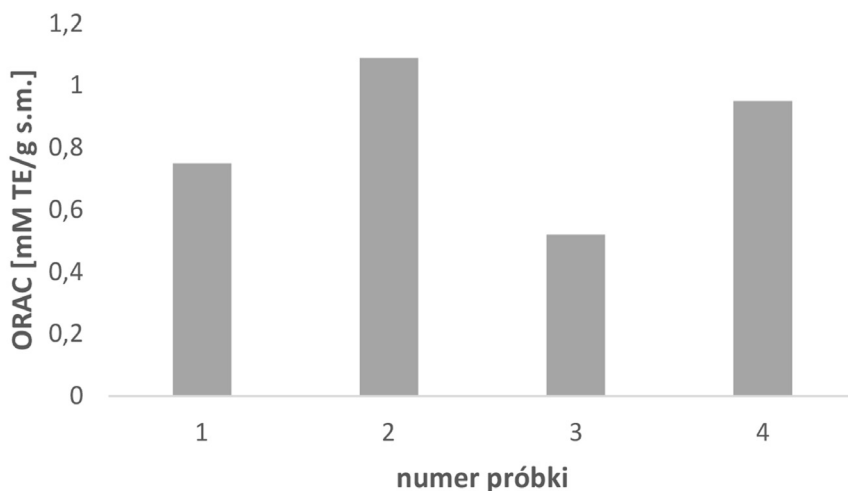
Table 2. The values for four aqueous extracts using the ORAC method, where: 1 – elderberry, 2 – aronia, 3 – redcurrant, 4 – blackcurrant.

Numer próbki	ORAC [mM TE/ g s.m.] ± SD	Rozcieńczenie próbek do analizy R-krotność
1	0,75 ± 0,01	100
2	1,09 ± 0,00	200
3	0,52 ± 0,01	100
4	0,95 ± 0,03	200

Źródło: badanie własne.

Najsilniejszymi zdolnościami antyoksydacyjnymi charakteryzował się ekstrakt wodny z kwiatów aronii. Silną aktywność antyoksydacyjną wykazywał także ekstrakt 4 (z kwiatów czarnej porzeczki), trochę mniejszą (o około 20%) ekstrakt wodny z kwiatów bzu czarnego. Natomiast najsłabszą aktywnością cechowała się porzeczka czerwona, co zostało uprzednio wykazane także za pomocą testu DPPH oraz metody FRAP.

Uzyskana tendencja jest zgodna z danymi literaturowymi [14], które wskazują na istnienie korelacji między aktywnością antyoksydacyjną uzyskaną za pomocą testów FRAP i ORAC (Rycina 6). Co więcej, metoda ORAC może być uważana za jedną z istotniejszych, nie tylko ze względu na wysoką czułość, ale także z powodu wykorzystywania biologicznie istotnego źródła rodników – rodnika nadtlenkowego [15].



Rycina 6. Test ORAC ekstraktów wodnych, gdzie: 1 – bez czarny, 2 – aronia, 3 – porzeczka czerwona, 4 – porzeczka czarna.

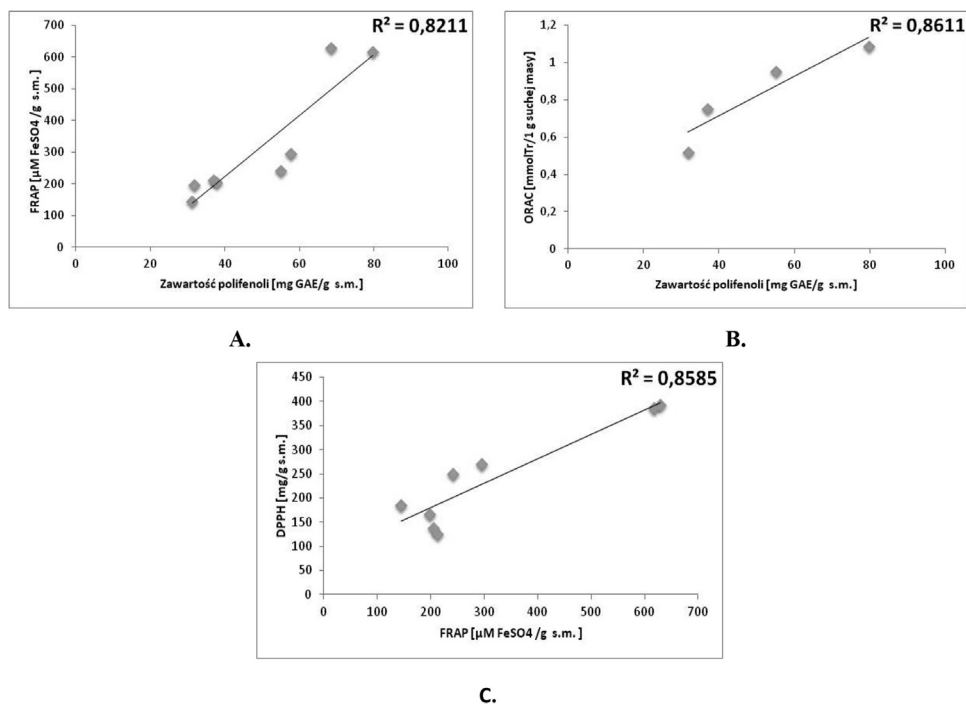
Figure 6. ORAC test for water extracts, where: 1 – elderberry, 2 – aronia, 3 – redcurrant, 4 – blackcurrant

Źródło: badanie własne.

W opinii X. Wu i wsp. [16] ekstrakty z owoców charakteryzują się znacznie słabszymi właściwościami antyoksydacyjnymi. Według tych autorów najsilniejszą aktywność antyoksydacyjną wykazywał ekstrakt z owoców aronii, który był 6-krotnie słabszy w porównaniu do ekstraktu z kwiatów aronii. Aktywność przeciwutleniająca ekstraktu z porzeczki czarnej wynosiła 0,10 mM TE/g i jest słabsza od aktywności ekstraktu z owoców bzu czarnego (1,5 mM TE/g).

Interesujące jest, jak wyniki dotyczące zawartości poszczególnych grup związków aktywnych korelują z wynikami testów antyoksydacyjnych. Przedstawione wyniki obliczeń (Rycina 7 – a, b i c) wskazują na istnienie korelacji pomiędzy całkowitą zawartością polifenoli a testami określającymi aktywność antyoksydacyjną. Najsilniejsze (według wartości współczynnika R^2) uzyskano dla zależności między całkowitą zawartością polifenoli a testem FRAP. Sugeruje to, iż test FRAP w przypadku ekstraktów wodnych z kwiatów krzewów jagodowych najlepiej odzwierciedla aktywność antyoksydacyjną tych związków. Wysoką wartość R^2 wykazano także dla zależności między zawartością polifenoli a testem ORAC, co także wskazuje na przydatność tej metody w określaniu właściwości antyoksydacyjnych związków o charakterze fenolowym. Ponadto została także wykazana silna korelacja pomiędzy testami – w szczególności pomiędzy testem FRAP a testem z wykorzystaniem rodnika DPPH. Podobne korelacje uzyskano dla ekstraktów z owoców jagodowych pomiędzy wynikami testów FRAP, DPPH i ORAC [14].

Podsumowując wszystkie testy, które wykorzystano do oznaczenia właściwości antyoksydacyjnych badanych ekstraktów, stwierdzono, że najsilniejszymi właściwościami antyoksydacyjnymi charakteryzowały się ekstrakty z liofilizowanych kwiatów aronii. Nieco mniejszą aktywność antyoksydacyjną wykazywały ekstrakty z kwiatów porzeczki czarnej. Natomiast najsłabsze wyniki otrzymano w przypadku ekstraktów z kwiatów bzu czarnego i porzeczki czerwonej.



Rycina 7. Zestaw korelacji: **A.** między całkowitą zawartością polifenoli a testem FRAP, **B.** między całkowitą zawartością polifenoli a testem ORAC oraz **C.** między testem FRAP a testem DPPH.

Figure 7. Correlation set: **A.** between total polyphenol content and FRAP test, **B.** between total polyphenol content and ORAC test, and **C.** between FRAP test and DPPH test.

Źródło: badanie własne.

Na podstawie wyników badań potwierdzono, że w przypadku ekstraktów z kwiatów krzewów jagodowych istnieje zależność między zawartością związków o charakterze polifenolowym a właściwościami antyoksydacyjnymi.

Podsumowanie

Wszystkie przebadane ekstrakty z kwiatów aronii, czarnego bzu oraz porzeczki czarnej i czerwonej zawierają związki o charakterze polifenolowym w dość znacznej ilości, zatem mogą stanowić źródło ich pozyskiwania. Największą zawartością związków o charakterze polifenolowym charakteryzowały się ekstrakty z liofilizatów kwiatów aronii. Aktywność antyoksydacyjną badanych ekstraktów z liofilizatów kwiatów można uszeregować od największej do najmniejszej następująco: aronia > porzeczka czarna > bez czarny > porzeczka czerwona. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że istnieje korelacja pomiędzy właściwościami antyoksydacyjnymi a zawartością związków fenolowych. Zatem aktywność przeciwutleniająca w przypadku badanych kwiatów jest ściśle związana z obecnymi w nich polifenolami. Zastosowanie wody jako ekstrahenta jest zgodne z zasadami zielonej chemii analitycznej i jest dobrym rozwiązaniem, ponieważ jest metodą tanią i nietoksyczną. Podobnie jak jagoda aronii nazywana jest „superowocem”, na podstawie przeprowadzonych badań jej kwiaty można określić jako „superkwiaty”.

Literatura

- [1] Kołodziej B., Drożdżal K., Właściwości przeciwutleniające kwiatów i owoców bzu czarnego pozyskiwanego ze stanu naturalnego, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2011, 4, s. 36–44.
- [2] Zych I., Krzepiło A., Pomiar całkowitej zdolności antyoksydacyjnej wybranych antyoksydantów i naparów metodą redukcji rodnika DPPH, *Chemia – Dydaktyka – Ekologia – Metrologia*, 2010, 1, s. 51–54.
- [3] Cybul M., Nowak R., Przegląd metod stosowanych w analizie właściwości antyoksydacyjnych wyciągów roślinnych, *Herba Polonica*, 2008, 1, s. 68–78.
- [4] Cejpek K., Maloušková I., Konečný M., Velíšek J., Antioxidant Activity in Variously Prepared Elderberry, *Foods*, 2009, Special Issue, s. 45–48.
- [5] Frohne D., *Leksykon roślin leczniczych*, MedPharm, Wrocław 2010.
- [6] Sikora J., Markowicz M., Mikiciuk-Olasik E., Rola i właściwości lecznicze aronii czarnoowocowej, *Bromatologia i Chemia Toksykologia*, 2009, 1, s. 10–17.
- [7] Glinka R., *Receptura kosmetyczna z elementami kosmetologii*, Oficyna Wydawnicza MA, Łódź 2003.
- [8] Mrukot M., *Receptariusz kosmetyczny*, Małopolska Wyższa Szkoła Zawodowa w Krakowie, Kraków 2004.
- [9] Wilczyńska A., Metody oznaczania aktywności antyoksydacyjnej miodów pszczelich, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2009, 3, s. 870–874.
- [10] Puzanowska-Tarasiewicz H., Starczewska B., Kuźmicka L., Antyoksydanty a reaktywne formy tlenu, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2010, 43(1), s. 9–14.
- [11] Nowak G., *Leki pochodzenia naturalnego*, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań 2012.
- [12] Jędrzejko K., Kowalczyk B., Bacler B., *Rośliny kosmetyczne*, Śląska Akademia Medyczna, Katowice 2006.

- [13] Kucharska A., Sokół-Łętowska A., Gabrielska J., Bąkowska-Barczak A., Włoch A., Duda A., Sroka Z., Żbikowska B., Antioxidant properties of polyphenolic extracts from chokeberry, blackcurrant, blackberry and raspberry fruits, *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska*, 2011, 24(3), s. 183–188.
- [14] Thaipong K., Boonprakob U., Crosby K., Cisneros-Zevallos L., Byrne D., Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts, *Journal of Food Composition and Analysis*, 2006, 19, s. 669–675.
- [15] Kruszewski B., Fąfara P., Ratusz K., Obiedziński M., Ocena pojemności przeciwutleniającej i stabilności oksydacyjnej wybranych olejów roślinnych, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2013, 572, s. 43–52.
- [16] Wu X., Gu L., Prior R., McKay S., Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of ribes, aronia, and sambucus and their antioxidant capacity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52, s. 7846–7856.

Do cytowania:

Wysokińska A., Wawer I., Paradowska K., Potencjał antyoksydacyjny wodnych ekstraktów z kwiatów roślin jagodowych, *Herbalism*, 2023, 1(9), s. 95–110.

Analiza właściwości antyoksydacyjnych fermentowanych żywych octów owocowych

The analysis of antioxidant properties of fermented active vinegar from fruits

Angelika Uram-Dudek¹, Iwona Wajs¹, Katarzyna Paradowska²

¹ Państwowa Akademia Nauk Stosowanych w Krośnie, Rynek 1, 38-400 Krosno, e-mail: angelika.uram@kpu.krosno.pl

² Warszawski Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny, Zakład Chemii Organicznej i Fizycznej, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

Słowa kluczowe: ocet fermentowany, owoce jagodowe, octy owocowe, polifenole, potencjał antyoksydacyjny, DPPH, FRAP

Keywords: fermented vinegar, berry fruits, fruit vinegars, polyphenols, FRAP, antioxidant potential, DPPH

Streszczenie

Fermentacja octowa jest znaną od starożytności metodą przetwarzania materiału roślinnego. Ocet stosowany jest przede wszystkim jako przyprawa w celu wzbogacenia smaku dań oraz utrwalenia żywności. W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania octem jako zdrowym napojem bogatym w związki bioaktywne, które zapewniają organizmowi szereg korzyści. Celem niniejszej pracy było zbadanie 7 octów owocowych, tzw. żywych, przygotowanych z ciemnych owoców: aronii, śliwki, maliny, czarnego bzu, jeżyny, wiśni oraz jagody kamczackiej. Oznaczono zawartość związków polifenolowych oraz potencjał antyoksydacyjny jako czynnik kształtujący prozdrowotne właściwości tychże octów. Badania wykonano z wykorzystaniem metod spektroskopowych: testu z rodnikiem DPPH i testu FRAP oraz określono zawartość związków polifenolowych ogółem metodą Folina-Ciocalteu. Całkowita zawartość polifenoli mieściła się w zakresie 367,2–1443,6 mg GAE/L. Najmniejszą zawartością polifenoli charakteryzował się ocet z malin, natomiast najwyższą – ocet z wiśni i czarnego bzu. Stwierdzono różnicowanie aktywności przeciwutleniającej. Zdolność dezaktywacji rodnika za pomocą testu DPPH przez badane surowce kształtowała się na poziomie od 21,3–77,5%, natomiast za pomocą testu FRAP od 1,59–10,19 mM FeSO₄/L. Zastosowane metody badawcze potwierdziły wysoką aktywność antyoksydacyjną badanych octów owocowych. Stwierdzono również dodatnią korelację pomiędzy zawartością związków

polifenolowych a siłą przeciwutleniającą. Zauważono również, że na jakość octu, a co za tym idzie – na jego walory zdrowotne, ma wpływ zastosowany surowiec. Ze względu na liczne korzystne właściwości ocet może być więc wysoko cenionym fermentowanym produktem spożywczym.

Summary

The vinegar fermentation is a method of processing plant material that has been known since ancient times. Vinegar is primarily used as a condiment to enhance the flavor of dishes and to preserve food. In recent years, as above, there has been a growing interest in vinegar as a healthy beverage rich in bioactive compounds that provide a range of beneficial properties. The purpose of the present study was to examine 7 fruit vinegars, so-called “live” vinegars, prepared from dark fruits: chokeberry, plum, raspberry, elderberry, blackberry, cherry and the blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L. var. *kamtschatica*). The content of polyphenolic compounds and antioxidant potential were determined as a factor shaping the health-promoting properties of these vinegars. The tests were performed using spectroscopic methods: the DPPH radical assay, the FRAP assay, and the content of total polyphenolic compounds was determined using the Folin-Ciocalteu method. The total polyphenol content was in the range of 367,2–1443,6 mg GAE/L. The raspberry vinegar had the lowest polyphenol content, while cherry and elderberry vinegar had the highest. Variation in antioxidant activity was found. The deactivation capacity of the DPPH radical by the tested raw materials ranged from 21,3–77,5%, while the FRAP test was 1,59–10,19 mM FeSO₄/L. The test methods used confirmed the high antioxidant activity of the tested fruit vinegars. A positive correlation was also found between the content of polyphenolic compounds and antioxidant power. It was also noted that the quality of vinegar, and thus its health benefits, is determinate by the raw material used. Thus, due to a number of properties, vinegar can be a highly valued fermented food product.

Wstęp

Łacińskie słowo *acētum* oznacza ocet i pochodzi od łacińskiego czasownika *aceo* – „kwaszę się” oraz przymiotnika *acer* – „ostry” [1]. W Hiszpanii ocet określany jest jako *vinagre*, od łacińskiego *vinum acre* – „kwaśne wino”. Historia octu jest związana z historią wina. Ocet jest jednym z najstarszych produktów fermentacyjnych, a jego walory doceniono w wielu starożytnych kulturach: babilońskiej, egipskiej, chińskiej, greckiej czy rzymskiej. Już w starożytnej Babilonii zauważono, że płyn o dość charakterystycznym zapachu i smaku dobrze konserwuje żywność, a przy tym nadaje potrawom wyjątkowy aromat. Pierwszy ocet był prawdopodobnie produktem po-

wstałym niezamierzenie, w wyniku niewłaściwego przebiegu procesu wytwarzania właśnie wina [2–4]. Oprócz zastosowania kulinarnego ocet od wieków wykorzystywany był w medycynie ludowej do leczenia ran oraz kaszlu. W alchemii był używany jako składnik wielu lekarstw. Stosowano go w terapii przeziębień i do dezynfekcji skóry. Lecząco nim bakteryjne zapalenie jamy ustnej. Rzymscy legioniści dodawali ocet do wody pitnej, uzyskując tym samym orzeźwiający napój, który był bezpieczniejszy niż woda, gdyż dodatek octu stabilizował mikrobiologicznie ten napitek [2]. W czasach epidemii dżumy w 1348 r. ocet stosowano jako środek do dezynfekcji rąk, twarzy i ust. Natomiast w czasach tzw. wielkiej zarazy w 1665 r. w Anglii używano go do dezynfekcji przedmiotów przekazywanych „z rąk do rąk” [2]. Jedną z najsłynniejszych i najciekawszych historii związanych z octem jest opowieść o złodziejach, którzy podczas zarazy panującej we Francji grabili domy zmarłych osób, nie zapadając jednak na tę chorobę. Gdy za swoje czyny mieli odpowiedzieć przed sądem, zmuszano ich do wyznania, w jaki sposób chronili się przed zarazą. Okazało się, że stosowali oni mieszankę octu i ziół m.in. lawendy, rozmarynu, mięty i dzięki temu – jak uważano – unikali choroby. Mikstura ta stała się sławna pod nazwą Ocet Czterech Złodziei i jest ona produkowana we Francji do dziś [5]. Obecnie istnieje wiele badań naukowych, które potwierdzają prozdrowotny wpływ octu (głównie jabłkowego) na organizm człowieka. Jest skuteczny przy infekcjach układu moczowego, obniża ciśnienie krwi [6] oraz cholesterol [7]. Wzmacnia naczynia krwionośne, może również zapobiegać rozwojowi chorób sercowo-naczyniowych [8, 9]. Łagodzi i likwiduje objawy dny moczanowej i reumatoidalnego zapalenia stawów. Redukuje tkankę tłuszczową, poprawia kondycję fizyczną oraz wzmacnia układ immunologiczny [10–12]. Badania dotyczące skutków spożywania octu na stan zdrowia ludzi chorych na cukrzycę typu 2 wykazują, że dania wzbogacone o kwas octowy przyspieszają proces poczucia sytości, stymulują produkcję insuliny, a w przypadku osób z insulinoopornością podnoszą wrażliwość na ten hormon. Spożywanie zaledwie dwóch łyżeczek octu obniża stężenie glukozy we krwi i skutecznie działa w przypadku glikemii poposiłkowej [2, 12].

Ocety są produkowane z różnorodnych surowców roślinnych, w zależności od regionu geograficznego. W krajach europejskich do produkcji octu stosuje się wina lub rektyfikowany alkohol etylowy, w Azji stosowane są rozmaite odmiany fermentowanego ryżu, zaś afrykańskie społeczeństwo wykorzystuje zarówno dostępność owoców, zbóż, jak i soków roślin uprawnych [2]. Ze względu na rodzaj surowców użytych do produkcji octów naukowcy podzielili je na trzy kategorie: ocety roślinne (np. ryżowy, cebulowy i pomidorowy), owocowe (np. jabłkowy, malinowy, winny, ananasowy) oraz zwierzęce (np. miodowy i serwatkowy) [5]. Ocety owocowe wytwarzane są z win owocowych. Najbardziej znany jest ocet jabłkowy, powszechnie

stosowany w gastronomii. Wykorzystywany jest jako składnik marynat, zalew do piklowania, dressingów sałatkowych. Octy można również przygotować z innych owoców, np. owoców jagodowych, takich jak: maliny, wiśnie, truskawki, jeżyny, gruszki czy aronia, a więc z każdego fermentującego źródła węglowodanów. W Korei bardzo popularny jest ocet z czarnych malin *bokbunja*. Słynie on ze swych właściwości antyoksydacyjnych. Podobnie jest w przypadku octu persymonowego, zwanego *gam sikcho* [5, 13].

Tradycyjne octy owocowe należą do produktów otrzymanywanych na drodze następującej po sobie fermentacji alkoholowej (beztlenowy rozkład cukrów prowadzony głównie przez drożdże z gatunku *Saccharomyces cerevisiae*), a następnie w procesie fermentacji octowej bakterie kwasu octowego zamieniają alkohol w kwas octowy. Bakterie kwasu octowego występują powszechnie w przyrodzie, głównie tam, gdzie jest dużo cukrów, czyli m.in. w owocach, słodkich sokach itp. Żywy ocet produkowany jest ze świeżych owoców bądź ziół, które zostają poddane wielotygodniowej fermentacji. Fermentacja powinna przebiegać bez dodatku drożdży. „Żywy” w tym przypadku oznacza „niepasteryzowany, zawierający żywe kultury bakterii”, dzięki czemu jest naturalnym probiotykiem pozytywnie wpływającym na naszą florę bakteryjną. Zastosowanie wysokiej temperatury oraz filtrowanie usuwa z niego cenne składniki odżywcze i bakterie probiotyczne, którym ocet zawdzięcza swoje prozdrowotne właściwości. Antyoksydacyjne działanie octów przygotowanych na bazie surowców roślinnych związane jest z zawartością składników odżywczych i bioaktywnych [2], tzw. przeciwutleniaczy, które skutecznie wychwytyują wolne rodniki i zabezpieczają komórki przed zniszczeniami, jakich mogą one w nich dokonać. Dominującymi związkami bioaktywnymi w octach owocowych są m.in. kwasy organiczne, fruktooligosacharydy, związki polifenolowe, związki mineralne i witaminy [14], dzięki którym ocet zaliczany jest do żywności funkcjonalnej [15].

W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania tematyką octów [16], a obszar badań nad ich właściwościami znacznie się rozszerzył [17]. Coraz większą popularnością cieszą się octy rzemieślnicze – wytwarzane w sposób tradycyjny tzw. żywe octy. Istnieje jednak niewiele doniesień na temat ich właściwości. Celem niniejszej pracy jest oznaczenie – z zastosowaniem kilku testów antyoksydacyjnych – właściwości antyoksydacyjnych octów rzemieślniczych w zależności od surowca użytego do ich wytworzenia.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły octy przygotowane z wybranych siedmiu gatunków owoców: aronia (1), śliwka (2), malina (3), czarny bez (4), jeżyna (5), wiśnia (6) oraz jagoda kamczacka (7), które oznaczono odpowiednimi numerami (w nawiasach)

stosowanymi w dalszej części pracy. Owoce do fermentacji zostały zebrane na terenie gminy Jedlicze w województwie podkarpackim. Surowce bezpośrednio po zbiorze poddano procesowi fermentacji.

Przygotowanie octów

Fermentowane octy owocowe sporządzono z 60 g owoców, 8 g cukru oraz 200 g wody. Cukier rozpuszczono w przygotowanej wodzie, a następnie, po jej schłodzeniu do temperatury otoczenia, zalano nią owoce. Tak przygotowany nastaw przechowywano w temperaturze pokojowej w przykrytych, ale niezamkniętych naczyniach szklanych i mieszano 2 razy dziennie przez 3 tygodnie. Kiedy fermentacja octowa dobiegła końca, ocet zlano z nad osadu i wykorzystano do badań. Każdy rodzaj octu był przygotowany w trzech powtórzeniach. Próbkę przed pomiarami zostały odpowiednio rozcieńczone, a następnie do oznaczeń pobrano klarowną ciecz.

Oznaczenie właściwości przeciwutleniających octów

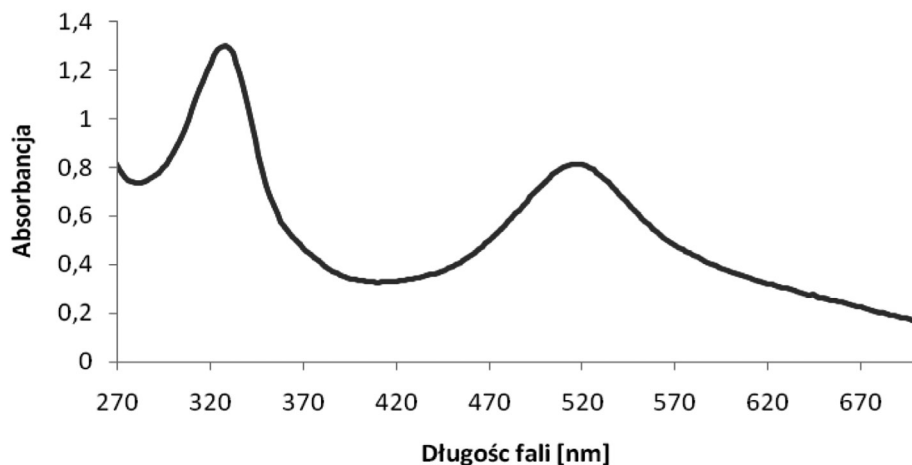
Analizę właściwości antyoksydacyjnych octów przeprowadzono, posługując się trzema metodami. Zbadano aktywność antyoksydacyjną z zastosowaniem stabilnego rodnika DPPH oraz z wykorzystaniem zdolności redukcji jonów żelaza Fe^{3+} (FRAP). Dodatkowo wykonano pomiar całkowitej zawartości polifenoli (TP) z użyciem odczynnika Folina-Ciocalteu (F-C).

Oznaczenia wykonano z zastosowaniem metod spektrofotometrycznych przy użyciu spektrofotometru UV-Vis Genesys 150 (Thermo Scientific), a długości fal podano w opisach metod.

Oznaczenie potencjału antyoksydacyjnego z wykorzystaniem rodnika DPPH

Jedną z częściej wykorzystywanych metod do oznaczania aktywności przeciwutleniającej jest metoda z użyciem roztworu DPPH. DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrozyl) jest wolnym rodnikiem o stosunkowo dużej trwałości, z tego powodu można go łatwo przygotować do badań [18]. Rodnik 2,2-difenylo-1-pikrylohydrozylowy jest ciemnofioletowym, krystalicznym ciałem stałym, dobrze rozpuszczalnym w rozpuszczalnikach organicznych, a nierozpuszczalnym w wodzie. W roztworze alkoholu ma on barwę ciemnofioletową z maksimum absorpcji przy długości fali 517 nm.

Widmo UV-Vis



Rysunek 1. Widmo UV-Vis dla roztworu DPPH.

Figure 1. UV-Vis spectrum for DPPH in solution.

Źródło: badanie własne.

W czasie reakcji wychwytuje on elektrony od substancji antyutleniającej, powodując zmianę barwy mieszaniny reakcyjnej z fioletowej na żółtą. Zmianę tę monitoruje się spektrofotometrycznie. Wyniki pomiaru są podawane najczęściej jako liczba równoważników substancji odniesienia lub jako stopień zmiatania rodnika wyrażony w %:

$$\text{Redukcja rodnika DPPH [\%]} = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \cdot 100,$$

gdzie:

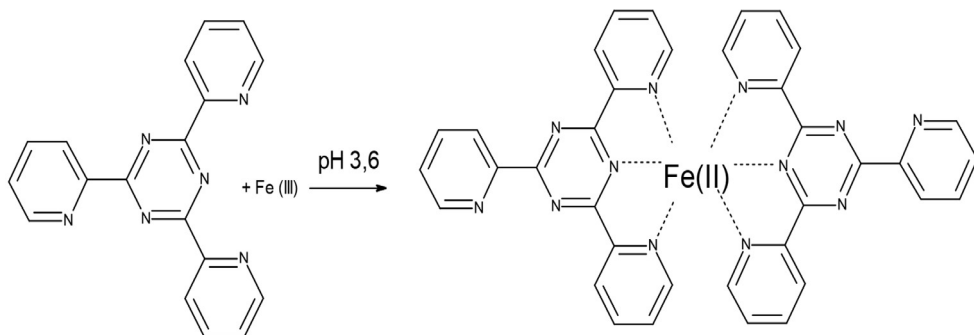
A_0 – absorbancja próbki kontrolnej,

A_t – absorbancja badanej próbki po upływie określonego czasu ($t = 10$ min).

Metoda z zastosowaniem odczynnika DPPH jest szeroko stosowana do pomiarów zdolności antyoksydacyjnej naturalnych surowców: owoców, soków, wyciągów roślinnych, żywności. Szczególnie często używa się jej przy określaniu właściwości przeciwutleniających związków fenolowych [19]. Jest szybka i dokładna, a otrzymane wyniki są odtwarzalne i porównywalne z wartościami uzyskanymi podczas innych badań wykorzystujących zdolność zmiatania wolnych rodników [20].

Oznaczenie potencjału antyoksydacyjnego metodą FRAP

Zasada oznaczenia całkowitej aktywności oksydacyjnej tą metodą polega na określeniu zdolności redukcji jonów Fe^{3+} do jonów Fe^{2+} , które są kompleksowane przez TPTZ (2,4,6-tris(2-pirydylo)-1,3,5-triazyn) z wytworzeniem intensywnego niebieskiego zabarwienia o maksimum absorpcji przy 593 nm [18].



Rysunek 2. Reakcja Fe^{3+} z 2,4,6-tris(2-pirydylo)-1,3,5-triazyną.
Figure 2. Reaction of Fe^{3+} with 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ).

Oznaczeń dokonano metodą opisaną przez Apaka i wsp. [21], Regulską i Samsonowicz [22] oraz Cybula i Nowaka [18] z nieznacznymi modyfikacjami. Jako materiał odniesienia został użyty roztwór siarczanu (VI) żelaza (II). Przy długości fali 593 nm dokonano pomiarów absorpcji badanych próbek, których wyniki odniesiono do wyników materiału wzorcowego – roztworu siarczanu (VI) żelaza (II). W ten sposób obliczono zdolność redukcji jonów żelaza, wyrażoną jako stężenie FeSO_4 w mM/L.

Oznaczenie całkowitej zawartości polifenoli

Do oznaczania potencjału przeciwutleniającego używa się również metody z zastosowaniem odczynnika Folina-Ciocalteu (F-C). Metoda ta służy do analizy całkowitej zawartości fenoli, oparta jest na barwnej reakcji między polifenolami a odczynnikiem [23]. Całkowitą zawartość polifenoli w badanych ekstraktach oznaczono metodą Folina-Ciocalteu (F-C) według Apaka i wsp. [21] oraz Y.S. Tana i wsp. [24]. Związki fenolowe reagują z odczynnikiem F-C jedynie w środowisku alkalicznym (pH 10), tylko w tych warunkach powstaje anion fenolowy, który redukuje odczynnik F-C. Mechanizm reakcji opiera się na przenoszeniu elektronu, a tworzenie niebieskiego barwnika w reakcji związków fenolowych z odczynnikiem F-C jest niezależne od struktury fenoli [25]. Intensywność powstającego zabarwienia mierzono za pomocą spektrofotometru przy długości fali $\lambda = 765$ nm. Materiał od

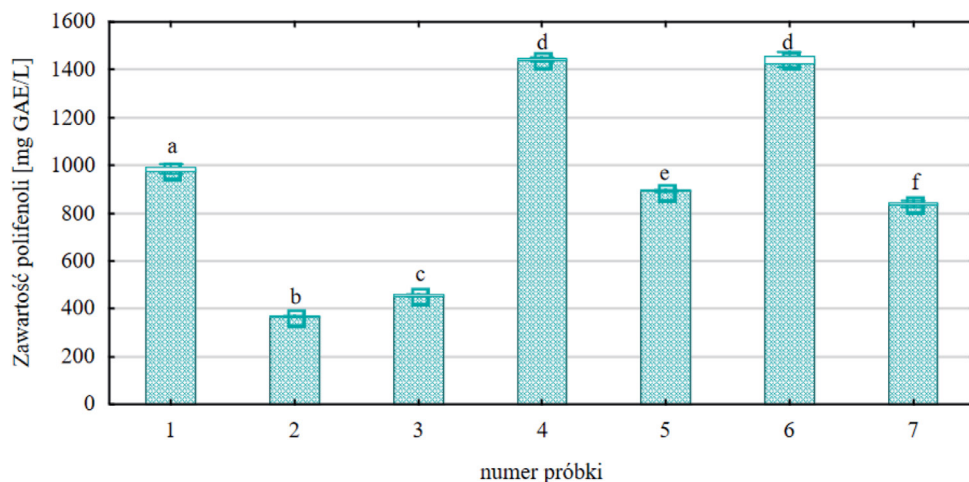
niesienia, będący podstawą do wykreślenia krzywej wzorcowej, stanowił roztwór kwasu galusowego (GAE). Ogólną zawartość polifenoli wyrażono w mg GAE/L badanej próbki. Dla każdej próbki wykonano pomiar trzykrotnie.

Analiza statystyczna

Analizę statystyczną badanych próbek wykonano przy użyciu programu Statistica 13.3 (StatSoft, Visual Basic, TIBCO Software Inc., PL). Właściwości antyoksydacyjne fermentowanych żywych octów owocowych analizowano za pomocą ANOVA. Wyniki wyrażono jako średnią \pm odchylenie standardowe i uznano za statystycznie istotne przy $p < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Octy otrzymane na drodze fermentacji z różnych owoców jagodowych poddano analizie antyoksydacyjnej w celu określenia ich potencjału antyoksydacyjnego, czyli zdolności przeciwdziałania szkodliwemu działaniu wolnych rodników, z zastosowaniem trzech metod: redukcji stabilnego rodnika DPPH, redukcji jonów Fe^{3+} do jonów Fe^{2+} (FRAP) oraz całkowitej zawartości polifenoli (TP). Działanie związków antyoksydacyjnych polega przede wszystkim na wychwytywaniu, dezaktywacji oraz naprawie uszkodzeń spowodowanych przez wolne rodniki [26]. Wzmożony stres oksydacyjny przyspiesza procesy starzenia organizmu, jak również może prowadzić do rozwoju wielu chorób o podłożu wolnorodnikowym, m.in. chorób układu sercowo-naczyniowego, neurodegeneracyjnych czy cukrzycy [27, 28]. Związki przeciwutleniające odgrywają więc kluczową rolę w profilaktyce tych schorzeń [29]. Owoce i warzywa, a także żywność z nich wyprodukowana są produktami bogatymi m.in. w związki polifenolowe, które wykazują silne właściwości przeciwutleniające [30]. Wyróżnia się kilka grup związków fenolowych odpowiedzialnych za prozdrowotne właściwości octów: pochodne kwasu benzoowego, pochodne kwasu cynamonowego, flawonole, flawanole, antocyjanidyny [2]. Oznaczenie całkowitej zawartości polifenoli w octach fermentowanych wykonano metodą z wykorzystaniem odczynnika Folina-Ciocalteu, a uzyskane wyniki przedstawiono w miligramach kwasu galusowego na litr produktu. Otrzymane wyniki z oznaczeń związków bioaktywnych – polifenoli dla sześciu badanych owocowych octów fermentowanych – przedstawia Rysunek 3. Z przeprowadzonych badań wynika, że istnieją znaczne różnice w zawartości polifenoli między badanymi próbkami. Zaobserwowano, że największą zawartością związków polifenolowych charakteryzuje się ocet z czarnego bzu (próbka 4) oraz ocet z wiśni (próbka 6). Zawartość tych związków jest niemal identyczna i wynosi odpowiednio 1443,6 mg GAE/L oraz 1442,0 mg GAE/L.



Rysunek 3. Całkowita zawartość polifenoli (TP) w badanych octach owocowych, gdzie: 1 – aronia, 2 – śliwka, 3 – malina, 4 – czarny bez, 5 – jeżyna, 6 – wiśnia, 7 – jagoda kamczacka.

Figure 3. Total content of polyphenols (TP) in the tested fruit vinegars, where: 1 – chokeberry, 2 – plum, 3 – raspberry, 4 – elderberry, 5 – black berry, 6 – cherry, 7 – blue honeysuckle.

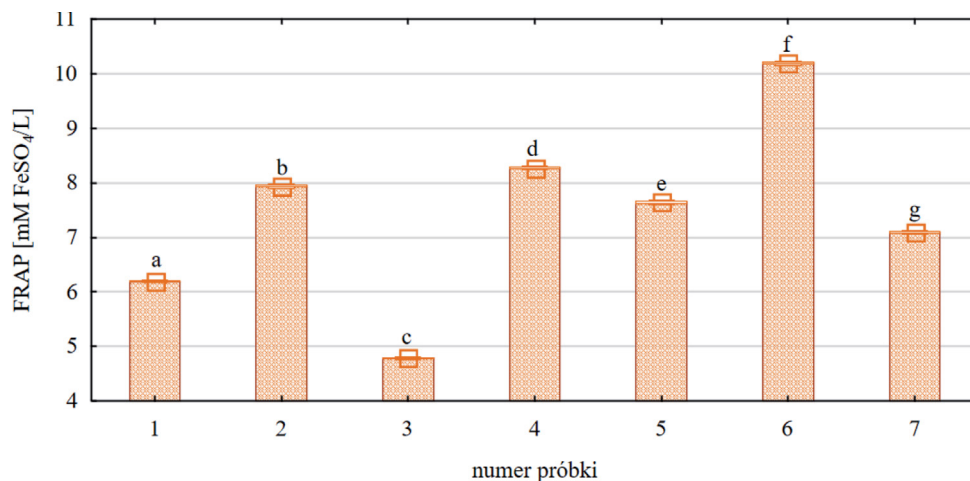
Objaśnienie: a-f – wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie przy $p < 0,05$.

Explanation: a-f – average values denoted by different letters in rows are statistically significantly different at $p < 0,05$.

Źródło: badanie własne.

Wśród badanych próbek octu najniższy poziom zawartości polifenoli ogółem charakteryzuje ocet ze śliwki, dla którego ilość polifenoli jest równa 367,2 mg GAE/L. Wartość ta jest niemal czterokrotnie mniejsza od zawartości tych związków w occie z czarnego bzu i occie z wiśni. Całkowita zawartość polifenoli w próbkach tradycyjnego octu oznaczona przez I. Ozturka i wsp. [31] wahała się w granicach od 40,44 do 2228,79 mg GAE/L. Natomiast w badaniach I. Yucel i wsp. [32] zawartość polifenoli dla octu jeżynowego wynosiła 1162 mg GAE/L. M. Ozen i wsp. [33] oznaczyli zawartość polifenoli dla octów wyprodukowanych ze świeżych owoców wiśni oraz zagęszczonego soku i otrzymane wartości wynosiły odpowiednio 1422,73 oraz 2314,09 mg GAE/L. Otrzymane wyniki zawartości polifenoli w octach owocowych są zgodne z wynikami opisanymi w literaturze.

Analiza FRAP jest metodą stosunkowo szybką i powtarzalną. Polega na oznaczeniu zdolności redukcji jonów Fe^{3+} . Zasada jej działania opiera się na spektrofotometrycznym pomiarze redukcji związku TPTZ (kompleks żelazowo-2,4,6-tripirydylo-S-tiazyny) pod wpływem działania przeciwutleniacza. Przyjmuje się, że im wyższa wartość FRAP badanej substancji, tym większa jest jej siła redukująca. Oznaczenie właściwości antyoksydacyjnej dla wszystkich próbek przeprowadzono przy długości fali $\lambda = 593$ nm i wyrażono w mM/L. Otrzymane wyniki zestawiono na Rysunku 4.



Rysunek 4. Test FRAP dla 7 badanych octów, gdzie: 1 – aronia 2 – śliwka, 3 – malina, 4 – czarny bez, 5 – jeżyna, 6 – wiśnia, 7 – jagoda kamczacka.

Figure 4. FRAP test for 7 tested fruit vinegars, where: 1 – chokeberry, 2 – plum, 3 – raspberry, 4 – elderberry, 5 – black berry, 6 – cherry, 7 – blue honeysuckle.

Objaśnienie: a–g – wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$.

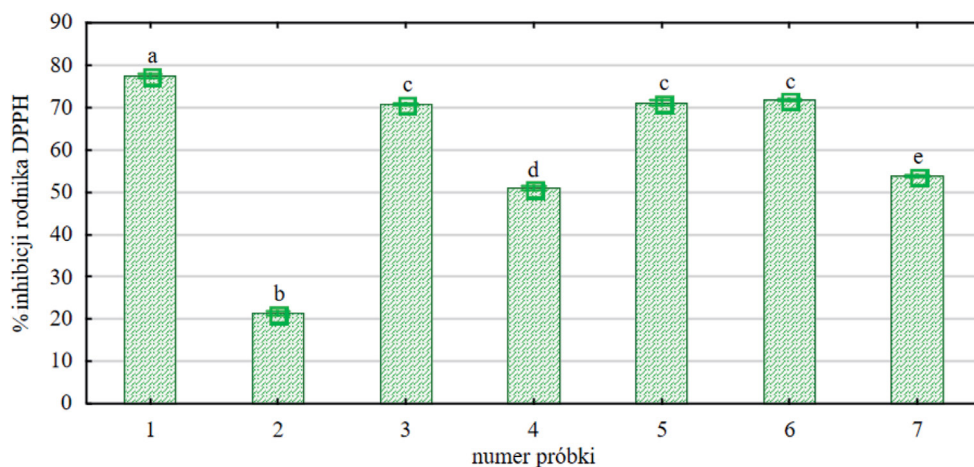
Explanation: a–g – average values denoted by different letters in rows are statistically significantly different at $p \leq 0,05$.

Źródło: badanie własne.

Analiza FRAP, przedstawiona na Rysunku 4, pozwoliła na określenie przeciwutleniającego działania octów owocowych i ich porównanie. W wyniku przeprowadzonych badań obserwujemy, że istnieją różnice we właściwościach antyoksydacyjnych pomiędzy poszczególnymi próbkami. Najsilniejsze właściwości przeciwutleniające wykazuje próbka 6, czyli ocet z wiśni. W efekcie zastosowania metody FRAP możemy zauważyć, że właściwości antyoksydacyjne dla próbek octów z aronii (próbka 1), czarnego bzu (próbka 4), jeżyny (próbka 5) oraz jagody kamczackiej (próbka 7) są zbliżone i mieszczą się w granicach od 6,19 do 8,28 mM FeSO₄/L. Najsłabsze właściwości antyoksydacyjne, podobnie jak w przypadku ogólnej zawartości polifenoli, wykazuje ocet ze śliwki.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono wysoką korelację ($R^2 = 0,894$) pomiędzy zawartością polifenoli oraz siłą redukującą FRAP. Faktem jest, że to właśnie związki polifenolowe w decydującym stopniu kształtują potencjał przeciwutleniający.

Kolejną metodą, którą wykorzystano do określenia potencjału antyoksydacyjnego próbek octów, jest metoda z wykorzystaniem rodnika DPPH (2,2-difenylo-1-pirydrylohydrazyl). Odczynnik DPPH jest stabilnym kationorodnikiem posiadającym na swojej powłoce walencyjnej niesparowany elektron. W wyniku reakcji z substancjami o właściwościach antyoksydacyjnych przechodzi w postać zredukowaną. Zdolność antyoksydacyjną próbek przedstawiono na Rysunku 5 jako stopień zmiana wolnego rodnika i podano w procentach.



Rysunek 5. Test DPPH dla 7 badanych octów, gdzie: 1 – aronia 2 – śliwka, 3 – malina, 4 – czarny bez, 5 – jeżyna, 6 – wiśnia, 7 – jagoda kamczacka.

Figure 5. DPPH test for 7 tested fruit vinegars, where: 1 – chokeberry, 2 – plum, 3 – raspberry, 4 – elderberry, 5 – black berry, 6 – cherry, 7 – blue honeysuckle.

Objaśnienie: a–e – wartości średnie oznaczone różnymi literami w wierszach różnią się statystycznie istotnie przy $p \leq 0,05$.

Explanation: a–e – average values denoted by different letters in rows are statistically significantly different at $p \leq 0,05$.

Źródło: badanie własne.

Analizując dane otrzymane po przeprowadzeniu testu DPPH, obserwujemy, że wyniki dla czterech próbek octów (próbki 1, 3, 5, 6) są bardzo zbliżone. Stopień redukcji rodnika DPPH dla tych próbek mieści się w granicach 70–80%. Najniższą zdolność zmiatania wolnego rodnika – podobnie jak w przypadku pozostałych zastosowanych metod spektrofotometrycznych – wykazuje ocet śliwkowy, dla którego stopień redukcji rodnika DPPH wynosi 21,3%.

Według Bakira i wsp. [34] antyoksydanty zawarte w octach owocowych mogą pochodzić z surowca wyjściowego, czyli zastosowanego do procesu fermentacji owocu, oraz, co podkreślają Budak i wsp. [35], powstawać podczas procesu fermentacji, co tłumaczyłoby różnice w otrzymanych wynikach w zależności od zastosowanego surowca.

Podsumowanie

Wyniki przeprowadzonych badań pokazały, że naturalne octy owocowe niepasteryzowane charakteryzują się wysoką zawartością polifenoli oraz aktywnością przeciwutleniającą. Ujawniły także różnice we właściwościach przeciwutleniających między badanymi octami. Prawdopodobnie jest to spowodowane zastosowaniem różnych surowców do ich produkcji. Według badań Bakira i wsp. [34] ocet, produkowany

z wielu owoców bogatych w aminokwasy, fenole, kwasy organiczne, witaminy i substancje mineralne, posiada zróżnicowany potencjał antyoksydacyjny, właściwości przeciwutleniające i przeciwdrobnoustrojowe – w zależności od zastosowanego surowca oraz metody produkcji. Każdy ma inny, charakterystyczny smak, aromat oraz zawartość antyoksydantów. Wszystkie przebadane octy owocowe zawierają związki o charakterze polifenolowym. Wykazują również znaczące właściwości antyoksydacyjne. Najsilniejsze właściwości przeciwutleniające oraz największą zawartość polifenoli posiadają octy: wiśniowy, aroniowy oraz z czarnego bzu, czyli przygotowane z owoców jagodowych powszechnie uznawanych za owoce o silnych właściwościach prozdrowotnych, tzw. super food [36–38]. Badania korelacji wskazują, że aktywność przeciwutleniająca próbek octów jest ściśle związana z zawartością związków polifenolowych.

Artykuł powstał w ramach dofinansowania z Funduszu Stypendialnego im. Stanisława Pigoń Państwowej Akademii Nauk Stosowanych w Krośnie.

Literatura

- [1] Brückner A., Słownik etymologiczny języka polskiego, Kraków 1927, s. 373.
- [2] Antolak H., Kwas octowy składnik żywności funkcjonalnej, Przemysł Spożywczy, 2015, 69(9), s. 41–44.
- [3] Budak N.H., Aykin E., Seydim A.C., Greene A.K., Guzel-Seydim Z.B., Functional properties of vinegar, Journal of Food Science, 2014, 79, s. 757–764.
- [4] Johnston C.S., Kim C.M., Buller A.J., Vinegar improves insulin sensitivity to a high-carbohydrate meal in subjects with insulin resistance or type 2 diabetes, Diabetes Care, 2004, 27, s. 281–283.
- [5] Solieri L., Giudici P., Vinegars of the world, Springer, Milan 2009, s. 1–16.
- [6] Na L., Chu X., Jiang S., Li C., Li G., He Y., Liu Y., Li Y., Sun C., Vinegar decreases blood pressure by down-regulating AT1R expression via the AMPK/PGC-1 α /PPAR γ pathway in spontaneously hypertensive rats, European Journal of Nutrition, 2016, 55(3), s. 1245–1253.
- [7] Balliett M., Burke J.R., Changes in anthropometric measurements, body composition, blood pressure, lipid profile, and testosterone in patients participating in a low-energy dietary intervention, Journal of Chiropractic Medicine, 2013; 12(1), s. 3–14.
- [8] Nassiri-Asl M., Hosseinzadeh H., Review of the Pharmacological Effects of Vitis vinifera (Grape) and its Bioactive Constituents: An Update, Phytotherapy Research, 2016; 30(9), s. 1392–1403.
- [9] Antoniewicz J., Janda-Milczarek K., Octy winogronowe – charakterystyka, właściwości oraz bezpieczeństwo stosowania, Medycyna Ogólna i Nauki o Zdrowiu, 2021, 27(4), s. 379–386.

- [10] Mazza S., Murooka Y., Vinegar through the age, [w:] *Vinegars of the world*, L. Solieri, P. Giudici (red.), Springer, Milan 2009, s. 17–39.
- [11] Rutala W.A., Barbee S.L., Aguiar N.C., Sobsey M.D., Weber D.J., Antimicrobial activity of home disinfectants and natural products against potential human pathogens, *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 2000, 21(1), s. 33–38.
- [12] Östman, E., Granfeldt, Y., Persson, L., Björck, I., Vinegar supplementation lowers glucose and insulin responses and increases satiety after a bread meal in healthy subjects, *European Journal of Clinical Nutrition*, 2005, 59, s. 983–988.
- [13] Song N.E., Cho S.H., Baik S.H., Microbial community, and biochemical and physiological properties of Korean traditional black raspberry (*Robus coreanus* Miquel) vinegar, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2016, 96(11), s. 3723–3730.
- [14] Koyama M., Ogasawara Y., Endou K., Akano H., Nakajima T., Aoyama T., Nakamura K., Fermentation-induced changes in the concentrations of organic acids, amino acids, sugars, and minerals and superoxide dismutase-like activity in tomato vinegar, *International Journal of Food Properties*, 2017; 20(4), s. 888–898.
- [15] Jasbi P., Baker O., Shi X., Gonzalez L.A., Wang S., Anderson S., Xi B., Gu H., Johnston C.S., Daily red wine vinegar ingestion for eight weeks improves glucose homeostasis and affects the metabolome but does not reduce adiposity in adults, *Food & Function*, 2019, 10(11), s. 7343–7355.
- [16] Luzón-Quintana L.M., Castro R., Durán-Guerrero E., Biotechnological processes in fruit vinegar production, *Foods*, 2021, 10(5), s. 945.
- [17] Zhang X.L., Zheng Y., Xia M.L., Wu Y.N., Liu X.J., Xie S.K., Wu Y.F., Wang M., Knowledge domain and emerging trends in vinegar research: A bibliometric review of the literature from WOSCC, *Foods*, 2020, 9(2), s. 166.
- [18] Cybul M., Nowak R., Przegląd metod stosowanych w analizie właściwości antyoksydacyjnych wyciągów roślinnych, *Herba Polonica*, 2008, 1, s. 68–78.
- [19] Nenadis N., Tsimidou M., Observations on the estimation of scavenging activity of phenolic compounds using rapid 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) tests, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2002; 79, s. 1191–1195.
- [20] Sanchez-Moreno C., Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems, *Food Science and Technology International*, 2002; 8(3), s. 121–137.
- [21] Apak R., Özyürek M., Güçlü K., Çapanoğlu E., Antioxidant activity apacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(5), s. 997–1027.
- [22] Regulska E., Samsonowicz M., Ekstrakty ziołowe w aspekcie zawartości związków polifenolowych i aktywności przeciwutleniającej, [w:] *Właściwości produktów i surowców żywnościowych*, T. Tarko, A. Duda-Chodak, M.D. Witczak, D. Najgebauer-Lejko (red.), Polskie Towarzystwo Technologów Żywności, 2014, s. 227–237.
- [23] Zhang Q., Zhang J., Shen J., Silva A., Dennis D.A., Barrow C.J., A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds, *Journal of Applied Phycology*, 2006, (18), s. 445–450.

- [24] Tan Y.S., Baskaran A., Nallathamby N., Influence of customized cooking methods on the phenolic contents and antioxidant activities of selected species of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.), *Journal of Food Science and Technology*, 2015, 52(5), s. 3058–3064.
- [25] Kusznierevicz B., Bartoszek-Pączkowska A., Wolska L., Namieśnik J., Rozdział 10.2. Metody oznaczania właściwości przeciwutleniających próbek żywności, [w:] *Przeciwutleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne*, W. Grajek (red.), WNT, Warszawa 2007, s. 532–550.
- [26] Santos-Sanchez N., Salas-Coronado R., Villanueva-Canongo C., Hernández-Carlos B., Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism, [w:] E. Shalaby, *Antioxidants*, IntechOpen, London 2019, s. 23–51.
- [27] Matsuda M., Shimomura I., Increased oxidative stress in obesity: implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer, *Obesity Research and Clinical Practice*, 2013, 7(5), s. 330–41.
- [28] Ichiishi E., Li X.-K., Iorio E.L., Oxidative stress and diseases: clinical trials and approaches, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, s. 1–3.
- [29] Sharma N., Free Radicals, Antioxidants and Disease, *Biology and Medicine*, 2014, 6(3), s. 2–6.
- [30] Álvarez R., Araya H., Navarro-Lisboa R., Lopez de Dicastillo C., Evaluation of Polyphenols and Antioxidant Capacity of Fruits and Vegetables Using a Modified Enzymatic Extraction Method, *Food Technology and Biotechnology*, 2016, 54(4), s. 462–467.
- [31] Ozturk I., Caliskan O., Tornuk F., Sagdic O., Antioxidant, antimicrobial, mineral, volatile, physicochemical and microbiological characteristics of traditional home-made Turkish vinegars, *Food Science and Technology*, 2015, (63), s. 144–151.
- [32] Yucel I., Gulden S., Berna K., Ozturk I., Screening physicochemical, microbiological and bioactive properties of fruit vinegars produced from various raw materials, *Food Science and Biotechnology*, 2020, 29(3), s. 401–408.
- [33] Ozen M., Ozdemir N., Filiz B.E., Budak N, Kok-Taş T., Sour cherry (*Prunus cerasus* L.) vinegars produced from fresh fruit or juice concentrate: Bioactive compounds, volatile aroma compounds and antioxidant capacities, *Food Chemistry*, 2020, 309, s. 125664.
- [34] Bakir S., Toydemir G., Boyacioglu D., Beekwilder J., Capanoglu E., Fruit antioxidants during vinegar processing: Changes in content and in vitro bio-accessibility, *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17(10), s. 1658.
- [35] Budak H.B., Guzel-Seydim Z.B., Antioxidant activity and phenolic content of wine vinegars produced by two different techniques, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2010, 9(12), s. 2021–2026.
- [36] Ochwanowska E., Chmielewski J., Laba S., Zeber-Dzikowska I., Liofilizowane owoce jagodowe – właściwości antyoksydacyjne, *Przemysł Spożywczy*, 2017, 71(12), s. 23–26.
- [37] Gramza-Michałowska A., Sidor A., Czarny bez *Sambucus nigra* w dietoterapii chorób cywilizacyjnych, *Przemysł Spożywczy*, 2015, 69(1), s. 38–41.
- [38] Gryszczyńska B., Iskra M., Gryszczyńska A., Budzyń M., Aktywność przeciwutleniająca wybranych owoców jagodowych, *Postępy Fitoterapii*, 2011, 4, s. 265–274.

Do cytowania:

Uram-Dudek A., Wajs I., Paradowska K., Analiza właściwości antyoksydacyjnych fermentowanych żywych octów owocowych, *Herbalism*, 2023, 1(9), s. 111–124.

Ocena zawartości żelaza w wybranych płatkach owsianych

Evaluation of the iron content of selected oat flakes

Aleksandra Dmitrowicz¹, Iwona Mystkowska², Ewa Płażuk¹, Jakub Targoński¹

¹ EKO-AGRO-TECH Regionalne Centrum Badań Środowiska, Rolnictwa i Technologii Innowacyjnych, Akademia Bialska Nauk Stosowanych im. Jana Pawła II, ul. Sidorska 107, 21-500 Biała Podlaska

² Wydział Nauk o Zdrowiu, Zakład Dietetyki, Akademia Bialska Nauk Stosowanych Jana Pawła II w Białej Podlaskiej, ul Sidorska 95/97, 21-500 Biała Podlaska

Słowa kluczowe: żelazo, mikroelement, płatki owsiane, błyskawiczne płatki owsiane

Keywords: iron, micronutrient, oatmeal, instant oatmeal

Streszczenie

Niedobór żelaza (Fe) stanowi jeden z najczęstszych i najbardziej rozpowszechnionych niedoborów składnika odżywczego. Niewystarczająca ilość żelaza, a zatem taka, która nie pozwala na utrzymanie funkcji fizjologicznych, może objawiać się zawrotami głowy, zmęczeniem, bladością i suchością skóry czy też nieregularnym biciem serca. Brak tego mikroelementu może mieć niekorzystne skutki na długoterminowy rozwój neurologiczny i zachowanie u dzieci. Zaspokojenie zapotrzebowania na składnik odżywczy u osób w danym wieku i płci powinien opierać się w głównej mierze na średnim dziennym spożyciu zalecanych ilości żelaza. Płatki owsiane są źródłem wielu składników mineralnych, takich jak białko, potas, magnez, witamina B₆, a także żelazo. Wyróżniamy trzy rodzaje płatków owsianych: klasyczne, błyskawiczne oraz górskie. Produkty różnią się procesem przetwarzania, stopniem rozdrobnienia i granulacją ziarna. Celem pracy było określenie różnic w zawartości żelaza w płatkach owsianych ze względu na rodzaj tego produktu spożywczego. Najwyższą zawartością Fe charakteryzowały się klasyczne płatki owsiane, cechujące się najmniejszym stopniem przetworzenia – 34,494 mg·kg⁻¹. Niewiele mniejszą zawartość pierwiastka, na poziomie 33,967 mg·kg⁻¹, stwierdzono w płatkach górskich, natomiast płatki błyskawiczne, poddane obróbce w największym stopniu, zawierały 31,470 mg·kg⁻¹ mikroelementu.

Summary

Iron deficiency is one of the most common and widespread deficiencies of the nutrient. Insufficient amounts of iron necessary to maintain physiological functions can manifest as dizziness, fatigue, pale and dry skin, or irregular heartbeat. Lack of the micronutrient can have adverse effects on long-term neurological development and behavior in children. Satisfaction of nutrient requirements for a given age and gender should be based primarily on the average daily intake of recommended amounts of iron. Oatmeal is a source of many minerals, such as protein, potassium, magnesium, vitamin B₆, as well as iron. There are three types of oat flakes – classic flakes, instant flakes and mountain flakes. The products differ in processing, degree of grinding and granulation of the grain. The purpose of this study was to determine the differences in iron content in oat flakes due to the types of the food product. The highest Fe content was found in classic oat flakes characterized by the lowest level of processing – 34.494 mg·kg⁻¹. A slightly lower content of the element, at 33.967 mg·kg⁻¹, was found in mountain flakes, while instant flakes, characterized by the highest level of processing, contained 31.470 mg·kg⁻¹ of the micronutrient.

Wstęp

Mikroelementy to składniki, które występują w organizmie w śladowych ilościach [1, 2]. Mimo ich niewielkiej zawartości w organizmie są one niezbędne do jego prawidłowego funkcjonowania [3–5]. Do jednych z ważniejszych należy żelazo, które występuje w organizmie w dwóch przedziałach – magazynowym i funkcjonalnym. Większość żelaza występuje we krwi w postaci dwuwartościowego jonu związanego z hemoglobina, której funkcją jest transport tlenu z płuc do tkanek [4–6]. Pierwiastek ten występuje również w szpiku kostnym, gdzie bierze udział w procesie powstania erytrocytów, czyli krwinek czerwonych [5]. Mikroelement jest wykorzystywany również w procesach metabolicznych ze względu na obecność w składzie enzymów – stanowi składnik mioglobiny występującej w mięśniach. Rola żelaza związana jest także z działaniem przeciwutleniającym i wspomaganie pracy układu odpornościowego. Dodatkowo pierwiastek ten sprzyja detoksykacji szkodliwych substancji obecnych w wątrobie, a także wpływa na metabolizm cholesterolu [6]. Ocenia się zatem, że żelazo uczestniczy w prawidłowym funkcjonowaniu układu krwionośnego, nerwowego oraz sercowo-naczyniowego. W organizmie obecna jest również hemosyderyna, która stanowi nieaktywny zapas żelaza [7]. Zasoby tego pierwiastka niezbędne do pracy tkanek i narządów są w ciągłym obiegu wewnętrznym. Mikroelement ten jest w większości odzyskiwany ze zniszczonych krwinek czerwonych, natomiast 20% zasobów dostarczane jest przez pożywienie. Wskazano jednak, że żelazo jest wchłaniane z posiłków zaledwie w 10% [3]. Rzeczywisty

niedobór żelaza jest definiowany jako zmniejszenie się zapasów mikroelementu w organizmie [8]. Zawartość i zapotrzebowanie na żelazo jest zależne od płci oraz wieku, a także innych okoliczności, takich jak menstruacja czy ciąża (Tabela 1).

Tabela 1. Średnie zapotrzebowanie na żelazo ze względu na wiek oraz płeć.

Table 1. Average iron requirements by age and gender.

Wiek/płeć	Średnie zapotrzebowanie na żelazo [mg/kg masy ciała]
6–24 miesięcy	11
1.–3. rok życia	5,8–9
4.–8. rok życia	6,1–10
10.–13. rok życia	8–11
Dziewczyny w 13.–18. roku życia	15
Chłopcy w 13.–18. roku życia	12
Kobiety po 18. roku życia	18
Mężczyźni po 18. roku życia	10
Kobiety w ciąży	27

Źródło: [9, 10].

Jedną z głównych przyczyn utraty tego składnika odżywczego przez organizm jest krwawienie. Zwraca się zatem uwagę, że grupą szczególnie narażoną na niedobór żelaza są kobiety – ze względu na krwawienie menstruacyjne czy wystąpienie chorób dróg rodnych, do których należą endometrioza i mięśniaki macicy [11]. Duże zapotrzebowanie na żelazo przypada na czas ciąży, a także okres poporodowy. Przyjmowanie odpowiednich ilości tego pierwiastka jest bardzo ważne u dzieci między 6. a 24. miesiącem życia ze względu na jego wpływ na proces rozwoju dziecka – uczenia się i zapamiętywania [12]. W okresie tym następuje szybkie różnicowanie się tkanek, a także rozwój ośrodkowego układu nerwowego i układu psychomotorycznego. Na wysokie straty tego mikroelementu narażeni są również dawcy krwi. Jednorazowe oddanie krwi prowadzi do utraty około 230 mg żelaza [12]. Uzupełnienie tego niedoboru może trwać nawet 5–6 miesięcy [13]. Inną grupą, która w szczególny sposób powinna zadbać o zapewnienie odpowiednio wysokiej podaży żelaza, są osoby aktywne, trenujące sporty wytrzymałościowe. Wystąpienie niedoboru żelaza może powodować stany chorobowe, takie jak anemia [14]. Anemię

definiuje się jako niedokrwistość, czyli zmniejszenie liczby czerwonych krwinek, lub jako stan patologiczny, w którym liczba erytrocytów jest niewystarczająca do zaspokojenia potrzeb fizjologicznych [15, 16]. Anemia charakteryzuje się obniżeniem poziomu hemoglobiny we krwi, co skutkuje zmniejszeniem zdolności przenoszenia tlenu. Objawia się zmęczeniem, zawrotami głowy i trudnościami w oddychaniu [17]. Innymi objawami niedoboru żelaza są błądźliwość skóry oraz osłabienie włosów i paznokci, a także zmniejszony apetyt [18].

Według danych Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) prawie 3,7 mld ludzi ma niedobór żelaza, co powoduje anemię u 2 mld ludzi [19]. Oszacowano, że 40% stanowią kobiety niebędące w ciąży, a 50% kobiety w ciąży. Stwierdzono również, że 31% dzieci w wieku poniżej 5 lat ma anemię, głównie niedokrwistość z niedoboru żelaza [19]. Niedobór tego mikroelementu u dzieci może wpłynąć również na zaburzenia zachowania i funkcjonowanie pamięci [20]. Przestrzeganie wartości zalecanego przyjmowania tego mikroelementu w pożywieniu pozwala uniknąć objawów jego niedoboru.

W dietetyce wyróżnia się dwie formy żelaza – hemową, uznawaną za lepiej przyswajalne żelazo pochodzenia zwierzęcego, oraz niehemową, pochodzenia roślinnego [21]. Do produktów bogatych w ten pierwiastek zaliczane są najczęściej różnego rodzaju podroby, wątróbka, wołowina czy wieprzowina.

Tabela 2. Wybrane źródła żelaza w formie hemowej, pochodzenia zwierzęcego.

Table 2. Selected sources of iron in heme form, of animal origin.

Produkty zwierzęce	Zawartość żelaza [mg/100 g produktu]
Wątróbka wieprzowa	18,7
Podroby drobiowe	9,5
Salceson czarny	7,5
Kiełbasa myśliwska	2,5
Wołowina	2,3

Źródło: [22].

Często zwraca się uwagę, iż efektem diet wegetariańskiej i wegańskiej, eliminujących produkty odzwierzęce, jest niedobór tego składnika [23–25]. Wegetarianom zalecane jest zwiększenie spożycia żelaza poprzez spożywanie różnorodnych pokarmów roślinnych bogatych w ten mikroelement [26].

Tabela 3. Wybrane źródła żelaza pochodzenia roślinnego.**Table 3.** Selected sources of iron from plant sources.

Produkty roślinne	Zawartość żelaza [mg/100 g produktu]
Pestki dyni	15,0
Fasola biała	6,9
Kasza jaglana	4,8
Groch	4,7
Migdały	3

Źródło: [22].

Najpopularniejszymi strategiami zapobiegania niedoborowi mikroelementów jest suplementacja preparatami farmaceutycznymi i wzbogacenie żywności. Dodawanie żelaza do produktów spożywczych dotyczy przede wszystkim grup społecznych najbardziej narażonych na wystąpienie niedoboru żelaza, takich jak dzieci w wieku szkolnym i kobiety w ciąży [27]. Żelazo jest jednak uznawane za jeden z trudniejszych składników mineralnych, ponieważ blokuje ono działanie niektórych składników diety [28].

Płatki owsiane

Owies ma unikalny skład chemiczny oraz niezwykle wysoką wartość fizjologiczną i odżywczą [29]. Płatki owsiane są produkowane z mielonych, ciętych lub walcowanych ziaren owsa, a niektóre produkty owsiane są również wzbogacane żelazem i witaminami z grupy B [30]. Zawierają znaczne ilości błonnika pokarmowego i węglowodanów. Podane w różnej formie są uznawane za element zdrowej diety ze względu na wpływ β -glukanu na obniżenie stężenia w osoczu LDL cholesterolu [31]. Warto zauważyć, że β -glukan, czyli rozpuszczalny błonnik, posiada właściwości fizjologiczne i bioaktywne, które mogą przyczynić się do poprawy poziomu lipidów we krwi, a także obniżenia poziomu glukozy we krwi i cholesterolu [32, 33]. Potwierdzono również, że płatki owsiane obniżają poziom glukozy we krwi u osób z cukrzycą typu 2 [34]. Produkty te są bogate w składniki mineralne. Według badań konsumenci płatków owsianych cechują się wyższym spożyciem błonnika, wapnia, żelaza, magnezu oraz witamin A i E niż osoby spożywające inne rodzaje śniadań [35]. W płatkach owsianych można wyróżnić mikroelementy takie jak miedź, cynk czy żelazo. Zgodnie z danymi „Wartości odżywczych wybranych produktów spożywczych i typowych potraw” płatki owsiane zawierają 3,9 mg żelaza na 100 g produktu [22].

W sklepach spożywczych można znaleźć różne odmiany płatków owsianych. Dostępne są klasyczne płatki owsiane, ale również błyskawiczne oraz górskie. Zwykle płatki owsiane cechują się najniższym poziomem przetworzenia i powstają przez zgniecenie ziarna. Płatki błyskawiczne charakteryzują się natomiast tym, że są przygotowywane szybciej w porównaniu do ich formy klasycznej. Rozluźniona i rozmięczona struktura ziaren sprawia, że zalanie produktu gorącą wodą lub mlekiem umożliwia natychmiastowe przyrządzenie posiłku. Podobnie jest w płatkach górskich, w przypadku których następuje dodatkowy proces podczas przetwarzania produktu. Ziarna są bowiem dodatkowo rozdrabniane przed etapem zgniatania, co nadaje drobniejszą formę uzyskanemu produktowi.

Różnice w stopniu przetworzenia produktu spożywczego mogą mieć wpływ na zawartość składników odżywczych w jego ostatecznej formie. Podczas procesu produkcji i obróbki płatki owsiane mogą tracić pewne wartości mikroelementów. Celem pracy było określenie, czy zróżnicowana forma przetwarzania płatków owsianych wpływa na zawartość żelaza w tym produkcie spożywczym.

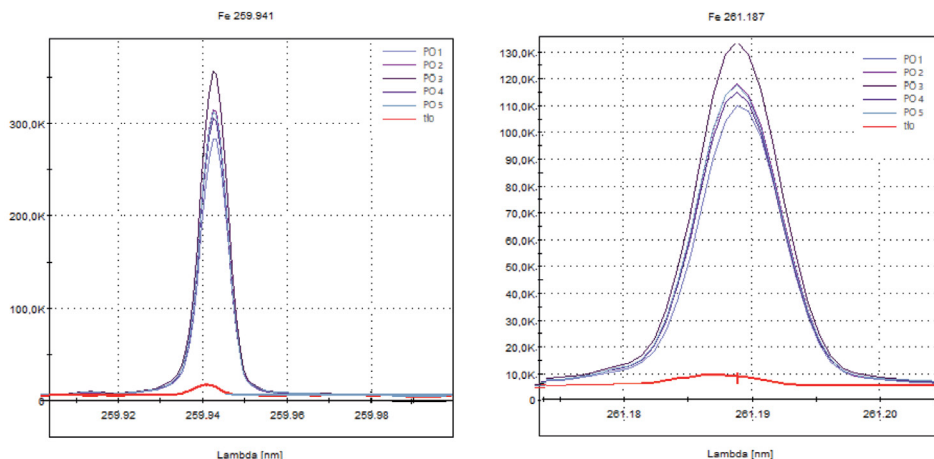
Materiał i metody

Do analizy przygotowano pięć opakowań płatków owsianych kupionych w sklepach spożywczych w Białej Podlaskiej. Wszystkie zostały wyprodukowane na terenie województwa podlaskiego. Produkty pochodziły z trzech zakładów: Podlaskich Zakładów Zbożowych S.A. (ul. Elewatorska 14, 15-959 Białystok), BioLife Sp. z o.o. (ul. Miodowa 17, 17-100 Bielsk Podlaski) oraz Naura Merkurs S.A. (ul. Sejneńska 16, 15-399 Białystok). Badane produkty stanowiły: trzy opakowania klasycznych płatków owsianych (PO1, PO2, PO3), jedno opakowanie płatków owsianych błyskawicznych (PO4) i jedno opakowanie płatków owsianych górskich (PO5). Z każdego opakowania produktu pobrano około 10 g produktu i suszono w temp. 105°C przez 24 h do ustabilizowania się wagi. Wysuszone próby rozdrobniono za pomocą młynka wibracyjnego (Fritsch Analysette 3) do uzyskania drobnego proszku. Z każdej z pięciu próbek (PO1, PO2, PO3, PO4, PO5) pobrano po 3 próbki pomiarowe o masie 0,5 g. Sproszkowane próbki przeniesiono do naczyń teflonowych, poddano trawieniu za pomocą 1 ml 35–38% kwasu chlorowodorowego (Chempur) i 6 ml 65% kwasu azotowego (POCH Basic) i ogrzewano w piecu mikrofalowym (Anton Paar). W układzie trawienia mikrofalowego ustawiono program przeznaczony do roztwarzania mikrofalowego produktów zbożowych (temp. 110°C przez 5 min, 220°C przez 20 min i 70°C przez 25 min). Zawartość naczyń do mineralizacji przefiltrowano na sączkach jakościowych o średnicy 150 mm i gramaturze 80 (Chemland), przelewając ją do falkonów, a następnie rozcieńczono do 50 ml za pomocą wody destylowanej. Uzyskany rozwór badano za pomocą spektrometru ICP-OES

(Spectroblue). Pierwiastek oznaczono ilościowo przez odniesienie do krzywej kalibracyjnej wielopierwiastkowego roztworu wzorcowego (VHG, Standard, LGC) w jej liniowym zakresie. Otrzymane wyniki opracowano statystycznie przy pomocy MS Excel metodą jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA. Różnice przyjęto jako statystycznie istotne przy poziomie istotności $p < 0,05$.

Wyniki i dyskusje

Badanie dotyczące oznaczenia zawartości żelaza przeprowadzono na podstawie natężenia sygnału linii na dwóch liniach Fe – 259,941 nm i 261,187 nm (Rysunek 1). Na ich podstawie wykonano oznaczenie pierwiastka śladowego w odniesieniu do standardu (VHG, Standard, LGC).

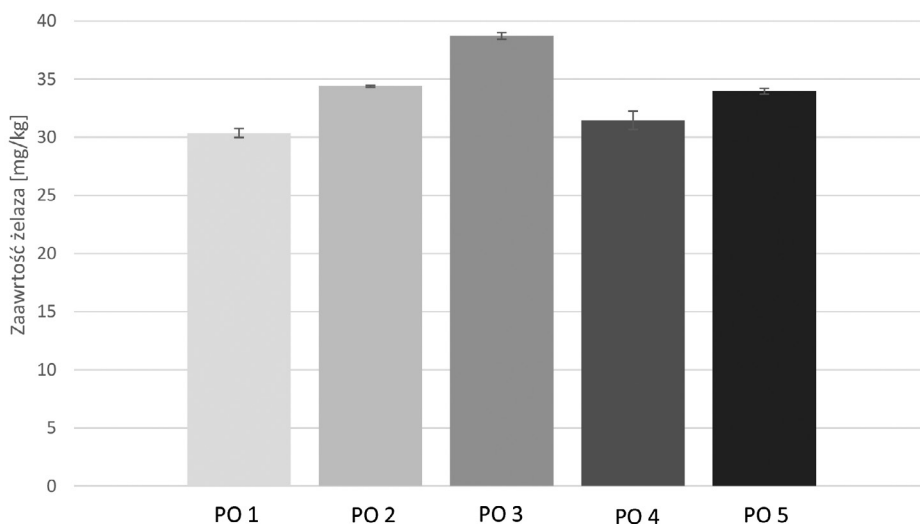


Rysunek 1. Sygnały badanych próbek pięciu opakowań płatków owsianych i sygnał tła na dwóch długościach linii: 259,941 nm i 261,187 nm, charakterystycznych dla pierwiastka Fe.

Figure 1. Signals of tested samples of five oatmeal packages and background signal at two line lengths of 259.941 nm and 261.187 nm characteristic of the element Fe.

Źródło: badanie własne.

Wyniki pokazują różnice w stężeniach żelaza pomiędzy opakowaniami płatków owsianych różnych marek i odmian. Stężenia pierwiastka w badanych próbkach wahały się od 30,367 do 38,720 mg·kg⁻¹ (Rysunek 2).



Rysunek 2. Średnie stężenia żelaza \pm błędy standardowe w płatkach owsianych pięciu różnych marek i trzech odmian: PO1, PO2, PO3 – klasyczne płatki owsiane, PO4 – płatki owsiane błyskawiczne i PO5 – płatki owsiane górskie.

Figure 2. Mean iron concentrations \pm standard errors in oat flakes of five different brands and three varieties – PO1, PO2, PO3 – classic oat flakes, PO4 – instant oat flakes and PO5 – mountain oat flakes.

Źródło: badanie własne.

Średnia zawartość żelaza w klasycznych płatkach owsianych z trzech różnych opakowań wyniosła $34,494 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Błyskawiczne płatki owsiane charakteryzowały się najniższą zawartością mikroelementu – na poziomie $31,470 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Górskie płatki owsiane miały natomiast $33,967 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ Fe}$ w składzie.

Podsumowanie

Celem pracy była ocena zawartości żelaza w wybranych płatkach owsianych. Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono, że stopień przetworzenia produktu spożywczego wpływa na zawartość występującego w nim składnika odżywczego. Wykazano, że najmniej przetworzone, niepoddane dodatkowej obróbce płatki owsiane cechują się najwyższym poziomem mikroelementu ($34,49450 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). Płatki górskie, łatwe i szybkie w przygotowaniu, są wciąż bogate w wartości odżywcze i zawierają $33,967 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ żelaza. Najniższy poziom żelaza ($31,470 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) cechuje płatki błyskawiczne. Ze względu na wygodę późniejszego przyrządzania ziarna owsa na etapie produkcji są dodatkowo rozbijane i poddawane hydratacji, co powoduje obniżenie wartości odżywczej produktu. Procesy technologiczne i zabiegi, którym poddawane są ziarna w celu otrzymania płatków owsianych, przyczyniają się do obniżenia zawartości żelaza w gotowym produkcie.

Literatura

- [1] Macioszczyk A., *Hydrogeochemia*, Wydawnictwa Geologiczne, Warszawa 1987, s. 97–99.
- [2] Murray R., Granner D., Mayes P., Rodwell V., *Biochemia Harpera*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1995 (wyd. III).
- [3] Orlicz-Szczęśna G., Żelazowska-Posiej J., Kucharska K., Niedokrwistość z niedoboru żelaza, *Current Problems of Psychiatry*, 2011, 12(4), s. 590–594.
- [4] Sherry B., Mei Z., Yip R., Continuation of the decline in prevalence of anemia in low-income infants and children in five states, *Pediatrics*, 2001, 107(4), s. 677–682.
- [5] Sheftel A.D., Mason A.B., Ponka P., The long history of iron in the Universe and in health and disease, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2012, 1820, s. 161–187.
- [6] Higdon J., Pauling L., Iron, *Micronutrient Information Center*, Linus Pauling Institute, Oregon State University, Corvallis (Oregon) 2001, <https://lpi.oregonstate.edu/mic/minerals/iron> (dostęp 21.03.2023).
- [7] Weir M.P., Sharp G.A., Peters T.J., Electron microscopic studies of human haemosiderin and ferritin, *Journal of Clinical Pathology*, 1985, 38(8), s. 915–918.
- [8] Lipiński P., Starzyński R.R., Styś A., Staroń R., Gajowiak A., Niedokrwistość na tle niedoboru żelaza w diecie, *Kosmos Problemy Nauk Biologicznych*, 2014, 63(3), s. 373–379.
- [9] Chmielewska A., Dryl R., Niedobór żelaza bez niedokrwistości u dzieci: aktualny stan wiedzy, *Pediatrica Polska*, 2016, 91, s. 52–58.
- [10] Żelazo – rola w organizmie, objawy niedoboru i dawkowanie, 2021 <https://www.medi-store.com.pl/a/zdrowie/zelazo> (dostęp 20.03.2023).
- [11] Beard J., Why Iron Deficiency Is Important in Infant Development, *Journal Nutrition*, 2008, 138(12), s. 2534–2536.
- [12] Fretham S., Carlson E., Georgieff M., The Role of Iron in Learning and Memory, *American Society for Nutrition, Advances in Nutrition*, 2011, 2, s. 112–121.
- [13] Oznaczenie stężenia ferrytyny w grupie wielokrotnych honorowych dawców krwi, 2018, krwiodawcy.org/tag/zelazo (dostęp 20.03.2023).
- [14] Beutler E., Hoffbrand A.V., Cook J. D., Iron Deficiency and Overload, *Hematology American Society Hematology Education Program*, 2003, s. 40–61.
- [15] World Health Organization, *Haemoglobin Concentrations for the Diagnosis of Anemia and Assessment of Severity*, 2011.
- [16] Beutler E., Waalen J., The definition of anemia: what is the lower limit of normal of the blood hemoglobin concentration?, *Blood*, 2006, 107, s. 1747–1750.
- [17] Hillman R.S., Ault K.A., Leparrier M., Rinder H.M., Clinical approach to anemia. In *Hematology in Clinical Practice*, *Hematology in Clinical Practice*, 2001, 5e, s. 29.
- [18] Juul S.E., Derman R.J., Auerbach M., Perinatal iron deficiency: implications for mothers and infants, *Neonatology*, 2019, 115(3), s. 269–274.
- [19] Gregorio G.B., Senadhira D., Htut T., Improving iron and zinc value of rice for human nutrients, *Agriculture et Developoement*, 1999, 23(9) s. 68–87.
- [20] Pleskaczyńska A., Dobrzańska A., Profilaktyka niedoboru żelaza u dzieci – standard postępowania, *Standardy Medyczne, Pediatrica*, 2011, 8, s. 100–106.
- [21] Schonfeldt H., Hall N.G., Determining iron bio-availability with a constant heme iron value, *Journal of Food Composition and Analysis*, 2011, 24, s. 738–740.
- [22] Kunahowicz H., Nadolna I., Iwanow A., Przygoda B., Wartość odżywcza wybranych produktów spożywczych i typowych potraw, *Wydawnictwo Lekarskie PZWL*, Warszawa 2012.

- [23] Craig W.J., Nutrition concerns and health effects of vegetarian diets, *Nutrition in Clinical Practice*, 2010, 25, s. 613–620.
- [24] Chelchowska M., Klemarczyk W., Ambroszkiewicz J., Gajewska J., Laskowska-Klita T., Ocena statusu żelaza u dzieci na diecie wegetariańskiej, *Pediatrics Polska*, 2007, 182(5–6), s. 425–429.
- [25] Gowri B.S., Platel K., Prakash J., Srinivasan K., Influence of amla fruits (*Emblica officinalis*) on the bio-availability of iron from staple cereals and pulses, *Nutrition Research*, 2001, 21, s. 1483–1492.
- [26] Jedut P., Niedźwiedź I., Glibowski P., Najczęstsze niedobory żywieniowe w diecie wegetarian i sposoby im zapobiegania. Wybrane zagadnienia z zakresu bromatologii, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, Lublin 2021, s. 44.
- [27] Cook J.D., Skikne B.S., Baynes R.D., Iron deficiency: the global perspective, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1994, 356, s. 219–228.
- [28] Hurrell R.F., Iron, [w:] *The mineral fortification of foods*, R.F. Hurrell (red.), Leatherhead Publishing, Surrey, UK, 1999, s. 54–93.
- [29] Kantor L.S., Variyam J.N., Allshouse J.E., Putnam J.J., Lin B.H., Choose a variety of grains daily, especially whole grains: a challenge for consumers, *Journal Nutrition*, 2001, 131, s. 473S–486S.
- [30] Cho S.S., Qi L., Fahey G.C., Jr., Klurfeld D., Consumption of cereal fiber, mixtures of whole grains and bran, and whole grains and risk reduction in type 2 diabetes, obesity, and cardiovascular disease, *American Journal of Clinical Nutrition*, 2013, 98, s. 594–619.
- [31] Thongoun P., Pavadhgul P., Burmrungpert A., Satitvipawee P., Harjani Y., Kurilich A., Effect of oat consumption on lipid profiles in hypercholesterolemic adults, *Journal Medical Association Thailand*, 2013, 96(5), s. 25–S32.
- [32] Wang Q., Ellis P.R., Oat β -glucan: Physico-chemical characteristics in relation to its blood-glucose and cholesterol-lowering properties, *British Journal Nutrition*, 2014, 112, s. 4–13.
- [33] Maki K.C., Beiseigel J.M., Jonnalagadda S.S., Gugger C.K., Reeves M.S., Farmer M.V., Kaden V.N., Rains T.M., Whole-grain ready-to-eat oat cereal, as part of a dietary program for weight loss, reduces low-density lipoprotein cholesterol in adults with overweight and obesity more than a dietary program including low-fiber control foods, *Journal American Dietetic Association*, 2010, 110, s. 205–214.
- [34] Lammert A., Kratzch J., Selhorst J., Humpert P.M., Bierhaus A., Birck R., Kusterek K., Hammes H.P., Clinical benefit of a short term dietary oatmeal intervention in patients with type 2 diabetes and severe insulin resistance: A pilot study, *Experimental Clinical Endocrinology and Diabetes*, 2008, 116, s. 132–134.
- [35] Fulgoni III V.L., Chu Y., O’Shea M., Slavin J.L., DiRienzo M.A., Oatmeal consumption is associated with better diet quality and lower body mass index in adults: the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), 2001–2010, *Nutrition Research*, 2015, 1/35(12) s. 1052–1059.

Do cytowania:

Dmitrowicz A., Mystkowska I., Plażug E., Targoński J., Ocena zawartości żelaza w wybranych płatkach owsianych, *Herbalism*, 2023, 1(9), s. 125–134.

Znaczenie skrobi ze szczególnym wskazaniem na produkt przemysłowego przetwórstwa ziemniaków – skrobię ziemniaczaną

The importance of starch with special emphasis on the product of industrial potato processing – potato starch

Agnieszka Ginter¹, Krystyna Zarzecka¹, Marek Gugala¹, Iwona Mystkowska²

¹ Instytut Rolnictwa i Ogrodnictwa, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, ul. B. Prusa 14, 08-110 Siedlce; autor korespondencyjny: agnieszka.ginter@uph.edu.pl

² Zakład Dietetyki, Akademia Bialska Nauk Stosowanych im. Jana Pawła II, ul. Sidorska 95/97, 21-500 Biała Podlaska

Słowa kluczowe: właściwości skrobi, ziemniak skrobiowy, skrobia ziemniaczana

Keywords: features of starch, starch potato, potato starch

Streszczenie

W pracy przedstawiono znaczenie skrobi w przetwórstwie spożywczym i innych gałęziach przemysłu przetwórczego, ze szczególnym wskazaniem na skrobię ziemniaczaną. Omówiono podstawowe informacje dotyczące budowy skrobi i jej znaczenia dla zdrowia człowieka. Na podstawie danych Głównego Urzędu Statystycznego przedstawiono przemysłowe przetwórstwo ziemniaka w Polsce oraz produkcję skrobi ziemniaczanej w ostatnim pięcioleciu (2018–2022). Liczne badania wykazały, że skrobia, w tym skrobia ziemniaczana, ma bardzo duże znaczenie w przetwórstwie spożywczym i przemysłowym. Doniesienia naukowe wskazują, że skrobię ziemniaczaną trudno jest zastąpić innym rodzajem skrobi ze względu na jej wyjątkowe cechy.

Summary

The paper presents the importance of starch in food processing and other processing industries, with particular emphasis on potato starch. Basic information on the structure of starch and its importance for humans is discussed. Based on the data of the Central Statistical Office, the industrial processing of potato in Poland is shown and the production of potato starch in the last five years (2018–2022) is presented. Numerous studies have shown that starch, including potato starch, is very important in non-food processing. Scientific reports indicate that potato starch is difficult to replace with another type of starch due to its unique features.

Wstęp

Skrobia jest naturalnym biopolimerem, który w przyrodzie występuje w wielu roślinach, ale przede wszystkim w bulwach ziemniaka i w zbożach [1, 2]. Jest biodegradowalnym i bioodnawialnym źródłem energii gromadzonym przez rośliny zielone. Ważną rolę skrobi potwierdza jej występowanie w wielu częściach rośliny w różnych fazach rozwojowych podczas wegetacji. Najczęściej wymienianymi są nasiona, korzenie i bulwy, ale też liście, łodygi, owoce, a nawet pyłki [3]. Skrobia występuje w komórkach roślinnych w postaci charakterystycznych gałeczek, zwanych też ziarnami [4]. Jest polisacharydem składającym się z dwóch faz, w jej skład wchodzi dwie frakcje, tj. amyloza i amylopektyna, czyli dwa rodzaje makrocząsteczek: amyloza – o budowie liniowej oraz amylopektyna – o budowie rozgałęzionej, co oznacza, że z chemicznego punktu widzenia nie jest to materiał jednolity [5]. W amylopektynie, podobnie jak w amylozie, występują wiązania α -1,4-glikozydowe oraz dodatkowo wiązania α -1,6-glikozydowe, łączące jednostki glukozy. Te dwie frakcje, występując w różnych stosunkach ilościowych w zależności od pochodzenia skrobi, tworzą strukturę przestrzenną. Przyjmuje się, że amyloza stanowi około 20% masy skrobi. Dzięki swej budowie polimeru może pod wpływem różnych czynników fizycznych, chemicznych i biochemicznych ulegać depolimeryzacji z wytworzeniem różnych produktów – od wysokocząsteczkowych dekstryn po monosacharyd glukozy [4]. Te możliwości zmian struktury i właściwości skrobi są wykorzystywane w przemyśle skrobiowym, przy produkcji hydrolizatów i krochmali modyfikowanych. Skrobia jest podstawową rezerwą energetyczną i najważniejszym surowcem, z którego ludzie pozyskują energię [6]. Każda zdrowa i zbilansowana dieta powinna zawierać 80–90% skrobi w dobowej puli węglowodanów [7]. Nie od dziś wiadomo, że należy poddać ją obróbce termicznej (poprzez ugotowanie lub upieczenie), aby mogła być strawiona przez układ pokarmowy człowieka.

Ze względu na swoje unikalne właściwości żelujące i zagęszczające skrobia znajduje szerokie wykorzystanie w niemal każdej branży przemysłu spożywczego [8]. Jako drugi najobficiej występujący biopolimer na świecie wykorzystywana jest jako żywność, pasza, odnawialny surowiec do produkcji bioenergii, ma też wiele innych zastosowań przemysłowych [9]. Skrobia jest idealna do modyfikowania struktury wielu przetworzonych i gotowanych w domu produktów żywnościowych [10]. Jest ona stosowana jako składnik żywności w produktach piekarniczych, przekąskach i wyrobach cukierniczych oraz znajduje szerokie zastosowanie w licznych innych gałęziach przemysłu przetwórczego [11]. Rozwój przemysłu farmaceutycznego, papierniczego czy tekstylnego może warunkować wzrost zapotrzebowania na skrobię. Współcześnie skrobia jest stosowana jako uniwersalny środek wypełniający i rozsadzający w produkcji tabletek o różnych parametrach morfologicznych [12]. Skrobia jest substancją o właściwościach

chłonących oraz osłaniających, stąd używana jest w produkcji pudrów czy zasypek [13]. Przemysł spożywczy wykorzystuje około 60% skrobi, przemysł papierniczy 28%, natomiast przemysły chemiczny i farmaceutyczny zagospodarowują 14% wyprodukowanej na świecie skrobi [14].

Źródła pochodzenia skrobi i jej wybrane odmiany - skleikowana i oporna

Skrobię pozyskuje się przede wszystkim z kukurydzy; otrzymany w ten sposób węglowodan stanowi ponad 80% światowego rynku skrobi, a największym producentem są Stany Zjednoczone. W Europie głównymi surowcami do pozyskiwania skrobi są pszenica i bulwy ziemniaka, a w Azji największą popularnością pod tym względem cieszą się maniok i tapioka. Inne skrobie, takie jak ryżowa czy ze słodkich ziemniaków, stanowią jedynie niewielką część światowej produkcji skrobi [15].

W zależności od temperatury spożywanych produktów zawierających skrobię może ona występować w różnych odmianach, np. skrobia skleikowana i oporna. Surowa skrobia ma formę krystaliczną, to znaczy, że cząsteczki skrobi ściśle przylegają do siebie, tworząc przypominające kryształki struktury, które nie są trawione przez enzymy trawienne. W czasie gotowania skrobia chłonie wodę, pęcznieje, jej struktury ulegają rozluźnieniu i przybiera formę, która może być trawiona; jest to tzw. skrobia skleikowana, a proces wchłaniania wody to kleikowanie. Jeżeli taką skleikowaną skrobię się schłodzi, to ulega ona procesowi retrogradacji, czyli woda jest „uwalniana”, a cząsteczki skrobi z powrotem łączą się w struktury krystaliczne [16, 17].

Wielkość ziaren skrobiowych wpływa na temperaturę kleikowania skrobi. Skrobie, których ziarna są większe, cechują się niższymi temperaturami kleikowania. Najmniejsze granulki skrobiowe występują w komórkach owsa, ryżu oraz roślin egzotycznych, a największe można zaobserwować w skrobi ziemniaczanej [18]. Skrobia oporna to węglowodan, który jest odporny na działanie enzymów trawiennych i w niezmienionej formie przechodzi do jelita grubego. Stanowi ona pożywkę dla pożytecznych bakterii jelitowych i pełni wiele funkcji prozdrowotnych. Wystudzenie produktów zawierających skrobię może wpłynąć na zmniejszenie ich indeksu glikemicznego (wystarczy zatem dodać takie wyroby do sałatek serwowanych na zimno, aby obniżyć ich indeks glikemiczny) [19].

Skrobia oporna wykazuje działanie prozdrowotne, w związku z czym traktowana jest jako składnik błonnika pokarmowego [20]. Skrobia naturalna dostarcza 4 kcal/g, a wartość energetyczna uzyskana z 1 g skrobi odpornej jest prawie o połowę mniejsza (2–3 kcal/g) [21].

Produkcja ziemniaka skrobiowego i skrobi ziemniaczanej

W ostatnich latach rynek produkcji ziemniaka w Polsce podlega stałym zmianom. Według danych Głównego Urzędu Statystycznego (GUS) w sezonie 2021/2022 zbiory bulw ziemniaka w Polsce, niezależnie od dziedziny produkcji, wyniosły około 7,1 mln ton, z czego zbiory tego surowca z przeznaczeniem na skrobię – 1 088 tys. ton (15,4% ogółu zbiorów) [22]. Produkcja skrobi ziemniaczanej prowadzona jest głównie w Europie, a w Unii Europejskiej (UE) udział ziemniaków w ogólnej produkcji skrobi wynosi około 20%. Polska, obok takich krajów jak Niemcy, Holandia, Francja, Dania czy Czechy, zaliczana jest do głównych producentów skrobi w Europie [23].

Skup bulw ziemniaka ogółem w Polsce rejestrowany przez GUS w sezonie produkcyjnym 2021/2022 wyniósł ponad 2 mln ton i był mniejszy o 29 tys. ton niż w sezonie poprzednim (2020/2021). W ciągu pięciu sezonów produkcyjnych w skupie ziemniaków ogółem bulwy przemysłowe *Solanum tuberosum* stanowiły około 50% (Tabela 1). Udział ziemniaków skrobiowych w puli ziemniaków wykorzystywanych w przemyśle był bardzo wysoki, wynosił około 90% w każdym z porównywanych lat.

Tabela 1. Udział ziemniaków przemysłowych, w tym skrobiowych, w ogólnym skupie ziemniaków w [%].

Table 1. Share of industrial potatoes, including starch potatoes in the total buying of potatoes in [%].

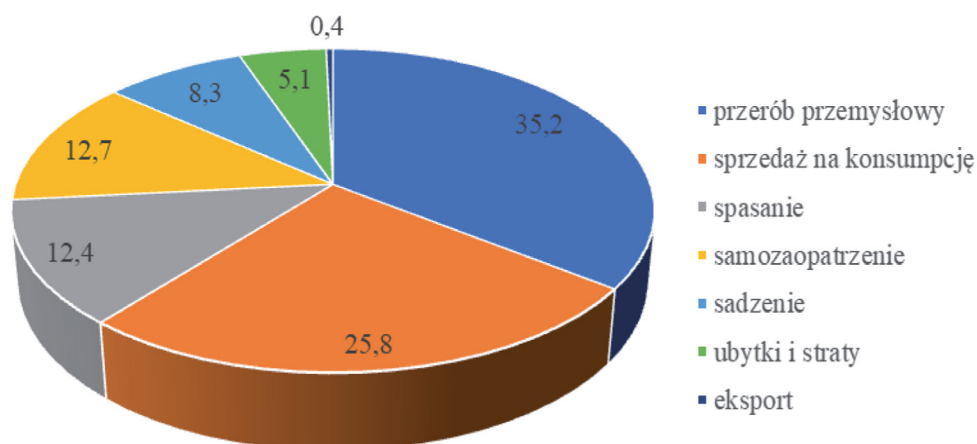
Wyszczególnienie	2017/2018	2018/2019	2019/2020	2020/2021	2021/2022
Ziemniaki przemysłowe:	54,4	47,8	48,2	52,2	48,7
w tym skrobiowe	93,0	92,9	88,6	87,9	90,8

Źródło: [22]

W strukturze rozdysponowania krajowych zasobów ziemniaka w sezonie 2022/2023 największy udział może mieć jego przerób przemysłowy, przewiduje się, iż wyniesie on 35,2% (Rysunek 1). Przedstawiona prognoza podkreśla znaczenie przemysłowego przetwórstwa ziemniaka w Polsce i może być zachętą do podejmowania jego produkcji, tym bardziej że w warunkach wieloletnich umów kontraktacyjnych rolnicy mają zapewniony zbył [24].

Po rekordowym przemysłowym przerobie ziemniaka na skrobię w sezonie produkcyjnym 2020/2021 na poziomie 1 130 tys. ton w dwóch kolejnych okresach zanotowano tendencję spadkową (Tabela 2). Na przestrzeni analizowanych lat w prognozowanym sezonie (2022/2023) wykorzystanie ziemniaków w krochmalnictwie może być najmniejsze w ciągu ostatniego pięciolecia. Pozostałe kierunki przemysłowego przerobu ziemniaka w prezentowanych latach wykazywały różnokierunkowe zmiany.

Znaczenie skrobi ze szczególnym wskazaniem na produkt przemysłowego...



Rysunek 1. Rozdysponowanie krajowych zasobów ziemniaka w % w sezonie 2022/2023.

Figure 1. Disposition of national potato resources in % in 2022/2023.

Źródło: [22].

Tabela 2. Przemysłowy przerób ziemniaka w tys. ton.

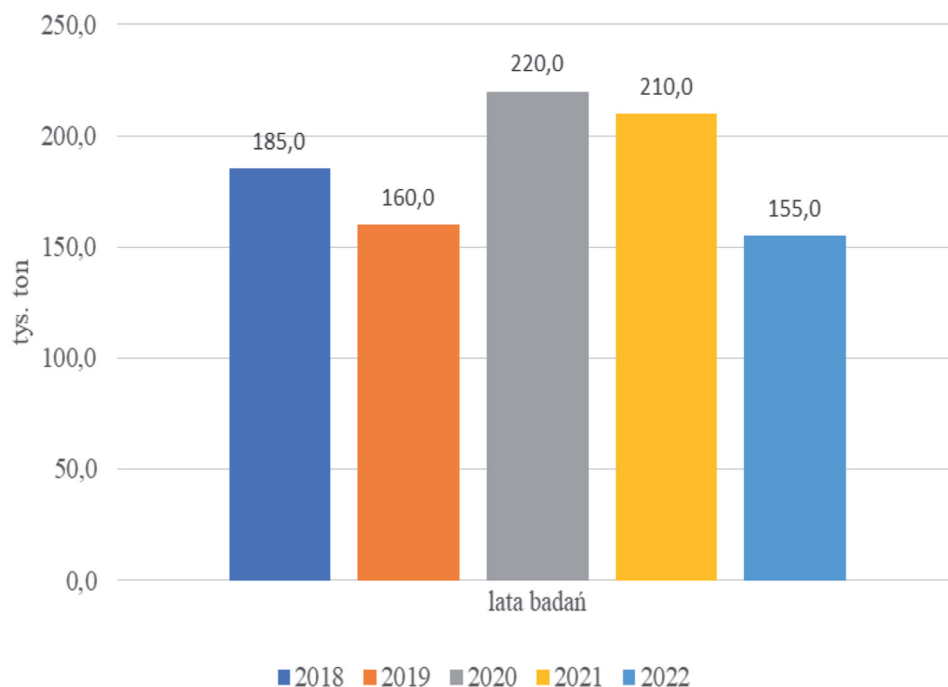
Table 2. Industrial processing of potato in thousand tons.

Kierunek przerobu	2018/2019	2019/2020	2020/2021	2021/2022	2022/2023*
Na skrobię	910	780	1130	960	720
Na susze	214	202	225	212	190
Na spirytus	33	30	50	45	35
Na inne przetwory	1247	1248	1221	1320	1270
Ogółem	2404	2260	2626	2537	2215

* prognoza

Źródło: [22].

Produkcja skrobi ziemniaczanej wytworzona w przedsiębiorstwach przemysłu skrobiowego w Polsce w analizowanych latach (2018–2022) była zróżnicowana. W analizowanym czasie największy jej poziom zanotowano w 2020 r. i od tego sezonu przez dwa kolejne krajowy wolumen produkcji tego wyrobu wykazywał tendencję spadkową (Rysunek 2).



Rysunek 2. Produkcja skrobi ziemniaczanej w Polsce w tys. ton.
Figure 2. Production of potato starch in Poland in thousand tons.

Źródło: [22].

W wyniku pandemii COVID-19 pojawiły się nadwyżki surowca – zarówno ziemniaka jadalnego, jak i przeznaczonego do przemysłu skrobiowego. W związku z nadwyżką skrobi ceny oferowane przez podmioty skupowe ziemniaka skrobiowego były na pograniczu opłacalności produkcji, co wpłynęło na sytuację rynkową skrobi. Na poziom oferowanych cen krajowych wywarły wpływ zmieniające się światowe ceny surowca [25]. Do roku 2019, czyli w okresie przed pandemią, odnotowywano tendencję rosnącą w przetwórstwie spożywczym i przemysłowym ziemniaka [26]. Należy podkreślić, że w gospodarce rynkowej podstawowym czynnikiem decydującym o rozwoju branży jest popyt na dany produkt, zarówno na rynku wewnętrznym, jak i zagranicznym. W efekcie poszczególne wielkości (w tym produkcyjne i ekonomiczne) kształtowane są przez rynek i jego prawidłowości. Uchwycenie tendencji na rynku ziemniaka w Europie w ostatnim czasie nie jest łatwe. Autorzy podejmujący problematykę zmian w produkcji ziemniaków w Polsce i w UE [27], zmian na rynku ziemniaka w UE [28] czy temat samowystarczalności krajów UE pod względem produkcji ziemniaków [29] oraz analizujący zmiany na rynku ziemniaka w Polsce [30] nie wskazują scenariuszy dotyczących bliższej czy dalszej przyszłości.

Znaczenie skrobi ziemniaczanej

W zależności od swojego botanicznego pochodzenia skrobia charakteryzuje się odmiennymi właściwościami fizycznymi, takimi jak wielkość czy kształt gałeczek, a także wykazuje różne właściwości funkcjonalne [31]. Z technologicznego punktu widzenia najlepszym surowcem wyjściowym do produkcji produktów skrobiowych jest skrobia ziemniaczana [4]. Jej zaletą jest wysoka czystość, szczególnie w porównaniu do skrobi zbożowej – głównego konkurenta w Europie [32]. Skrobia z ziemniaka wyróżnia się niską zawartością zanieczyszczeń (takich jak białko, tłuszcz), co sprawia, że w wielu dziedzinach jest nie do zastąpienia [33]. Skrobia ziemniaczana – i szerzej: skrobia uzyskiwana z roślin bulwiastych – ma pewne unikalne właściwości w porównaniu ze skrobią pochodzącą ze zbóż. Do najważniejszych z nich należą długie łańcuchy amylopektynowe tworzące krystality oraz obecność estrów fosforanowych [34]. Cecha ta warunkuje np. świecenie skrobi w świetle spolaryzowanym, co oznacza, że skrobia ziemniaczana świeci silniej od zbożowej, co ma znaczenie w przemyśle papierniczym. Wielkość ziaren skrobiowych, które są różne w zależności od rośliny, z której otrzymywana jest skrobia, wpływa na temperaturę kleikowania skrobi. Skrobie, których ziarna są większe, cechują się niższymi temperaturami kleikowania [4]. Najmniejsze granulki skrobiowe występują w komórkach owsa, ryżu oraz roślin egzotycznych, a największe są obecne w skrobi ziemniaczanej.

Jednym z powodów szerokiego wykorzystania skrobi ziemniaczanej jest łatwość modyfikowania jej właściwości, co umożliwia dostosowanie jej do zapotrzebowania nowoczesnych technologii. Właściwości skrobi można zmieniać w szerokim zakresie, działając na nią czynnikami chemicznymi, fizycznymi, jak również enzymatycznie [35].

Główne zastosowania skrobi ziemniaczanej i jej modyfikatorów można podzielić na dwie zasadnicze grupy:

- przemysłowe (techniczne),
- w przemyśle spożywczym.

Do pierwszej wymienionej grupy zalicza się przede wszystkim wykorzystanie skrobi w produkcji papieru, w celu uzyskania jak najlepszej bieli, gładkości powierzchni, przydatności do drukowania czy wytrzymałości mechanicznej. Zużycie skrobi w produkcji papieru wynosi około 10% masy papieru [1]. W przemyśle włókienniczym skrobia ma zastosowanie w klejeniu przędzy, w krochmaleniu, farbowaniu czy satynowaniu [36]. Znaczna ilość produktów skrobiowych jest wykorzystywana również w przemyśle górniczym (flokulanty), hutniczym (dodatek do mas formierskich), wiertnictwie (składnik płuczek wiertniczych), chemicznym oraz w produkcji tworzyw sztucznych i opakowań biodegradowalnych [37]. Skrobia, będąc biopolimerem pochodzenia roślinnego, całkowicie biodegradowalnym, stanowi

ciekawą alternatywę w technologii betonu jako naturalny plastyfikator do betonów w stosunku do niebiodegradowalnych, a czasami wręcz toksycznych plastyfikatorów [38].

Skrobia ziemniaczana wykorzystywana jest w medycynie. Specjalistyczne rusztowania na potrzeby inżynierii tkankowej, których składnikiem jest skrobia ziemniaczana, mogą w przyszłości zostać wykorzystane jako nowoczesny produkt medycyny personalizowanej. Takie rusztowania mogą znaleźć zastosowanie jako sztuczna skóra lub materiał do opatrywania ran [39]. Inżynieria tkankowa jest interdyscyplinarną dziedziną nauki, zajmującą się wykorzystaniem wiedzy medycznej oraz metod inżynierii materiałowej do wytwarzania funkcjonalnych zamienników uszkodzonych tkanek lub całych narządów [40]. Należy podkreślić, że skrobia ziemniaczana to produkt łatwo dostępny na rynku polskim i pozwala na implementację opracowanych rozwiązań laboratoryjnych do produkcji na dużą skalę. Skrobia ziemniaczana ma szerokie zastosowanie w wielu rodzajach przemysłu, m.in. farmaceutycznym, papierniczym, włókienniczym i w górnictwie, dlatego na świecie popyt na skrobię ziemniaczaną nieustannie wzrasta [41].

Współczesny przemysł spożywczy wykorzystuje na dużą skalę enzymatyczne hydrolizaty skrobiowe. Obejmują one szeroki zakres produktów, od niskocząsteczkowych, takich jak glukoza i syropy maltozowe, aż po produkty wysokocząsteczkowe, jak maltodekstryny [42], które są produktem otrzymanym na skutek enzymatycznego trawienia skrobi. Można je wyprodukować z udziałem różnych rodzajów skrobi, w tym skrobi ziemniaczanej. Maltodekstryny dzięki różnorodnym właściwościom posiadają wiele cennych właściwości użytkowych, m.in. emulgujące, stabilizujące, sklejające, spulchniające, wypełniające, przedłużające świeżość, poprawiające właściwości smakowe, regulujące słodycz naturalną [43].

Warto, aby osoby, które borykają się z problemem zbyt wysokiego poziomu glukozy we krwi, pamiętały, że ugotowane i wystudzone ziemniaki zawierają skrobię oporną. Mogą być one doskonałym składnikiem wielu sałatek serwowanych na zimno i spożywane w ten sposób przyczynią się do obniżenia poziomu glukozy we krwi.

Podsumowanie

Skrobia stanowi przykład wielofunkcyjnego surowca stosowanego w przemyśle – nie tylko spożywcym. Właściwości reologiczne skrobi, umożliwiające modyfikację jej lepkości, są kluczowe w odniesieniu do jej funkcjonalności jako dodatku do żywności. Skrobia jest surowcem odtwarzalnym, pozyskiwanym każdego roku z produktów roślinnych, w szczególności z ziemniaka, do uprawy którego Polska ma sprzyjające warunki glebowo-klimatyczne. Ze względu na swoje szczególne właściwości, a przede wszystkim dzięki możliwości ich modyfikacji, znajduje zastosowanie we wszystkich dziedzinach życia i nie należy jej unikać.

Literatura

- [1] Dzwonkowski W., Perspektywy rynku skrobi i produkcji ziemniaków skrobiowych w kontekście zmian Wspólnej Polityki Rolnej, Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, 2012, 265, s. 99–108.
- [2] Żyłowska A., Skrobia modyfikowana E1422 – właściwości, zastosowanie, szkodliwość, <https://wylecz.to/zywnosc/skrobia-modyfikowana-e1422-wlasciwosci-zastosowanie-szkodliwosc/> (dostęp 12.03.2023).
- [3] Szczygieł J., Wpływ funkcjonalizacji skrobi na procesy redukcji i sorpcji jonów chromu w środowisku wodnym oraz na jej stabilność termiczną, rozprawa doktorska, 2020, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie, s. 1–117.
- [4] Leszczyński W., Skrobia – surowiec przemysłowy, budowa i właściwości, Zeszyty Problemy Postępów Nauk Rolniczych, 2014, 500, s. 69–98.
- [5] Kugler S., Kierunki rozwoju biodegradowalnych materiałów skrobiowo – poliuretanych, Chemik, 2010, 64(7), s. 531–538.
- [6] Xu X., Dees D., Huang X.F., Visser R.G.F., Trindade L.M., Heterologous expression of two Arabidopsis starch dikinases in potato, Starch-Stärke, 2018, 70(1–2), s. 1–9.
- [7] Smuszkiewicz M., Skrobia – właściwości i zastosowanie, <https://www.budujmase.pl/odzywki-i-suplementy/o-suplementacji/skrobia-wlasciwosci-i-zastosowanie.html#ogolna-charakterystyka-skrobi> (dostęp 14.03.2023).
- [8] Perin D., Murano E., Starch polysaccharides in human diet: effect of the different source and processing on its absorption, Natural Product Communication – Sage Journals, 2017, 12(6), s. 837–853.
- [9] Sonnewald U., Kossmann J., Starches – from current models to genetic engineering, Plant Biotechnology Journal, 2013, 11, s. 223–232.
- [10] Cornuéljols D., Pérez S., Starch – a structural mystery, Science in School, 2010, 14, s. 22–27.
- [11] Ren F., Dong D., Yu B., Hou Z., Ciu B., Rheology, thermal properties and microstructure of heat-induced gel of whey protein-acetylated potato starch, Starch-Stärke, 2017, 69(9–10), s. 1–8.
- [12] Zgoda M.M., Kołodziejczyk M.K., Nachajski M.J., Skrobia i jej pochodne jako substancje pomocnicze w technologii doustnej i parenteralnej postaci produktu farmaceutycznego, Polimery w Medycynie, 2009, 39(1), s. 31–54.
- [13] Ocieczek A., Ruszkowska M., Palich P., Porównanie właściwości sorpcyjnych różnych rodzajów skrobi, Bromatologia i Chemiczna Toksykologia, 2012, 3, s. 1018–1023.
- [14] Bertolini A.C., Starches: characterization, properties, and applications, CRC Press, Boca Raton, 2017, s. 288.
- [15] Jobling S., Improving starch for food and industrial applications, Current Opinion in Plant Biology, 2004, 7(2), s. 210–218.
- [16] Piecyk M., Skrobia wolno trawiona i skrobia oporna a indeks glikemiczny produktów skrobiowych, Kosmos – Problemy Nauk Biologicznych, 2019, 68(1), s. 195–207.
- [17] Wang S., Li C., Copeland L., Niu Q., Wang S., Starch retrogradation: a comprehensive review, Food Science and Food Safety, 2015, 14, s. 568–585.
- [18] Sybis M., Konował E., Zastosowanie w technologii plastyfikatorów naturalnych w postaci skrobi, Przegląd Budowlany, 2019, 9, s. 76–78.

- [19] Piecyk M., Cichocka J., Worobiej E., Ocena wiedzy konsumentów na temat skrobi opornej, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2016, XLIX(3), s. 598–603.
- [20] Ohr L.M., Fortifying with fiber, *Nutraceutical and Functional Foods*, 2004, 58(2), s. 71–75.
- [21] Nugent A., Health properties of resistant starch, *Nutrition Bulletin*, 2005, 30(1), s. 27–54.
- [22] Rynek ziemniaka. Stan i perspektywy. Analizy rynkowe, W. Dzwonkowski (red.), wyd. IERiGŻ- PIB, Warszawa 2022, 49, s. 1–37.
- [23] Zgórska K., Wykorzystanie ziemniaka do celów spożywczych i przemysłowych, *Inżynieria Przetwórstwa Spożywczego*, 2013, 7, s. 5–11.
- [24] Mystkowska I., Zarzecka K., Baranowska A., Gugała M., Głuszczyk B., Lipiecki M., Porównanie opłacalności produkcji ziemniaków skrobiowych w rodzinnym gospodarstwie rolnym, *Zeszyty Naukowe Stowarzyszenia Ekonomistów Rolnictwa i Agrobiznesu*, 2016, XVIII(1), s. 186–189.
- [25] Ginter A., Czy produkcja ziemniaka skrobiowego jest opłacalna?, *Wiadomości Rolnicze*, 2023, 2, s. 16–17.
- [26] Stańko S., Mikuła A., Zmiany w produkcji, handlu zagranicznym i zużyciu krajowym ziemniaków w Polsce w latach 2001–2019, *Problemy Rolnictwa Światowego*, 2021, 21(1), s. 33–51.
- [27] Dzwonkowski W., Ewolucja produkcji ziemniaków w Polsce i UE, *Problemy Rolnictwa Światowego*, 2017, 17(3), s. 71–80.
- [28] Hajdu Z., Potato market changes – EU overview for the 2010–2019 period, *Bulletin of the Transilvania University of Brasov. Economic Sciences*, 2010, 13(1), s. 93–104.
- [29] Firlej K., Kubala S., Asymetria samowystarczalności produkcji ziemniaków w krajach Unii Europejskiej, *Roczniki Naukowe Stowarzyszenia Ekonomistów Rolnictwa i Agrobiznesu*, 2018, 20(2), 37–45.
- [30] Nowacki W., Szanse i zagrożenia rynku ziemniaka w Polsce, *Roczniki Naukowe Stowarzyszenia Ekonomistów Rolnictwa i Agrobiznesu*, 2015, 17(2), 169–175.
- [31] Przetaczek-Rożnowska I., Fortuna T., Serafin M., Wpływ ekstraktów wybranych roślin zielnych na charakterystykę kleikowania skrobi ziemniaczanej, *Postępy Fototerapii*, 2015, 2, s. 72–77.
- [32] Prośba-Białczyk U., Produkcja ziemniaka skrobiowego, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2008, 530, s. 43–52.
- [33] Leszczyński W., Znaczenie ziemniaka jako produktu żywnościowego oraz w przetwórstwie przemysłowym, *Ziemniak Polski*, 2012, 1, s. 38–43.
- [34] Bertoft E., Blennow A., Structure of potato starch, [w:] *Advances in potato chemistry and technology*, J. Singh, L. Kaur (red.), Amsterdam 2016.
- [35] Zdybel E., Właściwości preparatów skrobi ziemniaczanej poddanej modyfikacjom chemicznym i prażeniu, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, 4(49), s. 18–31.
- [36] PEPEES S.A., Skrobia ziemniaczana, <https://pepees.pl/index.php?wiad=428> (dostęp 11.03.20230).
- [37] Zgórska K., Wszechstronność wykorzystania bulw ziemniaka, *Ziemniak Polski*, 2010, 2, s. 52–55.
- [38] Sybis M., Konował E., Zastosowanie w technologii betonu plastyfikatorów naturalnych w postaci skrobi, *Rewitalizacja Obszarów Zurbanizowanych*, 2019, 9, s. 76–78.

Znaczenie skrobi ze szczególnym wskazaniem na produkt przemysłowego...

- [39] Chlandra A., Kijeńska E., Skrobia ziemniaczana jako biomateriał do wytwarzania rusztowań inżynierii tkankowej, *Ziemniak Polski*, 2018, 2(28), s. 46–52.
- [40] Nałęcz, M., Błażewicz S., Stoch L., *Biomateriały*, Akademicka Oficyna Wydawnicza, Warszawa 2003.
- [41] Ziółkowska A., Janus P., Elektryczna metoda pomiaru wilgotności skrobi ziemniaczanej na wyjściu suszarki pneumatycznej, *PAK*, 2011, 57(7), s. 705–708.
- [42] Krzyżaniak W., Olesienkiewicz A., Białas W., Słomińska L., Jankowski T., Grajek W., Charakterystyka chemiczna maltodekstryn o małym równoważniku glukozowym otrzymanych przez hydrolizę skrobi za pomocą alf-amylaz, *Technologia Almentaria*, 2003, 2(2), s. 5–15.
- [43] Fortuna T., Sobolewska J., Maltodekstryny i ich wykorzystanie w przemyśle spożywczym, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2000, 7(2), s. 100–109.

Do cytowania:

Ginter A., Zarzecka K., Gugąła M., Mystkowska I., Znaczenie skrobi ze szczególnym wskazaniem na produkt przemysłowego przetwórstwa ziemniaków – skrobię ziemniaczaną, *Herbalism*, 2023, 1(9), s. 135–145.

Właściwości odżywcze ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.)

Nutritional properties of the potato (*Solanum tuberosum* L.)

Iwona Mystkowska¹, Krystyna Zarzecka²

¹ Wydział Nauk o Zdrowiu, Zakład Dietetyki, Akademia Białska Nauk Stosowanych im. Jana Pawła II, ul. Sidorska 95/97, 21-500 Biała Podlaska, e-mail: imystkowska@op.pl

² Wydział Agrobiotechnologii i Nauk o Zwierzętach, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, ul. Prusa 14, 08-110 Siedlce

Słowa kluczowe: właściwości odżywcze, składniki chemiczne, *Solanum tuberosum*

Keywords: nutritional properties, chemical components, *Solanum tuberosum*

Streszczenie

Celem pracy było dokonanie przeglądu literatury naukowej dotyczącej zawartości wybranych składników odżywczych w bulwach ziemniaka oraz możliwości ich wykorzystania. Ziemniak (*Solanum tuberosum* L.), będący jedną z najważniejszych roślin jadalnych świata, stał się cenionym produktem spożywczym, ze względu na cenne właściwości odżywcze, dietetyczne i zdrowotne. O wysokiej jakości bulw decyduje zawartość składników chemicznych oraz niska zawartość związków toksycznych. Głównym składnikiem ziemniaka jest skrobia, stanowiąca około 10–16% jego masy, zawartość białka wynosi od 1,5 do 2,3%, przy czym ilość pełnowartościowego białka, zawierającego wszystkie aminokwasy egzogenne, to około 1%. Kolejnym składnikiem mającym wpływ na kształtowanie wartości odżywczej bulw jest błonnik pokarmowy, który stanowi 2,5% świeżej masy. Ziemniaki są ważnym źródłem wielu witamin: C, B₁, B₂, B₆, PP, E, K, kwasu pantotenowego i kwasu foliowego. Największe znaczenie ma witamina C, której zawartość wynosi około 20 mg w 100 g świeżej masy bulw. W ziemniakach występuje około 0,1% lipidów, które zawierają nienasycone kwasy linolowy i linolenowy, określane jako witamina F. Dzięki małej zawartości tłuszczu niska jest wartość energetyczna ziemniaków, mieszcząca się w przedziale 60–70 kcal w 100 g tego warzywa. Bulwy ziemniaka są źródłem polifenoli oraz makro- i mikroelementów. Szczególnie cenne są: potas, wapń i magnez, które mają działanie zasadotwórcze. Spożycie 200 g ziemniaka pokrywa 8–30% dziennego zapotrzebowania na potas, jod, magnez, żelazo, fosfor, miedź i wapń. Dietetycy twierdzą, że jego wartość odżywcza jest tak duża, iż ziemniaki mogą stanowić przez pewien czas jedyny składnik pożywienia człowieka bez uszczerbku dla jego zdrowia.

Summary

The aim of the study was to review the scientific literature on the content of selected nutrients in potato tubers and the possibility of their use. Potato (*Solanum tuberosum* L.) is one of the most important edible plants in the world and has become the most important food product due to its valuable nutritional, dietary and health properties. The quality of tubers is determined by the content of chemical components and the low content of toxic compounds.

The main component of the potato is starch, about 10–16%, and a protein content of 1.5 to 2.3%, with the amount of complete protein, containing all essential amino acids, being about 1%. Another component that shapes the nutritional value of tubers is dietary fiber, which accounts for 2.5% of the fresh weight. Potatoes are an important source of many vitamins: C, B₁, B₂, B₆, PP, E, K, pantothenic acid and folic acid. Vitamin C is the most important, with about 20 mg in 100 g of fresh weight of tubers. In potatoes there is about 0.1% of lipids, which contain unsaturated linoleic and linolenic acids, referred to as vitamin F. Thanks to the low-fat content, the energy value of potatoes is low, in the range of 60–70 kcal – 100 g. Potato tubers are a source of polyphenols and macro- and microelements. Especially valuable are potassium, calcium, magnesium, which have an alkaline-forming effect. Consumption of 200 g of potato covers the daily requirement of potassium, iodine, magnesium, iron, phosphorus, copper, calcium in 8–30%. Translated with www.DeepL.com/Translator (free version). Nutritionists claim that the nutritional value of potatoes is so great that they may be the only ingredient of human food for a while without detriment to their health.

Wstęp

Bulwy ziemniaka cały czas stanowią ważną pozycję w diecie przeciętnego Polaka, gdyż spożywane są w znacznych ilościach – około 100 kg na osobę rocznie, w tym 16 kg w postaci przetworów ziemniaczanych. Tendencja spożycia bulw powinna się utrzymać ze względu na ich cenne właściwości odżywcze, dietetyczne i zdrowotne [1–3]. Należy podkreślić, że prawidłowa dieta jest powszechnie uznawana za jeden z najważniejszych czynników warunkujących zdrowie. Bulwy ziemniaka odznaczają się dużą wartością odżywczą, co wynika m.in. z zawartości cennego białka, które pod względem jakości zbliżone jest do białka jaja kurzego [2, 4, 5]. Ziemniaki są ważnym źródłem wielu witamin, których przeciętne ilości w 100 g świeżej masy wynoszą: B₁ (tiamina) – 0,1 mg, B₂ (ryboflawina) – 0,07 mg, B₆ (pirydoksyna) – 0,25 mg, PP (niacyna) – 1 mg, kwas pantotenowy – 0,25 mg, kwas foliowy – 0,04 mg, E (tokoferol) – 0,1 mg, K (filochinon) – 0,06 mg. Największe znaczenie ma witamina C,

której w 100 g świeżej masy bulw jest około 20 mg [2]. Są także ważnym źródłem polifenoli, określanych jako metabolity wtórne o działaniu przeciwutleniającym [6], oraz źródłem składników mineralnych [7–10]. Celem pracy było dokonanie przeglądu literatury naukowej dotyczącej zawartości wybranych składników odżywczych w bulwach ziemniaka oraz możliwości ich wykorzystania.

Wybrane składniki odżywcze

Jednym z ważniejszych atrybutów dla konsumenta i przetwórcy ziemniaka jest zawartość w tym warzywie białka, które odznacza się największą wartością odżywczą ze wszystkich białek roślinnych [2, 4, 11]. Białko ziemniaczane jest bogate w aminokwasy egzogenne, takie jak: lizyna, leucyna, fenyloalanina i treonina, których organizm ludzki nie syntetyzuje. Z ośmiu aminokwasów, które należy dostarczyć organizmowi, aż siedem znajduje się w białku ziemniaka [12–14]. Jako jedno z nielicznych białek roślinnych ma ono wartość biologiczną odpowiadającą białku zwierzęcemu [15, 16]. Porównywalne jest z białkiem soi i tylko nieznacznie ustępuje wartości białka jaja kurzego [2, 13]. Według A. Pęksy [17] i W. Leszczyńskiego [2] zawartość białka ogółem w ziemniaku wynosi 1,5–2,3% świeżej masy, z czego białko właściwe, określane jako „czyste”, stanowi 35–65%. W badaniach A. Wierzbickiej i C. Trawczyńskiego [18] zawartość białka mieściła się w granicach 7,54–11,37%, a w badaniach K. Zarzeckiej i M. Gugały [19] białko stanowiło 9,15–11,68% suchej masy. Amerykańskie Stowarzyszenie do Badań nad Ziemniakiem uznało to warzywo za żywność bezglutenową, zawierającą doskonałej jakości białko, co daje liczne możliwości jego wykorzystania. Główne korzyści ze spożywczego zastosowania białka ziemniaczanego to brak alergenów oraz wysoka odżywczość [16, 11]. Kolejnym ważnym składnikiem bulw ziemniaka jest witamina C. Zawierają one znaczne ilości witamin rozpuszczalnych w wodzie oraz niewielkie ilości witamin rozpuszczalnych w tłuszczach. Przypuszczalnie wiąże się to z niską zawartością związków tłuszczowych w bulwach. Spośród witamin rozpuszczalnych w wodzie bulwy najwięcej zawierają witaminy C, której głównymi składnikami są kwas askorbinowy i kwas dehydroaskorbinowy. Ziemniak jadalny jest najtańszym i najbardziej powszechnym źródłem witaminy C, której zawartość w bulwach wynosi od 100 do 300 mg·kg⁻¹ świeżej masy [2, 20]. Dzielne zapotrzebowanie organizmu człowieka na witaminę C wynosi od 50 do 100 mg, przy czym średnia zawartość witaminy C w bulwach surowych wynosi 200 mg·kg⁻¹, zaś ziemniaki ugotowane zawierają jej 80 mg·kg⁻¹ (w wyniku 60% strat). Zatem spożycie 50 g ziemniaków pokrywa do 16% dziennego zapotrzebowania człowieka na ten cenny składnik [21]. Zawartość kwasu askorbinowego w bulwach ziemniaka jest cechą odmianową i w znacznym stopniu zależy od przebiegu pogody w czasie

wegetacji [21–23]. W zależności od odmiany oraz warunków uprawy zawartość tego składnika w bulwach zmienia się w bardzo szerokim zakresie i waha się najczęściej w granicach od 50 do 300 mg·kg⁻¹ [24].

Ważnymi składnikami bulw ziemniaka są cukry redukujące, zwane monosacharydami (glukoza + fruktoza) i sumy cukrów (cukry redukujące + sacharoza). Zawartość cukrów redukujących w bulwach ziemniaka przeznaczonych do konsumpcji bezpośredniej powinna wynosić nie więcej niż 0,50% (poziom optymalny: maks. 0,25%), a sumy cukrów – maks. 1,0% w świeżej masie bulw [4, 25]. Wyższa koncentracja monosacharydów w połączeniu z aminokwasami zwiększa intensywność reakcji Maillarda [26, 27] i powoduje ciemnienie mięszu podczas obróbki termicznej (smażenie, suszenie) oraz pogorszenie smaku i zapachu warzywa, a w końcowej fazie smażenia powstawanie akrylamidów [28–30].

Bulwy ziemniaka, oprócz podstawowych składników odżywczych (skrobia, białko, cukry), zawierają w świeżej masie 1–1,2% związków mineralnych, występujących w formie makro- i mikroelementów. Pierwiastki te pełnią w roślinie głównie funkcje budulcowe i fizjologiczne, jak również decydują o wartości dietetycznej warzywa [2, 31]. Potas odgrywa ważną rolę w gospodarce wodnej i jonowej organizmu, dlatego w niektórych schorzeniach zaleca się dietę ziemniaczaną. Fosfor jest podstawowym składnikiem związków decydujących o procesach energetycznych. Wchodzi w skład białek specyficznych i uczestniczy w przemianie węglowodanów. W badaniach zawartość fosforu w bulwach ziemniaka kształtowała się na poziomie 1,8–3,9 g·kg⁻¹ [32, 33]. Wapń uważany jest za pierwiastek warunkujący prawidłowy wzrost i rozwój roślin. Zawartość wapnia w bulwach mieściła się w granicach 0,30–0,69 g·kg⁻¹ [31, 33]. Ważnym składnikiem bulw ziemniaka jest magnez. Jego obecność w roślinie warunkuje podstawowe procesy przemiany materii i energii, bierze on udział w około 300 reakcjach enzymatycznych, stanowi też aktywne centrum cząsteczki chlorofilu.

Zawartość magnezu w suchej masie bulw ziemniaka w badaniach [31, 33, 34] wynosiła około 0,8–1,3 g·kg⁻¹. Spożycie 200 g ziemniaków pokrywa nawet 30% dziennego zapotrzebowania na potas, 10–14% – na fosfor, 8–17% – na magnez, 8–19% – na żelazo, 11–15% – na miedź oraz 6–30% – na jod [2]. Mikroelementy są ważną cechą jakościową ocenianą według kryteriów konsumpcyjnych i paszowych. Wchodzi one w skład różnych enzymów i aktywatorów, a do najważniejszych należą: żelazo, mangan, cynk i miedź [31, 35]. Żelazo bierze udział w procesie fotosyntezy i metabolizmie kwasów nukleinowych, stymuluje powstawanie chlorofilu, uczestniczy w redukcji azotanów i wiązaniu wolnego azotu oraz reguluje reakcje oksydacyjno-redukcyjne. Mangan uczestniczy w procesach oksydacyjno-redukcyjnych, fotosyntezie, dekarboksylacji, wiązaniu wolnego azotu, biosyntezie witaminy C [31].

Bulwy ziemniaka zawierają związki prozdrowotne – polifenole, które wykazują działanie: przeciwzapalne, przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe i przeciwnowotworowe.

Są one pożądane w diecie człowieka ze względu na ich korzystny wpływ na zdrowie [36–38]. Polifenole są jedną z największych grup przeciwutleniaczy i są uznawane za występujące najliczniej antyoksydanty w naszej diecie [39, 40]. Znajdując się w roślinach, zwiększają ich tolerancję na szkodliwe bodźce środowiska, a przede wszystkim na suszę. Ponadto ich obecność sprawia, że rośliny są mniej podatne na działanie czynników chorobotwórczych i występowanie szkodników [36]. Zawartość polifenoli w badaniach K. Hamouza i in. [23] wynosiła około 62,6–1157,0 mg·kg⁻¹, a w badaniach M.A. Lemosy i in. [41] 209,1 mg·kg⁻¹ świeżej masy bulw. Jakość ziemniaka jadalnego, na którą współczesny konsument zwraca szczególną uwagę, determinowana jest głównie składem chemicznym i cechami organoleptycznymi bulw (sensorycznymi, konsumpcyjnymi), takimi jak: smakowość, barwa miąższu, typ kulinarny, ciemnienie miąższu bulw surowych i ugotowanych oraz wygląd zewnętrzny [42, 43]. Smakowość powinna być dobra i bardzo dobra (powyżej 6 stopni w skali 1–9), a ciemnienie miąższu bulw surowych i ugotowanych – małe (odpowiednio powyżej 6,5 i ponad 7,5 stopnia w skali 1–9) [44]. W porównaniu do innych roślin ziemniak w znacznie mniejszych ilościach kumuluje środki ochrony roślin i metale ciężkie, ponadto związki te na ogół gromadzą się w skórce i są usuwane podczas obierania warzywa [2]. Wysokie walory odżywcze, ekonomiczne i dietetyczne bulw ziemniaka powodują, że tradycyjne spożywanie ich w dużych ilościach (bulwy gotowane) jest elementem modelu konsumpcji zgodnym z zaleceniami racjonalnego żywienia.

Podsumowanie

Specjaliści do spraw żywienia i dietetycy zalecają spożywać jak najwięcej ziemniaków ze względu na zawarte w nich cenne właściwości odżywcze i lecznicze. Ziemniak uznano za żywność bezglutenową, o doskonałej jakości białka. Główne korzyści ze spożywczego zastosowania białka ziemniaczanego to brak alergenów oraz wysoka odżywczość. Ponadto jest on najtańszym i najbardziej powszechnym źródłem witaminy C. Bulwy ziemniaka, oprócz podstawowych składników odżywczych, zawierają w świeżej masie 1–1,2% związków mineralnych, występujących w formie makro- i mikroelementów. Makroelementy, takie jak: potas, fosfor, magnez i wapń, to składniki pobierane przez rośliny w stosunkowo dużych ilościach, w różnych stadiach rozwoju. Pierwiastki te pełnią w roślinie głównie funkcje budulcowe i fizjologiczne, jak również decydują o wartości dietetycznej warzywa. *Solanum tuberosum* zdobywał i nadal zdobywa coraz większe grono zainteresowanych

jego niezwykłymi właściwościami oraz bogatym składem witamin i minerałów. To wielka siła w małej bulwie. Ze względu na składniki odżywcze ziemniaka należy spożywać go w ramach codziennego jadłospisu, traktując go jako ochronę przed chorobami cywilizacyjnymi.

Literatura

- [1] Alamar M.C., Tosetti R., Landahl S., Bermejo A., Terry L.A., Assuring Potato Tuber Quality during Storage: A Future Perspective, *Frontiers in Plant Science*, 2017, 28, s. 8–20.
- [2] Leszczyński W., Żywieniowa wartość ziemniaka i przetworów ziemniaczanych (przeгляд literatury), *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*, 2012, 266, s. 5–20.
- [3] Zarzecka K., Gugała M., Jakość konsumpcyjna bulw ziemniaka jadalnego w sieci handlowej Siedlec i Międzyrzecza Podlaskiego, *Roczniki Naukowe Stowarzyszenia Ekonomistów Rolnictwa i Agrobiznesu*, 2010, 12(4), s. 403–406.
- [4] Lisińska G., Pęksa A., Kita A., Rytel E., Tajner-Czopek A., The quality of potato for processing and consumption, *Food 3(Special Issue 2)*, Global Science Books, 2009, s. 99–104.
- [5] Żołądowski A.C., Studia nad zmiennością plonowania i jakością ziemniaka jadalnego (*Solanum tuberosum* L.) w warunkach zróżnicowanego nawożenia mineralnego, *UWM Olsztyn (Rozprawy i monografie – Dissertations and Monographs)*, 2013, 191, s. 1–259.
- [6] Ezekiel R., Singh N., Sharma S., Kaur A., Beneficial phytochemicals in potato – a review, *Food Research International*, 2013, 50, s. 487–496.
- [7] Haase T., Schüler C., Piepho H.P., Thöni H., Hess J., The effect of preceding crop and pre-sprouting on crop growth, N use and tuber yield of main crop potatoes for processing under conditions of N stress, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 2007, 193(4), s. 270–291.
- [8] Zarzecka K., Gugała M., Zarzecka M., Ziemniak jako dobre źródło składników odżywczych, *Postępy Fitoterapii*, 2013, 3, s. 191–194.
- [9] Głosek-Sobieraj M., Cwalina-Ambroziak B., Wierzbowska J., Waśkiewicz A., The influence of biostimulants on the microelement content of tubers in selected potato cultivars, *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 2018, 17(6), s. 37–48.
- [10] Głosek-Sobieraj M., Cwalina-Ambroziak B., Wierzbowska J., Waśkiewicz A., The influence of biostimulants on the content of P, K, Ca, Mg, and Na in the skin and flesh of potato tubers, *Polish Journal of Environmental Studies*, 2019, 28(3), s. 1–8.
- [11] Sawicka B., Pszczółkowski P., Wartość odżywcza białka wybranych odmian ziemniaka, [w:] *Bioprodukty – pozyskiwanie, właściwości i zastosowanie w produkcji żywności*, G. Lewandowicz, J. Le Thanh-Blicharz (red.), Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań 2016, s. 56–67.
- [12] Jarvan M., Edesi L., The effect of cultivation methods on the yield and biological quality of potato, *Agronomy Research*, 2009, 7(Special issue 1), s. 289–299.
- [13] Elfaki A.E., Abbsher A.M., Nutritional situation of potato subjected to Sudanese cooking methods, *Journal of Applied Sciences Research*, 2010, 6(8), s. 880–924.

- [14] Kołodziejczyk M., Effect of nitrogen fertilization and microbial preparations on quality and storage losses in potato cultivation, *Acta Agrophysica*, 2016, 23(1), s. 67–78.
- [15] Zgórska K., Wykorzystanie ziemniaka do celów spożywczych i przemysłowych, *Inżynieria Przetwórstwa Spożywczego*, 2013, 3/4, s. 1–9.
- [16] Harkema J., Potato Proteins “Free From” Texture & Nutrition. Conference Solanic® Potato Proteins – Free from Food Expo, Barcelona, 4–5 juni 2015, <http://www.freefromfoodexpo.com/pdf/2015-conference-solanic.pdf> (dostęp 16.01.2023).
- [17] Pęksa A., Białko ziemniaczane – charakterystyka i właściwości, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2003, 5, s. 79–94.
- [18] Wierzbicka A., Trawczyński C., Czynniki wpływające na zawartość i plon białka w bulwach ziemniaka, *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*, 2012, 266, s. 181–190.
- [19] Zarzecka K., Gugała M., Zawartość białka ogólnego i właściwego w bulwach ziemniaka w zależności od sposobów uprawy roli i odchwaszczania, *Acta Scientiarum Polonorum Agricultura*, 2006, 5(2), s. 107–115.
- [20] Zgórska K., Frydecka-Mazurczyk A., Rozmieszczenie suchej masy i sacharydów w różnych częściach bulw ziemniaka, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2002, 489, s. 327–334.
- [21] Wierzbicka A., Wybrane cechy jakości bulw ziemniaków uprawianych w systemie ekologicznym w zależności od nawadniania, *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 2011, 56(4), s. 203–207.
- [22] Love S.L., Pavék J.J., Positioning the potato as primary food source of vitamin C., *American Journal of Potato Research*, 2008, 85, s. 277–285.
- [23] Hamouz K., Lachman J., Pazderu K., Hejtmankova K., Cimr J., Musilova J., Pivec V., Orsak M., Svobodova A., Effect of cultivar, location and method of cultivation on the content of chlorogenic acid in potatoes with different flesh colour, *Plant Soil and Environmental*, 2013, 59(10), s. 465–471.
- [24] Zimnoch-Guzowska E., Flis B., Genetyczne podstawy cech jakościowych ziemniaka, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2006, 511, s. 23–36.
- [25] Zgórska K., Czerko Z., Grudzińska M., Wpływ wybranych czynników na zawartość glikoalkaloidów w bulwach ziemniaka, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2006, 1(46), s. 229–234.
- [26] Copp L.J., Blenkinsop R.W., Yada R.Y., Marangoni A.G., The relationship between respiration and chip color during long – term storage of potato tubers, *American Journal of Potato Research*, 2000, 77, s. 279–287.
- [27] Edwards Ch.G., Englar J.W., Brown Ch.R., Peterson J.C., Sorensen E.J., Changes in color and sugar content of yellow – fleshed potatoes stored at three different temperatures, *American Journal of Potato Research*, 2002, 79, s. 49–53.
- [28] Hebeisen T., Ballmer T., Guthapfel N., Torche J.M., Reust W., Suitable potato varieties reduce acrylamide formation in processed products and dishes, 16th Triennial Conference of the European Association for Potato Research, July 17–22, Bilbao, 2005, Spain, s. 496–500.
- [29] Shepherd L.V.T., Bradshaw J.E., Dale M.F.B., McNicol J.W., Pont S.D.A., Mottram D.S., Davies H.V., Variation in acrylamide producing potential in potato: Segregation of the trait in a breeding population, *Food Chemistry*, 2010, 123, s. 568–573.

- [30] Saraiva J.A., Rodrigues I.M., Inhibition of potato tuber sprouting by pressure treatments, *International Journal of Food Science & Technology*, 2011, 46, s. 61–66.
- [31] Wierzbicka A., Zawartość składników mineralnych w bulwach ziemniaka uprawianego w systemie ekologicznym, ich wartość żywieniowa i wzajemne relacje, *Journal of Research and Applications in Agricultural*, 2012, 57(4), s. 188–192.
- [32] Wierzbowska J., Cwalina-Ambroziak B., Głosek-Sobieraj M., Sienkiewicz S., Content of minerals in tubers of potato plants treated with bioregulators, *Romanian Agricultural Research*, 2016, 33, s. 291–298.
- [33] Mahamud M.A., Chowdhury M.A.H., Rahim M.A., Mohiuddin K.M., Mineral nutrient contents of some potato accessions of USA and Bangladesh, *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, 2015, 13(2), s. 207–214.
- [34] Wierzbicka A., Trawczyński C., Wpływ nawadniania i mikroorganizmów glebowych na zawartość makro- i mikroelementów w bulwach ziemniaków ekologicznych, *Fragmenta Agronomica*, 2011, 28(4), s. 139–148.
- [35] Tack F.M.G., Trace Elements in Potato, *Potato Research*, 2014, 57(3–4), s. 311–325.
- [36] Brown, C.R., Antioxidants in potato, *American Journal of Potato Research*, 2014, 82, s. 163–172.
- [37] Ezekiel R., Singh N., Sharma S., Kaur A., Beneficial phytochemicals in potato – a review, *Food Research International*, 2013, 50, s. 487–496.
- [38] Reddivari L., Hale A.L., Miller J.C., Genotype, location, and year influence antioxidant activity, carotenoid content, phenolic content, and composition in specialty potatoes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55, s. 8073–8079.
- [39] Ross J.A., Kasum C.M., Dietary flavonoids: Bioavailability metabolic effects and safety, *Annual Review of Nutrition*, 2002, 22, s. 19–34.
- [40] Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez, L., Polyphenols: Food sources and bioavailability, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2004, 79, s. 727–747.
- [41] Lemos M.A., Aliyu M.M., Kynoch G., Joseph L.R., Hungerford G., Effect of cooking on the levels of bioactive compounds in Purple Majesty Potato, *Inside Food Symposium*, Leuven, Belgium, 9–12 April 2013, s. 1–6.
- [42] Keutgen A., Pobereźny J., Wszelaczyńska E., Murawska B., Spychaj-Fabisiak E., Wpływ przechowywania na procesy ciemnienia bulw ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) i ich właściwości prozdrowotne, *Inżynieria i Aparatura Chemiczna*, 2014, 53(2), s. 86–88.
- [43] Zarzecka K., Gugała M., Dołęga H., Mystkowska I., Baranowska A., Wpływ biostymulatorów na smakowość i ciemnienie miąższu bulw ziemniaka, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2016, 585, s. 169–177.
- [44] Zgórska K., Grudzińska M., Zmiany wybranych cech jakości bulw ziemniaka w czasie przechowywania, *Acta Agrophysica*, 2012, 19(1), s. 203–214.

Do cytowania:

Mystkowska I., Zarzecka K., Właściwości odżywcze ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.), *Herbalism*, 2023, 1(9), s. 146–153.

Wartość lecznicza i fizjoterapeutyczna miodu pszczelego

Healing and physiotherapeutic value of bee honey

Iwona Mystkowska¹, Krystyna Zarzecka², Agnieszka Ginter²,
Aleksandra Dmitrowicz³

¹ Wydział Nauk o Zdrowiu, Zakład Dietetyki, Akademia Bialska Nauk Stosowanych im. Jana Pawła II w Białej Podlaskiej, ul. Sidorska 95/97, 21-500 Biała Podlaska, e-mail: imystkowska@op.pl

² Wydział Agrobioinżynierii i Nauk o Zwierzętach, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, ul. Prusa 14, 08-110 Siedlce

³ EKO-AGRO-TECH Regionalne Centrum Badań Środowiska, Rolnictwa i Technologii Innowacyjnych, Akademia Bialska Nauk Stosowanych im. Jana Pawła II, ul. Sidorska 107, 21-500 Biała Podlaska

Słowa kluczowe: miód, właściwości zdrowotne, fizjoterapia, apiterapia

Keywords: honey, health properties, physiotherapy, apitherapy

Streszczenie

Celem pracy było przedstawienie i podsumowanie już znanych informacji na temat wartości leczniczej i fizjoterapeutycznej miodu pszczelego. Badania wykazały, że działa on pozytywnie w leczeniu wielu schorzeń. Szczególnie korzystny wpływ przypisuje mu się na układ krążenia, pracę serca, układ nerwowy oraz schorzenia układu pokarmowego. Dobrze oddziałuje na układ oddechowy oraz dodatnio wpływa na skórę i błony śluzowe. Oprócz swoich działań prozdrowotnych miód ma jeszcze doskonałe właściwości fizyczne, np. lepkość, która pozwala na zastosowanie w terapii manualnej narządu ruchu zabiegu miodobrania.

Summary

The aim of the study was to present and summarize the existing information on the therapeutic and physiotherapeutic value of bee honey. Studies have shown that it works positively in the treatment of many conditions. Particularly beneficial effects are attributed to diseases of the circulatory system, heart function, nervous system and gastrointestinal tract. It works well on the respiratory system and has a positive effect on the skin and mucous membranes. In addition to its pro-health effects, honey also has excellent physical properties – viscosity, thanks to which it has been used in the manual therapy of the musculoskeletal system of the honey-bearing procedure.

Wstęp

Celem pracy było przedstawienie i podsumowanie już istniejących informacji na temat wartości leczniczej i fizjoterapeutycznej miodu pszczelego. Miliony lat temu człowiek odkrył, że miód jest bardzo pożywny oraz posiada wiele właściwości leczniczych. Dowodem na to są chociażby zapiski sumeryjskie, potwierdzające, że 4 tys. lat temu miód zalecany był jako produkt leczniczy i odżywczy. Hipokrates, do dziś uznawany za ojca medycyny, stosował miód do sporządzania maści leczniczych i słodzenia wywarów z ziół [1, 2]. Starożytnym Grekom miód, według ich wierzeń, zapewniał zdrowie, siłę i długowieczność. Jego właściwości cenione były również w Egipcie, czego dowodem są zapiski o zastosowaniu go do pielęgnacji skóry i urody oraz o kąpielach królowej Kleopatry w oślim mleku i miodzie.

W starożytności miód uważano za wielki dar bogów, zesłany na Ziemię dla dobra i szczęścia ludzi. Używali go królowie i prości ludzie. Stosowano go jako wspaśniały środek przeciwko wielu chorobom. Współczesna nauka ciągle odkrywa nowe możliwości biologicznego i terapeutycznego oddziaływania miodu na organizm ludzki. Dziedziną medycyny alternatywnej, zajmującą się m.in. właściwościami zdrowotnymi miodu, jest apiterapia [3, 4].

J. Kalinowski [1] określa miód jako roztwór wodny, w którego składzie znajdują się różne substancje organiczne oraz mineralne. Wytwarzany jest on przez pszczoły zbierające do ula nektar kwiatowy lub spadź. Substancje te to głównie cukry, które stanowią naturalny pokarm energetyczny dla rodziny pszczelej i czerwia. Duże znaczenie w przebiegu procesów życiowych pszczół ma także woda, składniki mineralne, witaminy i enzymy. Wyróżnia się różne rodzaje miodów. Można je podzielić na trzy typy: nektarowe, spadziowe i nektarowo-spadziowe, a także szybko i wolno krystalizujące się w komórkach plastra.

Miodem pszczelim nazywa się produkt wytwarzany przez pszczoły z nektaru kwiatowego lub spadzi. Aby wytworzyć 1 kg miodu, pszczoły muszą zebrać nektar z 2–8 mln kwiatów. W sprzyjających warunkach jedna rodzina pszczela może wytworzyć kilka kilogramów miodu dziennie. Przyjmuje się, że jeden ul gromadzi rocznie około 100 kg miodu. Z tego 90 kg zużywa na rozwój, a jedynie 10 kg pozyskuje pszczelarz [5].

Najważniejszymi cechami miodu są jego barwa, smak, aromat, jak również stopień skryształizowania. Miody wyróżniają się łagodnym i przyjemnym aromatem. Miody nektarowe w większości mają barwę jasną, spadziowe są przeważnie ciemniejsze. Miody jasne odznaczają się z reguły delikatnym, a niekiedy lekko mdłym smakiem. Produkty ciemniejsze mają zwykle bardziej zdecydowany, lekko ostry, a nawet cierpki smak. Poddane dłuższemu dostępowi światła i przegrzaniu miody ciemnieją oraz tracą aktywność biologiczną [6, 7].

Podczas kwitnienia rośliny kwiatowe produkują nektar, którym wabią pszczoły. Pszczoła zbiera nektar do zbiorniczka znajdującego się na tylnych kończynach, nazywanego wolem miodowym. Jednorazowo przynosi do ula około 30 mg nektaru w wolu miodowym, który jest wzbogacany enzymami i kwasami organicznymi pochodzącymi z jej organizmu. Znosi go do ula, gdzie magazynowany jest w komórkach i tam rozpoczyna etap dojrzewania. Dzięki różnym zabiegom przeprowadzanym przez pszczoły nietlotne (takim jak odparowanie nadmiaru wody, wzbogacanie enzymami), miód przechodzi cykl przemian chemicznych. Skład chemiczny miodu zależy od pożytku zbieranego przez pszczoły [8]. Gdy miód jest dojrzały, robotnice umieszczają go w dolnych komórkach plastra, gdzie ostatecznie ulega odparowaniu. W miarę zagęszczania miód przenoszony jest do górnych komórek plastra, a komórki zasklepiane są woskiem. Dojrzewanie miodu trwa od 4 do 7 dni, w trakcie tego procesu obniża się w nim zawartość wody do około 18%, co zapobiega jego fermentacji [9].

Wartość lecznicza miodu

Miód pszczeli słynie z cennych właściwości odżywczych i leczniczych, które wynikają z jego bogatego składu chemicznego [8]. Skład miodu w zależności od pory roku i gatunku roślin, z których pochodzi, może być bardzo zróżnicowany chemicznie [10]. Natomiast jego jakość zależy przede wszystkim od umiejętności i kwalifikacji pszczelarzy, w tym od: sposobu podbierania, konfekcjonowania i przetwarzania miodu [9]. Kolejnym istotnym czynnikiem mającym wpływ na miód są odpowiednie warunki jego przechowywania [11].

Miód to pożytek o bardzo bogatym składzie. W miodach wykryto ponad 300 różnych substancji. Miód pszczeli składa się głównie z węglowodanów i wody. Głównym składnikiem suchej masy są cukry, z czego 70–80% stanowią glukoza i fruktoza [8]. Poza wymienionymi cukrami prostymi w składzie znajdują się wielocukry, dekstryny, których w miodzie nektarowym jest stosunkowo mało (maksymalnie 3%), natomiast w miodzie spadziowym więcej (około 10%). Pozostałymi składnikami miodu są kwasy organiczne – około 1%, białko (0,29–3%), enzymy (diastaza, inwertaza, oksydaza, lizozym), kwasy fenolowe, flawonoidy, witaminy oraz składniki mineralne (0,25–0,35%), przede wszystkim: potas, wapń, sód, żelazo, fosfor, kobalt, mangan, miedź. Spośród biopierwiastków w największej ilości występuje potas. Miód zawiera także niewielkie ilości witamin, zwłaszcza C, H, PP i witamin z grupy B. Głównym źródłem białek występujących w miodzie pszczelim są enzymy pochodzące z organizmów pszczół, w mniejszym stopniu są to białka i enzymy roślinne pochodzące z pyłku kwiatowego i nektaru. O właściwościach przeciwzapalnych decydują przede wszystkim enzymy: inwertaza, laktaza, α - i β -amylaza,

oksydaza glukozy, katalaza oraz fosfataza [8, 12]. Miody zawierają również pewne ilości kwasów organicznych, w tym kwasy: mlekowy, jabłkowy, mrówkowy, cytrynowy, bursztynowy, masłowy, p-aminobenzoesowy, octowy, piroglutaminowy oraz glukonowy, a także olejki eteryczne [13]. Miód pszczeli to także źródło cennych antyoksydantów. Występują w nim zarówno antyoksydanty enzymatyczne, jak i nieenzymatyczne. Do enzymatycznych przeciwutleniaczy zalicza się: oksydazę glukozy, katalazę i peroksydazę glutationową. W drugiej grupie znajdują się z kolei: flawonoidy (hesperytyna, trycetyna, luteolina, galangina, kampferol, kwercetyna, naryngenina, chrysyna), kwasy fenolowe i ich estry (chlorogenowy, cynamonowy, benzoesowy, kofeinowy, galusowy, wanilinowy), wolne aminokwasy (prolina), witaminy (E i C) oraz pochodne karotenoidów [14]. Spośród antyoksydantów pochodzenia roślinnego największe znaczenie mają związki polifenolowe [15]. M. Bytniewska i B.K. Głód [16] wskazują, że miód gryczany zawiera największe stężenia zarówno silnych, jak i słabych antyoksydantów. Według badań tych samych autorów w każdym rodzaju miodu pszczelego znajduje się znaczna ilość słabych przeciwutleniaczy [16].

Ze względu na postępujący rozwój chorób cywilizacyjnych, wzrost produkcji żywności przetworzonej i sztucznych dodatków do żywności zaobserwowano zwiększone zainteresowanie produktami naturalnymi, które poza walorami smakowymi w sposób kompleksowy działają odżywczo i regenerująco na organizm człowieka. Do takich produktów bez wątplenia można zaliczyć naturalny miód pszczeli [8, 17].

Znane są właściwości przeciwalergiczne miodu, wykorzystywane szczególnie w alergiach oddechowych. Spożywanie miodu wpływa korzystnie na poziom glukozy i profil lipidowy krwi osobników z indukowaną doświadczalnie cukrzycą. Aktywnie badane są właściwości lecznicze miodu w schorzeniach dermatologicznych, m.in. w leczeniu stopy cukrzycowej. Miód wykazuje działanie przeciwnowotworowe, może być stymulatorem układu immunologicznego, zalecany jest do łagodzenia objawów sezonowej alergii na pyłki, szczególnie u dzieci [18–20].

Poza właściwościami odżywczymi miód wykazuje właściwości bakteriobójcze [21]. Czynniki odpowiedzialne za antibakteryjne właściwości miodu można podzielić na trzy zasadnicze grupy: fizyczne (niskie pH oraz wysokie ciśnienie osmotyczne, wynoszące około 500 Pa), chemiczne (flawonoidy, składniki olejków eterycznych, kwasy organiczne, garbniki oraz inne składniki pochodzące z nektaru i spadzi) oraz enzymatyczne (głównie oksydaza glukozy i lizozym) [8, 22]. Wymienione substancje enzymatyczne są wytwarzane w gruczołach ślinowo-gardzielowych pszczół robotnic i trafiają do miodu w trakcie jego przetwarzania. Eksperymenty mikrobiologiczne dowodzą, że wszystkie odmiany miodu hamują wzrost bakterii. Najsilniejsze właściwości przeciwdrobnoustrojowe wykazywały miody ciemne: gryczany, wrzosowy, spadziowy oraz leśny [13].

Dla konsumentów w kontekście działania przeciwbakteryjnego miodu istotna jest zawartość termostabilnych substancji antybiotycznych. Dzięki nim miody ogrzewane do wysokiej temperatury nadal utrzymują aktywność. Substancje takie stwierdzono w nowozelandzkim miodzie manuka (*Echium vulgare*), w rumuńskich miodach spadziowych z drzew iglastych, a także w miodzie wrzosowym (*Leptosperum scoparium*). Do substancji termostabilnych zalicza się również kwasy fenolowe (syryngowy, kwas 2-hydroksybenzoesowy, kwas 3,4,5-trimetoksybenzoesowy). Wszystkie miody zawierają kwas benzoesowy o silnym działaniu nie tylko przeciwbakteryjnym, ale i przeciwgrzybicznym [22]. Skuteczność antybakteryjna miodów jest najprawdopodobniej efektem synergicznego działania flawonoidów, kwasów fenolowych i olejków eterycznych [6, 23].

Okazuje się także, że działanie antybiotyczne miodu potęguje rozpuszczenie go w ciepłej wodzie, herbacie lub mleku. Rozcieńczenie miodu powoduje znacznie szybsze powstawanie antybakteryjnego nadtlenu wodoru. Szacuje się, że bakteriobójczość jest wtedy około 200 razy wyższa niż w miodzie nierozcieńczonym. Również przyswajalność miodu jest w tym wypadku większa, gdyż wzrasta nawet 100-krotnie. Rozpuszczając miód w płynach, należy dopilnować, by były one ciepłe, a nie gorące. Na ogół przyjmuje się, że ogrzewanie miodu w temperaturze wyższej niż 60°C powoduje całkowite zniszczenie zawartych w nim substancji antybiotycznych, jednak częściowy ich rozkład następuje także w temperaturach niższych. Dlatego temperatura płynu nie powinna przekraczać 40°C [13].

Innym z nieocenionych właściwości leczniczych produktów pszczelich jest działanie wspomagające gojenie ran. Spośród produktów pszczelich środkiem wykazującym najsilniejsze działanie polegające na przyspieszeniu gojenia oraz łagodzeniu oparzenia jest propolis. Również miód manuka znalazł zastosowanie do leczenia ran, w tym tych najtrudniej gojących się – w przebiegu nowotworów oraz owrzodzeń. FDA (U.S. Food and Drug Administration) zarejestrowała jako wyrób medyczny opatrunek zawierający miód manuka. Istnieją liczne badania na temat przyspieszenia gojenia ran i zmniejszania wysięku za pomocą opatrunku z miodem [24, 25]. Stosowanie opatrunków z miodem jest skuteczne w leczeniu ran odleżynowych [26], stopy cukrzycowej [27], pęknięć po cięciu cesarskim [25].

Kolejnym działaniem przypisywanym miodowi pszczelemu jest jego pozytywny wpływ na układ oddechowy, zwłaszcza w przypadku kaszlu. Zastosowanie w przeziębieniach i infekcjach górnych dróg oddechowych mają przede wszystkim miody spadziowe i nektarowo-spadziowe, miód gryczany oraz lipowy. Miód można z powodzeniem stosować w ostrych i przewlekłych stanach zapalnych gardła i anginie. Przynosi ulgę w katarze, ostrych i przewlekłych zapaleniach zatok, krtani, tchawicy, oskrzeli i płuc. W trakcie leczenia tych chorób miodem obserwuje się ustępowanie kaszlu, bólu gardła i głowy, łatwiejsze odksztuszanie i oddychanie,

ustępowanie gorączki oraz ogólną poprawę samopoczucia [6, 28]. Miody odmianowe – malinowy, rzepakowy, spadziowy i lipowy – mogą być wykorzystywane pomocniczo w grypie, gdyż przyczyniają się do złagodzenia jej objawów. W tym wypadku polecany jest zwłaszcza miód lipowy, wykazujący silne właściwości napotne. Istnieją badania naukowe na temat wykorzystania miodu u dzieci w stanach infekcji dróg oddechowych. Miód jest często wybierany przez rodziców w celu złagodzenia kaszlu u dzieci, zamiast preparatów chemicznych. Natomiast zastosowanie miodu u dorosłych cierpiących na kaszel jest rzadkie – częściej wybierają oni środki chemiczne o silniejszym działaniu. Z pewnością podawanie miodu może złagodzić objawy chorobowe ze strony układu oddechowego, w tym kaszel; wówczas jednak używany jest on nie jako lek, ale jako środek wspomagający [6, 28].

Miód dzięki poprawie krążenia wieńcowego działa korzystnie na mięsień sercowy. Dodatkowo zawiera duże ilości potasu, który wpływa na prawidłowe funkcjonowanie serca. Miód często jest polecany pacjentom po przebytych zawałach, ale także osobom z problemami w obrębie układu krążenia: cierpiącym na miażdżycę, nadciśnienie tętnicze, chorobę niedokrwinną oraz na inne schorzenia układu sercowo naczyniowego. Miód pozytywnie wpływa na obniżenie poziomu cholesterolu całkowitego, frakcji LDL i trójglicerydów, a także na wzrost stężenia frakcji HDL [29]. Miód jest źródłem tlenu azotu, mającego działanie wazodylatacyjne, co sprzyja obniżeniu ciśnienia krwi, przy czym jego większe ilości znajdują się w miodach ciemnych i świeżych, z kolei mniejsze – w miodach jasnych i długo przechowywanych. Dlatego zarówno pacjenci z ryzykiem rozwoju chorób sercowo-naczyniowych, jak i osoby zdrowe powinni spożywać miód celem profilaktyki chorób cywilizacyjnych [29].

W ostatnich latach podkreśla się znaczenie stresu oksydacyjnego na organizm człowieka jako czynnika wywołującego wiele chorób o zasięgu globalnym, m.in.: cukrzycę, nadciśnienie tętnicze, nowotwory, chorobę Alzheimera czy choroby serca [30]. „Stres oksydacyjny” to nic innego jak brak równowagi pomiędzy utleniaczami i przeciwutleniaczami, z przewagą utleniaczy. Taki stan organizmu prowadzi do zniszczeń w składnikach komórek, co upośledza funkcje fizjologiczne i wywołuje procesy patologiczne mające podłoże zapalne. Antyoksydanty to związki naturalnie występujące w organizmie, ich rolą jest ochrona związków biologicznych przed utlenieniem. Znajdują się one również w pożywieniu, szczególnie pochodzenia roślinnego, m.in. w produktach pszczelich [14].

Miód pszczeli zmniejsza aktywność cyklooksygenazy (substancji przeprowadzającej przemianę kwasu arachidonowego w prostaglandyny) w bazofilach, wpływając dzięki temu na aktywność mediatorów zapalenia. Tym samym zmniejsza procesy zapalne w organizmie [31].

Miód, propolis oraz pyłek kwiatowy wykazują zdolność eliminowania metali ciężkich z organizmu [32]. Szkodliwe metale ciężkie – rtęć, kadm i ołów – w przypadku zatrucia zarówno ostrych, jak i przewlekłych uszkodzają błony komórkowe oraz inne organelle, co przekłada się na uszkodzenia tkanek układu pokarmowego, nerwowego, krwionośnego i oddechowego. Metale ciężkie wykazują także działanie onkogenne. Ze względu na tak negatywne ich oddziaływanie na człowieka bardzo ważna jest ich eliminacja z organizmu, czemu, jak dowodzi nauka, sprzyja spożywanie produktów pszczołich bogatych we flawonoidy. Flawonoidy to naturalne roślinne barwniki o właściwościach przeciwzapalnych, antybakteryjnych i przeciwnowotworowych. Dzięki właściwościom antyoksydacyjnym chronią organizm człowieka przed wolnymi rodnikami oraz tworzą związki chelatowe, co ułatwia usuwanie toksycznych metali. Doskonałym przykładem wydaje się połączenie flawonoidu – kwercetyny z ołowiem, gdyż ułatwia wydalanie tego metalu z moczem. Flawonoidy mogą również tworzyć chelaty z miedzią, cynkiem, kadmem, arsenem, niklem, kobaltem i uranem [32].

Miód pszczoły jako źródło cukrów prostych stanowi zamiennik sacharozy, czyli cukru rafinowanego. Jest dla organizmu człowieka łatwo przyswajalny, nie podlega trawieniu, wchłania się w ciągu 15 min i nie ulega fermentacji w przewodzie pokarmowym. W przeciwieństwie do sacharozy miód wzbogaca pokarm w składniki o działaniu prozdrowotnym, profilaktycznym, antyoksydacyjnym i antybakteryjnym. Zalecany jest dzieciom powyżej 1. roku życia, dorosłym, osobom starszym i aktywnie uprawiającym sport. Zawarte w miodzie laktulozy oraz dekstryny stymulują w przewodzie pokarmowym rozwój korzystnych dla organizmu bakterii *Bifidobacterium bifidus*, co zapobiega powstawaniu wzdęć i kolek oraz przeciwdziała rozwojowi patogennej flory jelitowej. Wzmożone lub nadmierne spożycie miodów może powodować efekt łagodnie przeczyszczający. Szczególnie u osób, u których występuje niedostateczna absorpcja fruktozy. Efekt ten jest często wykorzystywany w leczeniu zaparć we wschodniej Europie [33]. Jak każda substancja słodząca miód wymaga racjonalnego stosowania. Wartość energetyczna miodu wynosi około 320 kcal/100 g, a cukru 400 kcal/100 g. Miód najszybciej ze wszystkich produktów naturalnych uzupełnia niedobory energetyczne oraz utrzymuje odpowiedni poziom energii przez wiele godzin. Wykazano, że przyjmowanie miodu w ilości 1 g/kg masy ciała dziennie przez miesiąc podwyższa fizyczną zdolność do pracy o 14%. Dlatego miód powinien być szeroko stosowany, zwłaszcza w żywieniu młodzieży szkolnej, studentów, osób ciężko pracujących, uprawiających sport, rekonwalescentów, osób niedożywionych i ludzi starszych [33]. Ponadto miód ze względu na większą słodkość, stosowany jest w mniejszej ilości niż cukier (używa się go nawet o połowę mniej). Tym samym słodząc miodem zamiast cukrem, redukuje się spożycie kalorii nawet o około 30% [13].

Zastosowanie miodu w fizjoterapii

Miód wykorzystywany jest w fizjoterapii, a ściślej rzecz ujmując – w terapii manualnej narządu ruchu [34, 35]. Oprócz korzyści prozdrowotnych ma on także doskonale właściwości fizyczne – lepkość [18]. Na lepkości miodu opiera się metodyka zabiegu miodobrania. Miodobranie to rodzaj terapii, mający szczególne zastosowanie w restrykcjach powięziowych, szczególnie tych, które manifestują się ostrym bądź przewlekłym bólem. Po nałożeniu niewielkiej porcji miodu na skórę na miejsce poddawane terapii należy wykonywać ruchy opisywane jako odciągające, wklepujące czy pompujące [36, 37]. Po wchłonięciu w skórę nadmiernej ilości miodu pozostała część tworzy kleistą warstwę, do której mocno przywierają płasko ułożone dłonie terapeuty (ich dystalna część). Odrywając ręce, terapeuta unosi skórę i tkankę podskórną, a co za tym idzie – powięź powierzchowną. Masaż wykonuje się do momentu całkowitego wchłonięcia miodu, a więc do chwili, gdy ręce terapeuty przestają przyklejać się do skóry [37]. To znak, że miód traci swoją lepkość – należy wówczas nałożyć kolejną porcję miodu lub zakończyć zabieg. Po takiej terapii pacjenci bardzo często odczuwają lekkość w stawie i w obrębie części ciała poddanej terapii [38].

Ten rodzaj terapii jest uzasadniony zawsze w przypadku zaburzenia przesuwalności powięzi powierzchownej, z punktu widzenia anatomii i patofizjologii narządu ruchu w przypadku odkształceń cylindrycznych, zwłaszcza na dużej powierzchni. Z dużym powodzeniem stosowany jest również w leczeniu świeżych i przewlekłych urazów stawów i mięśni, w tym urazów przebiegających z obrzękiem [39]. Działanie manualne miodem w terapii przeciwobrzękowej opiera się – poza lepkością miodu – na osmozie [18]. Jest to zjawisko polegające na dążeniu do wyrównywania się stężeń dwóch ośrodków o różnej gęstości, przenikających przez błonę półprzepuszczalną [40]. Tymi ośrodkami w terapii miodem są miód oraz nagromadzony w tkankach, tuż pod skórą obrzęk. Błona półprzepuszczalna to oczywiście skóra i jej poszczególne warstwy. Podczas terapii miodem dochodzi także do podrażnienia różnych receptorów, co skutkuje mocnym rozszerzaniem się naczyń włosowatych. W konsekwencji wywołuje zwiększony przepływ krwi w miejscu poddawanych terapii i szybsze ustępowanie obrzęku [41]. Kierunek wklepywania miodu w terapii obrzęków również pozostaje nie bez znaczenia. Właściwy kierunek daje efekt drenowania tkanek. Ruch rąk fizjoterapeuty powinien sprzyjać przepływowi chłonki, czyli odbywać się od części dystalnych do proksymalnych oraz zgodnie z kierunkiem do najbliższych węzłów chłonnych. Oprócz wymienionych wyżej działań oddziaływanie miodem na skórę stanowi doskonały zabieg złuszczący naskórek [42]. Skóra po miodobraniu jest miękka i gładka, a powięź i mięśnie nabierają elastyczności i sprężystości, co przekłada się także na efekt przeciwbólowy i wzrost zakresu ruchu [43].

Dodatkowym atutem miodobrania jest bezpieczeństwo jego stosowania. Przeciwwskazaniami do terapii miodobrania są: alergia na miód, stany chorobowe przebiegające z gorączką, świeże rany, zaburzone krzepnięcie krwi. Przeciwwskazaniami względnymi są: schorzenia naczyń krwionośnych (żylaki), skłonności do powstawania siniaków, cera naczynkowa, nowotwory, zażywanie leków przeciwbólowych, ciąża, menstruacja [44]. Warto uwzględnić ten zabieg w planie terapii, zwłaszcza wówczas gdy inne techniki pracy z tkankami miękkimi nie przynoszą oczekiwanych rezultatów. Do najczęstszych wskazań do zabiegu należą: świeży, a także przedawniony obrzęk stawu i jego okolicy (najczęściej pourazowy); tzw. zakwasy, czyli mikrouszkodzenia włókien mięśniowych po intensywnym wysiłku fizycznym; wzmożone odczucie ciśnienia i rozpierania w stawach obwodowych i kręgosłupie, przewlekły ból mięśniowy i stawowy; mięśnie, które w ruchu wykazują odczucie pęcznienia, siniaka; przewlekłe, powtarzające się urazy, takie jak: łokieć tenisisty, zamrożony bark, nawykowe skręcenia stawu skokowego, konflikt rzepkowo-udowy itp. czy też ból pleców spowodowany pracą w pozycji siedzącej. W zabiegu miodobrania najczęściej używa się miodu wielokwiatowego ze względu na jego zdolność utrzymywania się przez długi czas w formie płynnej oraz niewielkie ryzyko reakcji uczuleniowej u osób nadwrażliwych na substancje miodowe. Stosowanie różnych typów miodów pozwala skupić się bardziej na wybranych schorzeniach i chorobach współistniejących, których leczenie dzięki temu możemy wspomagać. Zabieg najlepiej wykonywać przez około 20 min (odpowiednio do wielkości okolicy zabiegowej), co drugi dzień. Masaż miodem to rodzaj masażu, który posiada właściwości detoksykacyjne (odtruające) organizm [44]. W zabiegu tym usuwanie toksyn odbywa się przez skórę. Wśród problemów zdrowotnych, które pomaga korygować masaż miodem, znajdują się stany nerwowości i nadpobudliwości, bóle stawów i mięśni o pochodzeniu napięciowym, nadwaga. Ingerencja w organizm przy pomocy tego zabiegu uruchamia i pobudza działanie układu odpornościowego [45]. Po pierwszych kilku zabiegach pacjent może czuć osłabienie, mieć wrażenie nawet pogorszenia samopoczucia, ale jest to normalna reakcja i nie powinna ona budzić niepokoju. To oznaka swoistego przestrajania mechanizmów ciała, które wywołuje określony łańcuch reakcji przebudowujących jego dotychczasowe działanie, nazywanego inaczej reakcją adaptacyjną organizmu. Biorąc pod uwagę fakt odruchowego połączenia skóry ciała ludzkiego z organami wewnętrznymi i układem ruchu, należy stwierdzić, iż masaż miodem ma niezwykłą zdolność generowania reakcji działających nawet na bardzo odległe wybrane miejsca w ciele. Po pierwsze jest to ważne, gdyż nie zawsze daje się przeprowadzać zabiegi na dokładnie wybranym miejscu, a trzeba w jakiś sposób do niego docierać z terapią. Po drugie warto też wspomnieć, że działając na rejonry szczególnie unerwione czy też istotne odruchowo w całościowym modelu funkcji ciała, można uzyskać niespodziewanie

duże i cieszące pacjenta efekty widoczne w powrocie do pełnego zdrowia. Masaż wykonuje się nieznacznie podgrzany miodem, który winien osiągać temperaturę akceptowalną przez pacjenta: około 30 stopni. Tak ciepły miód posiada nieco bardziej płynną formę niż miód o temperaturze pokojowej, łatwiej daje się smarować po skórze i łatwo się wchłania. Po zabiegu nie nakłada się na skórę żadnego kremu ani maści [9, 34, 38, 46].

Do zabiegów może być wykorzystywany każdy z miodów dostępnych na rynku (poza sztucznym). Najczęściej używa się miodu wielokwiatowego ze względu na jego zdolność utrzymywania się przez długi czas w formie płynnej oraz niewielkie ryzyko reakcji uczuleniowej u osób nadwrażliwych na substancje miodowe. Stosowanie różnych typów miodów pozwala jednak skupić się bardziej na wybranych schorzeniach, które chcemy leczyć. Renomowane ośrodki rekreacyjne oraz spa przejęły już i wykorzystują na swoje potrzeby ten typ masażu ze względu na jego niezwykłą skuteczność. Potwierdza się więc reguła, że zastosowanie środków naturalnych wyzwała w organizmach ludzkich potencjał do samoregulacji i zdrowia [9, 34, 38, 46].

Podsumowanie

Specjaliści do spraw żywienia i dietetycy zalecają spożywać jak najwięcej miodu, ze względu na zawarte w nim cenne właściwości odżywcze i lecznicze. Miód pszczeli wykorzystywany jest do leczenia chorób zewnętrznych i wewnętrznych. Miód okazał się skuteczny w leczeniu chorób skóry, błon śluzowych, chorób przewodu pokarmowego, a także w zapobieganiu powstawania choroby wrzodowej i nowotworów żołądka. Zastosowanie miodu w fizjoterapii to powrót do pierwotnych i naturalnych metod wpływania na nasze zdrowie.

Literatura

- [1] Kalinowski J., ABC pszczelarza, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa 1985.
- [2] Kokocińska T., Żybertowicz Z., Miód. Złoty cud natury, Świat Książki, Warszawa 2009, s. 7–42.
- [3] Kaczmarczyk P., Apiterapia, Wydawnictwo KOLPAP, Kielce 2009.
- [4] Kędzia B., Hołderna-Kędzia E., Apiterapia. Leczenie miodem i innymi produktami pszczelimi, Wydawnictwo SBM, Warszawa 2020.
- [5] Bancewicz J., Pszczoły w gospodarstwie – rok z pszczołami. Dobre praktyki pszczelarskie, Warmińsko-Mazurski Ośrodek Doradztwa Rolniczego z siedzibą w Olsztynie, Olsztyn 2019.
- [6] Hołderna-Kędzia E., Kędzia B., Krajowe miody odmianowe w profilaktyce i leczeniu, Postępy Fitoterapii 2021, 22(2), s. 114–124.

- [7] Wilczyńska A., Wpływ procesów technologicznych na jakość miodów pszczelich – zmiany parametrów barwy oraz zawartości HMF pod wpływem przechowywania i ogrzewania, *Zeszyty Naukowe/ Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu*, 2011(196), s. 91–98.
- [8] Kędzia B., Hołderna-Kędzia E., Wykorzystanie miodu w zakażeniach, *Herbalism*, 2020, 1(6), s. 84–94.
- [9] Majewska E., Porównanie wybranych właściwości miodów pszczelich jasnych i ciemnych, *Nauka. Przyroda. Technologie*, 2009, 3, s. 4.
- [10] Czerwonka M., Szterk A., Waszkiewicz-Robak B., Ocena właściwości przeciwutleniających i zawartość związków polifenolowych w produktach pszczelich, *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 2010, 2, s. 20–24.
- [11] Gomes S., Dias L.G., Moreira L.L., Rodrigues P., Estevinho L., Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal, *Food and Chemical Toxicology*, 2010, 48, s. 544–548.
- [12] Roman A., *Podstawy pszczelarstwa*. Wydawnictwo Akademii Rolniczej, Wrocław 2006.
- [13] Godlewska M., Świsłocka R., Fizykochemiczne i przeciwdrobnoustrojowe właściwości miodów z rejonu Podlasia, *Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych*, 2015, 64(2), s. 347–352.
- [14] Wantusiak P., Piszcz P., Skwerek M., Właściwości antyoksydacyjne miodów wyznaczone metodami chromatograficznymi, *Camera Separatoria*, 2011, 3(2), s. 297–317.
- [15] Szajek A., Borowska J., Właściwości przeciwutleniające żywności pochodzenia roślinnego, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, 4, s. 5–28.
- [16] Bytniewska M., Głód B.K., Właściwości antyoksydacyjne miodów wyznaczone za pomocą HPLC-ED, *Camera Separatoria*, 2013, 5(1), s. 11–15.
- [17] Jedlińska A., Samborska K., Witrowa-Rajchert D., Właściwości fizyczne proszków na bazie miodu pszczelego otrzymanych metodą suszenia rozpyłowego i sublimacyjnego, *Acta Agrophysica*, 2012, 19(3), s. 563–574.
- [18] Dubiński G., Nowak A., Klimowicz A., Wybrane właściwości miodu szczególnie przydatne w kosmetologii, *Postępy Fitoterapii*, 2018, 19(1), s. 58–64.
- [19] Kubina R., Kubała-Dzik A., Wojtyczka R.D., Szaflarska-Stojko E., Tylka P., Przeciwnowotworowe oraz cytotoksyczne działanie propolisu, *Farmaceutyczny Przegląd Naukowy*, 2009, 9, s. 22–24.
- [20] Kruczek A., Stacewicz A., Puc M., Pyłek kwiatowy w produktach pszczelich, *Alergoprofil*, 2015, 11(2) s. 41–44.
- [21] Cooper R.A., Molan P.C., Harding K.G., The sensitivity to honey of Gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds, *Journal of Applied Microbiology*, 2002, 93, s. 857–863.
- [22] Kędzia B., Hołderna-Kędzia E., *Miód – skład i właściwości biologiczne*, Przedsiębiorstwo Wydawnicze Rzeczpospolita, Warszawa, 2008.
- [23] Godlewska M., Świsłocka R., Fizykochemiczne i przeciwdrobnoustrojowe właściwości miodów z rejonu Podlasia, *Kosmos*, 2015, 64(2), s. 347–352.
- [24] Subrahmanyam M., Topical application of honey in treatment of burns, *British Journal of Surgery*, 1991, 78, s. 497–498.
- [25] Phuapradit W., Saropala N., Topical application of honey in treatment of abdominal wound disruption, *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 1992, 32(4), s. 381–384.
- [26] Güneş U.Y., Eşer I., Efectiveness of a honey dressing for healing pressure ulcers, *Journal of Wound Ostomy Continence Nursing*, 2007, 34(2), s. 14–15.

- [27] Al-Saeed M., Therapeutic efficacy of conventional treatment combined with manuka honey in the treatment of patients with diabetic foot ulcers: A randomized controlled study, *Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 2013, 53(10), s. 1064–1071.
- [28] Bąkowska M., Janda K., Właściwości prozdrowotne wybranych miodów, *Pomeranian Journal of Life Sciences*, 2018, 64(3), s. 147–151.
- [29] Bogdanov S., Jurendic T., Sieber R., Honey for nutrition and health, *Review American Journal of the College of Nutrition*, 2008, 27, s. 677–689.
- [30] Erejuwa O.O., Sulaiman S.A., Wahab M.S.Ab., Honey a Novel Antioxidant, *Molecules*, 2012, 17, s. 4400–4423.
- [31] Kędzia B., Hołderna-Kędzia E., Produkty pszczele w żywieniu i suplementacji diety, *Postępy Fitoterapii*, 2006, 4, s. 213–222.
- [32] Kędzia B., Hołderna-Kędzia E., Usuwanie metali szkodliwych dla zdrowia z organizmu za pomocą produktów pszczelich, *Herba Polonica*, 2009, 55(1), s. 98–108.
- [33] Koszkowska A., Dittfeld A., Nowak J., Ziora K., Pszczoły i ich produkty – znaczenie dla zrównoważonego rozwoju roślin, zwierząt i ludzi, *Medycyna Środowiskowa – Environmental Medicine*, 2013, 16(2), s. 79–84.
- [34] Szmigielski J., *Leczenie jadem pszczelim*, Lublin 2013.
- [35] Semprini A., Braithwaite I., Corin A., Randomised controlled trial of topical kanuka honey for the treatment of acne, *BMJ Open*, 2016, 6, e009448.
- [36] Schroeder A., *Zdrowie z miodu, pyłku i propolisu*, Wydawnictwo REA, Stuttgart 2013.
- [37] Basista K., Właściwości biologiczne i prozdrowotne miodu oraz jego zastosowanie jako zdrowa żywność, *Gazeta Farmaceutyczna*, 2013, (3), s. 26–28.
- [38] Czarkowska I., *Miód – odżywia, pielęgnuje, leczy*, Wydawnictwo Dragon, Bielsko-Biała 2012.
- [39] Ahmadi-Motamayel F., Hendi S.S., Alikhani M.Y., Khamverdi Z., Antibacterial activity of honey on cariogenic bacteria, *Journal of Dental Medicine*, 2013, 10(1), s. 10–15.
- [40] Stepnowski P., Synak E., Szafranek B., Kaczyński Z., *Techniki separacyjne*, Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk 2010, s. 206–221.
- [41] Zbucha A., Up-to-date use of honey for burns treatment, *Annals of Burns Fire Disasters*, 2014, 27(1), s. 22–30.
- [42] Tran D.N.T., Nguyen H.T., An exploration of parameters of the fermentation process of honey riched in gluconic acid – oriented in cosmetics applications, *International Journal Pharmaceutical Science Invention*, 2017, 6(4), s. 17–24.
- [43] Alam F., Islam M.A., Gan S.H., Honey: a potential therapeutic agent for managing diabetic wounds, *Evidence-Based Complementary Alternative Medicine*, 2014, 2014, s. 169130.
- [44] Kędzia-Hołderna E., Kędzia B., Występowanie związków fenolowych w miodzie pszczelim, *Postępy Fitoterapii*, 2008, 4, s. 225–232.
- [45] Gala J., *Miód i produkty pszczele w profilaktyce i żywieniu*, Intermedlex, Kraków 2016.
- [46] Mrowiec J., *Cud miód*, Wydawnictwo Foksal, Warszawa 2014, s. 46.

Do cytowania:

Mystkowska I., Zarzecka K., Ginter A., Dmitrowicz A., Wartość lecznicza i fizjoterapeutyczna miodu pszczelego, *Herbalism*, 2023, 1(9), s. 154–165.

***Equisetum arvense* L. field horsetail (*Equisetaceae* Michx. ex DC.)**

***Equisetum arvense* L. skrzyp polny (*Equisetaceae* Michx. ex DC.)**

Dominik Wróbel, Henryk Różański

Państwowa Akademia Nauk Stosowanych w Krośnie, Rynek 1, 38-400 Krosno; e-mail: dominik.wrobel@pans.krosno.pl

Keywords: *Equisetum arvense*, field horsetail, herbal medicine, plant communities, life cycle, diversity, hybridization

Słowa kluczowe: *Equisetum arvense*, skrzyp polny, zielarstwo, zbiorowiska roślinne, cykl życiowy, zróżnicowanie, hybrydyzacja

Summary

The article is part of the series, devoted to studies on *Equisetum* species occurring in Poland. The species described here, *Equisetum arvense* L. – field horsetail, is regarded as typical for the entire genus. Among others, some morphological and anatomical characteristics of the species, its taxonomic diversity, distribution and association with specific habitat types, as well as threats, traditional use and life cycle are presented below. The phytochemical composition has been presented in the context of ancient and modern phytotherapy.

Streszczenie

Artykuł jest częścią cyklu obejmującego opracowania dotyczące występujących w Polsce gatunków z rodzaju *Equisetum*. Opisany tu gatunek, *Equisetum arvense* L. – skrzyp polny, jest uznawany za typowy dla całego rodzaju. Poniżej przedstawiono charakterystykę morfologiczną i anatomiczną gatunku, jego zróżnicowanie taksonomiczne, rozmieszczenie i przywiązanie do określonych typów siedlisk, a także zagrożenia, tradycyjne wykorzystanie oraz cykl życiowy. Przedstawiona została kompozycja fitochemiczna gatunku w kontekście dawnej i współczesnej fitoterapii.

Introduction

The article is presenting studies on *Equisetum arvense* L. – field horsetail, which is regarded by some authors as typical for the entire genus [1] and, additionally, is the most popular and the most dispersed *Equisetum* species in the world. The name

E. arvense was given by Linnaeus in *Species Plantarum* [2], and all of synonymous names are later. Field horsetail is most commonly used as a herbal material and most information regarding the use of horsetails in phytotherapy applies to this species. The widespread merging of *Herba Equiseti* and *Equisetum arvense* dried herb means that the knowledge and correct identification of the collected herb of this species is particularly important because it affects the quality of commercially available raw material to the greatest extent.

This work is part of a series of studies on species of the genus *Equisetum*, of which two articles have been published so far, concerning *E. fluviatile* [3] and *E. palustre* [4]. The aim of the work is to gather basic knowledge about this species, both in terms of its morphological characteristics, habitat preferences, systematic position and intraspecific diversity, as well as its importance as a herbal species. Such descriptions are very lacking in the national botanical bibliography of medicinal plants.

Methodology

Most of the data were collected by merging some literature sources [1, 5–23] and original observations and research. The original metric data, including height, diameter, and number of main stem sheath teeth, were obtained from the measurement of more than 1000 individuals from various positions throughout Poland, and additionally Slovakia, Ukraine, Turkey and Georgia. Detailed studies of the anatomical and morphological structure as well as intraspecies differentiation were carried out at 20 sites located in the Carpathians and its foothills, in the upper Silesia, Zulavy Marshland and Sandomierz Basin.

The phytosociological documentation was made based on the classic Braun-Blanquet method [24], omitting the sociability of species. Species inventory was recorded on homogeneous surfaces with a projection coverage ratio of seven degrees (r, +, 1, 2, 3, 4, 5). 7 sample phytosociological relevés documenting diversity of the plant communities in which *Equisetum arvense* occurs have been used in the study.

Description of the species

Sporophyte: Above-ground shoots are varied into early spring (March–April) sporebearing (fertile) and growing later vegetative ones. Fertile shoots growing to (20) 25 cm tall, yellowish or red-brown after spore maturation die. Main sporebearing shoots sheaths can be up to 2.5 cm long, funnel-shaped, brown, with 6–12 teeth, which are often fused together in several broadly acuted patches. The cone up to 3.5 cm length is located high above the highest internode, strobile up to 3.5 cm long, with full center. Vegetative shoots are grass- or blue-green, up to 40 (50) cm tall, with (6)

10–18 (20) teeth and with central hollow less than $\frac{1}{2}$ of its diameter. Teeth triangular, narrowly whitish edged, at least black at the top. Side branches unbranched or less often branched 1–2 times (sometimes irregularly), 4 (6) angled. The edges of the twigs are clear, sharp, separated by a v-shaped groove [19]. Teeth of side branches sheaths are usually protruding, sometimes clearly arched. Rhizomes are without a central duct, with numerous, ovoid winter bulbs, the size of hazelnuts. Bulbs, in addition to their importance as a reservoir of food resources, can also play a role as vegetative propagules [25, 26].



Figure 1. Spore bearing shoots of *Equisetum arvense* on crop field (Ladzin near Krosno, 20.03.2013).

Source: own archive.

Variability, differentiation, taxonomy: Probably the most diverse among all horsetails. Forms, varieties and subspecies reported have no taxonomic significance, rather as phenological forms or habitat adaptations. Numerous forms have been distinguished on the basis of the size or habit of the plant, without having features that allow them to be easily and clearly distinguished. Among taxa, distinguished based on the height of shoots or the degree of branching of sterile shoots, more than 60 forms and varieties are mentioned [27–33].

Equisetum arvense L. field horsetail (*Equisetaceae* Michx. ex DC.)

There are several significant *E. arvense* morphotypes, such as *E. arvense* fo. *serotinum* or *E. arvense* fo. *spiralis*, distinguished from typical individuals by having special features, which is probably caused by homeoses [34, 35].

Hybrids: *E. arvense* L. × *E. pratense* Ehrh. (= *E. × montellii* Hiitonon, *E. × suecicum* Rothm.; both names published incorrectly, taxa not confirmed by Lubienski [36]), *E. arvense* L. × *E. telmatiea* Ehrh. (= *E. × robertsii* T.D. Dines.; previously incorrectly as *E. × dubium* Dost.) known for 5 localities in southern Poland, otherwise given from Great Britain, *E. arvense* L. × *E. fluviatile* L. (= *E. × litorale* Kühlew ex Rupr.) known mainly from southern Poland (its distribution requires further research), *E. arvense* L. × *E. palustre* L. (= *E. × rothmaleri* C.N. Page, = *E. × torgesianum* Rothm.) does not occur in Poland, *E. arvense* L. × *E. sylvaticum* L. (= *E. × lofotense* Lubienski) does not occur in Poland, *E. arvense* L. × *E. diffusum* D. Don. (= *E. × wallichianum* D. Don.).

Reserve substances and secondary metabolites: Winter tubers contain mainly starch but also some simple sugars. Assimilation shoots contain about 10% of mineral salts, of which 2/3 is silicic acid [37]. According to Nowiński [38], 1 kg DM the herb contains 34.2 g of potassium, 1.15 g of phosphorus, 285 mg of iron and 28 mg of manganese. Hegnauer [39] reports that *E. arvense* contains 16.1–17.8% ash, half of which is silica, and 1.5–2.5% KCl. Bradley [40] shows a total content of mineral salts of 15%, mainly silica and silicic acid (5–8%). According to the same author, the content of flavonoids in the herb reaches 1%. There are two chemotypes of *Equisetum arvense*: European – containing kaempferol and quercetin, and Asian-North American – containing apigenin and luteolin. The European chemotype also contains genquanin and protogenquanin (O-methylated flavones). From horsetail herb, you can also distill essential oil (about 0.01%), which is dominated by hexadecahydrofarnesylacetone, cis-geranylacetone, thymol and phytol [37]. *Equisetum arvense* also has the ability to produce anthraquinone derivatives and saponins. A previously reported compound called equisetonin turned out to be a saponin complex associated with sugar and a flavonoid, with a hemolytic effect [41].

General distribution: *E. arvense* is a circumboreal species, occurs in North America, except for the southern edges, in western, central, southern and northern part of Europe, on the south-west coasts of Greenland and in Iceland, otherwise in the form of detached lobes in eastern Europe, south-west Asia, central Asia, northern India, China, Japan, eastern Siberia, the north-eastern tip of Africa, and isolated positions on the Atlantic islands, in South and Central America. As an alien and invasive species, it occurs in Australia, New Zealand and New South Wales.

Distribution in Poland: Distribution area: the most common species of domestic horsetail species [42], widespread in all regions.

Altitude range: lowland species, common in lower mountain locations, less frequent as altitude increases, but sporadically occurs even in high mountain locations.

Biology and ecology: Gametophyte is short-lived. Sporophyte is a long-lived rhizome geophyte with huge adaptability and colonization abilities. Above-ground shoots usually appear in clusters, often occupy large areas, especially on initial surfaces, when they can form one-species patches. It occupies open places, at most only slightly shaded. It prefers as well moderately poor as rich substrates, from dry to moist, moderately acidic to neutral, from rubble and sandy to heavy clays. There is no data on requirements and frequency of gametophytes.



Figure 2. Comparison of spore bearing shoots of *Equisetum arvense* (on the left) and *E. telmateia* (on the right) (Warzyce near Jasło, 24.04.2021).

Source: own archive.

Equisetum arvense L. field horsetail (*Equisetaceae* Michx. ex DC.)

Phytocoenoses: The phytocenotic spectrum of field horsetail includes various communities (Table 1) from forest and scrub, through meadows, mainly from the alliance *Arrhenatherion*, crop communities from the class *Stellarietea mediae*, to ruderal associations from the class *Artemisietea vulgaris*. Particularly often it occurs in patches of roadsides and railways embankments from the class *Agropyretea intermedio-repentis*, for which it is a character species.



Figure 3. Vegetative stem of *Equisetetum arvense* flanked with *E. telmateia* on old railway embankment (Jareniówka near Jasło, 24.08.2006).

Source: own archive.

Table 1. Phytocoenoses with *Equisetum arvense* participation.

Successive no of relevé	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Locality	Trzcinica-Topoliny near Jasło	Krosno-Turaszówka	Jareniówka near Jasło	Jasło-Niegłowie	Dębowiec near Jasło	Kurzyna Średnia near Ulanów	Rudnik upon San
Date	17.05.2022	13.08.2018	24.08.2006	13.06.2021	25.07.2015	19.06.2021	21.08.2022
1	2	3	4	5	6	7	8
Area [m ²]	4	4	2	4	2	25	25
Exposition	–	NE	–	N	–	–	N
Slope [°]	–	10	–	15	–	–	5
Habitat	crop field	rubble	railway embankment	railway embankment	roadsides	meadow	meadow
Cover of herb layer [%]	90	30	50	70	20	100	95
Number of species	10	12	10	11	6	21	19
Cultivated plant							
<i>Hordeum vulgare</i> cultivar	5						
Ch. Cl. Stellarietea mediae							
<i>Stellaria media</i>	+						
<i>Setaria viridis</i>	+						
<i>Lapsana communis</i>	+						
<i>Anagalis arvensis</i>	r						
Ch. O. Centauretalia cyani							
<i>Centaurea cyana</i>	1						
<i>Papaver rhoeas</i>	+						
Ch. Cl. Artemisieta vulgaris							
<i>Artemisia vulgaris</i>		2					
<i>Urtica dioica</i>	r	1	1	1			
<i>Dipsacus sylvestris</i>		1					
<i>Lamium album</i>			+				

Equisetum arvense L. field horsetail (*Equisetaceae* Michx. ex DC.)

1	2	3	4	5	6	7	8
Ch. O. Onopordetalia acanthii							
<i>Linaria vulgaris</i>		1					
<i>Melilotus albus</i>		1					
<i>Tanacetum vulgare</i>		1					
<i>Melilotus officinalis</i>		+					
Ch. Cl. Agropyreteea intermedio-repentis et Ch. O. Agropyretalia intermedio-repentis et Ch. All. Convolvulo-Agropyron repentis							
<i>Equisetum arvense</i>	1	1	3	3	2	1	1
<i>Convolvulus arvensis</i>	+	+	1	1	2	+	
<i>Elymus repens</i>		1	1		1		
<i>Poa compressa</i>			+		1		
Ch. Cl. Molinio-Arrhenatheretea							
<i>Dactylis glomerata</i>						3	3
<i>Arrhenatheretum elatioris</i>						2	2
<i>Trifolium repens</i>						+	2
<i>Achillea millefolium</i>						1	1
<i>Lotus corniculatus</i>						1	1
<i>Trifolium pratense</i>						1	1
<i>Campanula patula</i>						+	+
<i>Daucus carota</i>						+	+
<i>Plantago lanceolata</i>						+	+
<i>Lythrum salicaria</i>				1		+	
<i>Poa pratensis</i>						2	
<i>Lysimachia nummularia</i>						1	
<i>Rumex acetosa</i>						1	
<i>Dactylorhiza majalis</i>						+	
<i>Holcus lanatus</i>						+	

1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Lychnis flos-cuculi</i>						+	
<i>Ranunculus repens</i>						+	
<i>Cerastium holosteoides</i>							+
<i>Lathyrus pratensis</i>							+
<i>Leucanthemum vulgare</i>							+
<i>Vicia cracca</i>							+
<i>Trifolium hybridum</i>							+
<i>Lysimachia vulgaris</i>				+			+
<i>Equisetum palustre</i>				1			
<i>Poa annua</i>			+				
<i>Plantago major</i>					+		
Others							
<i>Rubus caesius</i>			1	2	+		
<i>Aegopodium podagraria</i>		+	1				
<i>Calamagrostis epigejos</i>				1			
<i>Galium aparine</i>				1			
<i>Alchemilla sp.</i>							1
Sporadic (+): (relevé 2) <i>Galega vulgaris</i> , (relevé 3) <i>Quercus robur</i> c, (relevé 4) <i>Acer negundo</i> c, <i>Acer platanoides</i> c, (relevé 6) <i>Stellaria graminea</i> , <i>Ranunculus polyanthemus</i> , (relevé 7) <i>Pimpinella saxifraga</i> , <i>Cuscuta europaea</i> .							

Source: own research.

Threat and protection: The field horsetail, as a common species in Poland, is not and has never been under legal protection. It occurs abundantly in all regions.

Ethnobotany: Field horsetail tubers were a valuable source of food for North American Indians and Inuits [43]. *Equisetum arvense* is mentioned as a medicinal plant, both in earlier and modern registers [44, 45]. It belongs to the typical detoxifying, silica and diuretic herbs. In osteoarthritis, horsetail herb is recommended in combination with analgesic and anti-inflammatory herbs (flower and herb

of meadowsweet, willow bark, root of devil's claw) [46–48]. Shoots were used to polishing the dishes, and the fabrics dyed in herb decoction were getting gray-yellow color [49].

Literature

- [1] Fedorov An. A. (ed.), Flora of Russia, The European Part and Bordering Regions. vol. 1. A.A., Balkema Publishers, Rotterdam, Brookfield 1999.
- [2] Linnaei C., Species Plantarum, Tomus II, Impensis Laurentii Salvii, Holmiae (Stockholm) 1753.
- [3] Wróbel D., Róžański H., *Equisetum fluviatile* L. water horsetail (*Equisetaceae* Michx. ex DC.), Herbalism, 2020, 1 (6), p. 100–112.
- [4] Wróbel D., Róžański H., *Equisetum palustre* L. marsh horsetail (*Equisetaceae* Michx. ex DC.), Herbalism, 2021, 1(7), p. 143–152.
- [5] Milde J., Monographia Equisetorum, Nova Acta Leop.-Carol. 32(2), Dresden 1867.
- [6] Raciborski M., Typ: Archegoniatae, Rodniowce. Gromada: Pteridophyta, Paprotniki. [w:] Flora Polska. Rośliny naczyniowe Polski i ziem ościennych, Tom I, Paprotniki, Iglaste i Jednoliścienne, (eds.) Raciborski M., Szafer W., Akademia Umiejętności, Kraków 1919.
- [7] Rejment-Grochowska I., Skrzypy, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 1954.
- [8] Bergdolt E., Equisetales. Schachtelhalmgewächse. Pteridophyten. [w:] Hegi G. Illustrierte Flora von Mittel-Europa. Bund I. Pteridophyta, Gymnosperme und Monocotyledones I, Hanser Carl Verl., München 1965.
- [9] Futák J., Stachyophytina. [w:] Futák J. (ed.), Flora slovenska, II Pteridophyta, Coniferophytina, Vydavateľstvo Slovenskej akadémie vied, Bratislava 1966.
- [10] Hyde H. A., Wade A. E., Harrison S. G., Welsh ferns, The National Museum of Wales, Cardiff 1969.
- [11] Karpowicz W., Paprocie, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa 1972.
- [12] Hauke R. L., A Taxonomic Monograph of *Equisetum* Subgenus *Equisetum*, Nowa Hedwigia, 1978, 30, p. 385–455.
- [13] Jermy A. C., Atlas of ferns of the British Isles, The Botanical Society of the British Isles, The British Pteridological Society, London 1978.
- [14] Dostál J., Equisetum, [w:] Gustav Hegi, Illustrierte flora von Mitteleuropa 1. Pteridophyta, 1. Verl. P. Parey, Berlin – Hamburg 1984.
- [15] Lellinger D. B., A field manual of the ferns & fern-allies of the United States & Canada, Smithsonian Institution Press, Washington 1985.
- [16] Szafer W., Kulczyński S., Pawłowski B., Rośliny polskie. Opisy i klucze do oznaczania wszystkich gatunków roślin naczyniowych rosnących w Polsce bądź dziko, bądź też zdziczałych lub częściej hodowanych, Wyd. 6. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa, 1988.
- [17] Rothmaler W., Exkursionsflora für die Gebiete der DDR und BRD. Bd. 4, Volk und Wiessen Volkeigener Verl, Berlin 1988.
- [18] Hrouda L., Equisetaceae DC. – přesličkovitě, [w:] Heyný S. & Slavík B. (red.), Květena České republiky, Flora of the Czech Republic. – Academia, Praha 1997.

- [19] Page C. N., The ferns of Britain and Ireland. Second edition, Cambridge University Press, Cambridge, 1997.
- [20] Rutkowski L., Klucz do oznaczania roślin naczyniowych Polski niżowej, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 1998.
- [21] Poland J., Clement E.J., The Vegetative Key to the British Flora, Botanical Society of the British Isles, Southampton 2009.
- [22] Skvortsov V. E., On the taxonomic characters of Equisetum L. (Equisetaceae) in the flora of Russia. Бюл. Моск. о-ва испытателей природы отд. биол. т. выл., 2004, 4, p. 31–43.
- [23] Stace C. A., New flora of the British Isles, Cambridge Univ. Press, Cambridge 2010.
- [24] Braun-Blanquet J., Plant Sociology, Mc Grow-Hill Book Company Inc. New York, London 1932.
- [25] Rutkowska B., Wydawnictwa Rolnicze i Leśne, Warszawa 1971.
- [26] Podbielkowski Z., Podbiekowska M., Przystosowania roślin do środowiska, Wydawnictwa Szkolne i Pedagogiczne, Warszawa 1992.
- [27] Milde J., Index Equisetorum. Verhandlungen der kaiserlich-königlichen zoologisch-botanischen Gesellschaft, 1864, 14 (1\2), p. 525–549.
- [28] Milde J., Die höheren sporenpflanzen Deutschland's und der Schweiz, Verlag von Arthur Felix. Leipzig 1865.
- [29] Fiek E., Flora von Schlesien preussischen und österreichischen Antheils, enthaltend die wildwachsenden, verwilderten und angebauten Phanerogamen und Gefäss-Cryptogamen, Unter Mitwirkung von Rudolf von Uechtritz. J. U. Kern, Breslau 1881.
- [30] Ascherson P., Synopsis der mitteleuropäischen Flora. vol. 1. [w:] Ascherson P. & Gräbner P., Synopsis der mitteleuropäischen Flora 1896–1909, W. Engelmann, Leipzig 1896.
- [31] Schube T., Flora von Schlesien preußischen und österreichischen Anteils, Verlag von Wilh. Gottl. Korn, Breslau 1904.
- [32] Bergdolt E., Equisetales. Schachtelhalmgewächse. Pteridophyten. [w:] Hegi G. Illustrierte Flora von Mittel-Europa. Bund I. Pteridophyta, Gymnosperme und Monocotyledones I, Hanser Carl Verl., München 1965.
- [33] Mowszowicz J., Jersak J., Krzewski J., Odmiany i formy krajowych gatunków Pteridophyta – Paprotników, Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Łódzkiego, seria II, 1955, 1, p. 93–103.
- [34] Schaffner J. H., Six interesting characters of sporadic occurrence in Equisetum, American Fern Journal, 1933, 23, p. 83–90.
- [35] Gryziak G., Muszyński S., Jak i dlaczego powstają anomalie rozwojowe u roślin?, Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych, 2005, 54 (2–3), p. 267–273.
- [36] Lubiński M., A new hybrid horsetail Equisetum \times lofotense (E. arvense \times E. sylvaticum, Equisetaceae) from Norway, Nordic Journal of Botany, 2010, 28(5), p. 530–540.
- [37] Różański H., Wróbel D., 2018. Metabolity pierwotne i wtórne skrzypów – Equisetum (Equisetaceae). [w:] V Konferencja: Rośliny zielarskie, kosmetyki naturalne i żywność funkcjonalna. Nowe nadzieje fitoterapii, PWSZ w Krośnie, 2018.
- [38] Nowiński M., Chwasty łąk i pastwisk, PWN, Warszawa, 1970.
- [39] Hegnauer R., Chemotaxonomie der Pflanzen, Band 1, Birkhäuser Verlag, Basel und Stuttgart, 1962.
- [40] Bradley P., British Herbal Compendium, BHMA, Bournemouth 2006.

Equisetum arvense L. field horsetail (*Equisetaceae* Michx. ex DC.)

- [41] Blaschek W., Wichtl-Teedrogen und Phytopharmaka, wydanie 6., Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft GmbH, Stuttgart 2016.
- [42] Zając A., Zając M. (ed.), Atlas rozmieszczenia roślin naczyniowych w Polsce, Pracownia Chorologii Komputerowej Instytutu Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków 2001.
- [43] Łuczaj Ł., Dzikie rośliny jadalne Polski. Przewodnik survivalowy, Chemigrafia, Krosno 2004.
- [44] Dragendorff G., Die Heilpflanzen der verschiedenen Völker und Zeiten. Ihre Anwendung, wesentlichen Bestandtheile und Geschichte. Ein Handbuch für Ärzte, Apotheker, Botaniker und Droguisten, Verlag von Ferdinand Enke, Stuttgart 1898.
- [45] Quattrocchi U., World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants Common Names, Scientific Names, Eponyms, Synonyms, and Etymology, CRC Press Taylor and Francis Group, Boca Raton, New York, London 2012.
- [46] Różański H., Charakterystyka wybranych *Metabolica* pochodzenia roślinnego, Wydawnictwo Medyk, Warszawa 2006.
- [47] Różański H., Charakterystyka najważniejszych *urotropica* i ich zastosowanie w fitoterapii chorób układu moczowego, cz. I, Lek w Polsce, Drug in Poland, 2007a, 4, p. 93–102.
- [48] Różański H., Charakterystyka najważniejszych *urotropica* i ich zastosowanie w fitoterapii chorób układu moczowego, cz. II, Lek w Polsce, Drug in Poland, 2007b, 5, p. 66–80.
- [49] Broda B., Mowszowicz J., Przewodnik do oznaczania roślin leczniczych, trujących i użytkowych. Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa 1985.

Do cytowania:

Wróbel D., Różański H., *Equisetum arvense* L. field horsetail (*Equisetaceae* Michx. ex DC.), *Herbalism*, 2023, 1(9), s. 166–177.

Johannes Treutler (1820–1892) – kontekst historyczno-kulturowy oraz postać pustelnika z Mariańskiej Góry

Johannes Treutler (1820–1892) – historical and cultural context and the figure of a hermit from Mariańska Góra

Sebastian Fröhlich

Student kierunku zielarstwo, Państwowa Akademia Nauk Stosowanych w Krośnie, Rynek 1, 38-400 Krosno, adres e-mail: 26639@student.kpu.krosno.pl

Słowa kluczowe: balsam jerozolimski, Johannes Treutler, historia zielarstwa

Keywords: Jerusalem balsam, Johannes Treutler, history of herbal medicine

Pustelnik w Kościele rzymskokatolickim

Ważnym elementem w życiu Johannes Treutlera jest pustelnia – to tam zaczyna interesować się recepturami i wytwarzaniem preparatów zielarskich; prawdopodobnie dzięki strojowi pustelniczemu (a konkretnie – habitowi franciszkańskiemu) otrzymuje przepis na balsam jerozolimski. Jednak Treutler życie pustelnicze prowadzi w czasach, gdy nie ma ogólnych norm dotyczących jego stanu – choć pierwsi anachoreci pojawiają się około III w. [1], to prawna regulacja tej grupy na poziomie całego Kościoła pojawia się dopiero w Kodeksie prawa kanonicznego z 1983 r. Tak więc do drugiej połowy XX w. pustelnicy i pustelnice żyją i funkcjonują na zasadzie tradycji lub miejscowych regulacji wprowadzonych przez biskupów lub synody lokalne – te natomiast wdrażane nieumiejętnie doprowadzały do zanikania indywidualnych form życia konsekrowanego na danym terenie [2].

XIX w. przynosi dodatkową trudność pustelnikom i pustelnicom na ziemi kłodzkiej. Z jednej strony wciąż odbywająca się kontreformacja szuka różnych „przejawów protestantyzmu” – w tym przypadku nieuregulowany status połączony z bardzo słabą formacją religijno-teologiczną, wynikającą z uznaniowych zasad jej przeprowadzenia, skutkuje różnymi oskarżeniami kierowanymi wobec poszczególnych pustelników. Samu Treutlerowi postawiono zarzut nieodpowiedniego okazania czci Najświętszemu Sakramentowi, który kapłan przeniósł do chorego. Z drugiej strony następuje zachwianie rozdziału władzy świeckiej oraz kościelnej i urzędy pruskie decydują o tym, czy dana pustelnia może być zachowana, czy ma zniknąć po śmierci aktualnego pustelnika, czy też ma być zlikwidowana natychmiastowo [3].

Trzeba zaznaczyć, że zarówno dawne, jak i obecne regulacje oraz tradycja życia pustelniczego wymagają, by pustelnik utrzymywał się z własnej pracy, a nie z ofiar czy darowizn [4], tak więc zarzut stawiany czasem Treutlerowi, że podjął się życia pustelniczego tylko dla poprawy stanu majątkowego, w gruncie rzeczy jest bezzasadny [5].

Pustelnictwo na ziemi kłodzkiej w XIX wieku

W 1759 r. minister Schlabrendorff skierował do Głogowskiej Izby Wojennej i Dóbr Skarbowych list z żądaniem, by powiadomiono go, w których miejscowościach żyją pustelnicy, jakie jest pochodzenie pustelni oraz czy została ona ufundowana. W zapytaniu sformułowano również sugestię dla Izby, aby przeprowadziła ocenę, czy nie lepiej byłoby daną pustelnię zamknąć i dotację otrzymywaną przez część pustelników skierować na przytułki lub inne stowarzyszenia duchowne [3]. Sam list ministra wynikał ze zniknięcia jednego z pustelników śląskich, z czym wiązały się podejrzenia, że mógł być szpiegiem na rzecz Austrii lub Rosjan – dodatkowo sama „ocena” pustelni jako przydatnych lub nieprzydatnych społecznie miała zakorzenienie w myśli religijnej cesarza austriackiego Józefa II, który likwidował m.in. klasztory nietrudniące się szpitalnictwem czy szkolnictwem.

Odpowiedź Izby nastąpiła po ośmiu latach, co było usprawiedliwiane ówczesnym zamieszanym wojennym. Niemniej raport ten stanowi dużą wartość, ponieważ przynajmniej w zarysie tworzy listę pustelni na Śląsku i ziemi kłodzkiej. Przy tej okazji trzeba zaznaczyć, że tereny księstwa kłodzkiego były w znacznej mierze katolickie, co biorąc pod uwagę działanie na Śląsku reformacji, wyjaśnia dość dużą reprezentację pustelników na tych terenach w porównaniu do regionów sąsiednich.

Zasadniczo Izba dzieliła pustelników na dwie grupy: tych, którym zlecono opiekę nad danym kościołem/kaplicą lub przydzielono inną funkcję, oraz tych, którzy mieszkając w odosobnionych miejscach, utrzymywali się wyłącznie z jałmużny. O ile jest mało prawdopodobne, by druga grupa żyła tylko z jałmużny, o tyle na pewno oficjalnie nie pełniła żadnej funkcji, a więc nie otrzymywała w związku z tym dóbr – co było równoznaczne dla ówczesnego urzędu z „nieprzydatnością” społeczną. Przez następne lata wydawane były decyzje różnego szczebla, które miały porządkować życie pustelnicze na Śląsku – m.in. ustanowiono w 1768 r. inspektora ds. pustelników (dokonał tego dziekan Karl Winter) lub żądano sprawozdań ich dotyczących. Efektem tego było zmniejszenie się liczby pustelni z około 30 (1767 r.) do 3 (1937 r.).

Życie Johanna Treutlera

Johannes Treutler przychodzi na świat w Hannchen (dzisiejsze Czechy) jako syn młynarza. Jego rodzina nie posiada dużego majątku, a dodatkowo ojciec Johanna umiera przed wprowadzeniem syna do swojego zawodu – z tego względu młody Treutler przyucza się do zawodu tkacza. Przez pewien czas mieszka z matką w Częstochowie, następnie przeprowadza się w okolice Kłodzka. Tutaj 11 września 1845 r. zostaje przyjęty przez ks. Franza Brandta do trzeciego zakonu franciszkańskiego. Zatem pozostając osobą świecką, zobowiązał się do życia prowadzonego zgodnie z duchem św. Franciszka. Co ważne, Johannes uzyskał zgodę na noszenie habitu franciszkańskiego pomimo pozostawania w stanie świeckim. W następnym roku zostaje mu zaproponowana „posada” stróża kaplicy na Górze Mariańskiej, którą to Treutler przyjmuje i od tego czasu, czyli od 26. roku życia, prowadzi życie pustelnicze przy sanktuarium Marii Pocieszycielki.

Samo sanktuarium sięga historią 1715 r. kiedy to mały, kamienny kościół zostaje ufundowany przez młynarza, Heinricha Deckerta. Już w 1738 r. ówczesny młynarz (zwany młynarzem szpitalnym) chciał ufundować dodatkowo budynek mieszkalny dla pustelnika, jednak ze względu na sprzeciw proboszcza i rektora jezuickiego (teren należał do parafii) nie zrealizowano tego planu. Dodatkowo w 1807 r. pierwotna świątynia została zburzona, by po trzech latach wrócić na swoje miejsce. A zatem pomimo różnych planów dotyczących sanktuarium Johannes Treutler zostaje pierwszym pustelnikiem na Górze Mariańskiej [6].

Do obowiązków nowego pustelnika należało dbanie o samą świątynię oraz przyległą do niej drogę krzyżową, a także o przybywających na jej teren pielgrzymów. Jednak w 1854 r. Treutler opuszcza teren Mariańskiej Góry i zamieszkuje w pustelni niedaleko Złotego Stoku, z której to powraca do pierwszej pustelni już w 1860 r. Wkrótce otrzymuje od ks. Augustina Straude'a recepturę balsamu jerozolimskiego – duchowny zdobył ją w klasztorze franciszkańskim w Jerozolimie podczas pielgrzymki po Ziemi Świętej w 1859 r. Poza recepturą balsamu uzyskał również kilka innych – na preparaty ziołowe, które również włącza do sprzedaży.

Johannes Treutler umiejętnie kreował wrażenie, że jest autorem receptur oraz samodzielnie uprawia składniki służące do wytwarzania swoich preparatów. Ponieważ miał renomę światłego pustelnika, a później utalentowanego uzdrowiciela, nikt nie podważał jego autorstwa czy wiedzy. Jednak nie mógł on znać sposobu wytwarzania lekarstw, a dodatkowo wiele składników nie mogło być zdobywanych w stanie naturalnym lub uprawianych na Mariańskiej Górze. Z tego względu Treutler zwrócił się do Louisa Ambrosiusa, właściciela apteki Pod Jeleniem, o pomoc. Kłodzki aptekarz poprawił recepturę balsamu, zmieniając kilka składników, oraz poinstruował pustelnika, jak go wytwarzać, a także zaopatrywał go w potrzebne surowce. Z czasem medykament zaczął się cieszyć popularnością wśród piel-

grzymów, natomiast po wojnie Prus przeciwko Austrii pod nazwą „In Nazareth Aechter Jerusalemer Balsam im goldenen Engel” stał się sławny i zamawiano go nawet listownie.

Jak wspomniano wcześniej, Johannes Treutler nie posiadał wykształcenia farmaceutycznego, a więc i uprawnień do wytwarzania leków. Z tego względu łamał ówczesne prawo, co po donosie do urzędu pruskiego skutkowało oskarżeniem przed sądem i karą grzywny. Dodatkową konsekwencją procesu było zerwanie współpracy Treutlera z Louistem Ambrosiusem – aptekarz zgodnie z prawdą zeznał, że pustelnik nie kupował u niego gotowego preparatu, a jedynie składniki i sam wytwarzał swoje leki. Pomimo wyroku i grzywny Treutler nie zaprzestał produkcji i sprzedaży, tym razem współpracując z Johannesem Schittny, aptekarzem prowadzącym aptekę Pod Murzynem.

Rozpoznawalny i coraz bogatszy pustelnik w efekcie zostaje wydalony z Mariańskiej Góry i otrzymuje zakaz noszenia habitu franciszkańskiego. Było to wynikiem oskarżenia o dwa poważne naruszenia dyscypliny pustelniczej. Po pierwsze, Treutler wziął udział w pochodzie tkaczy, gdzie miał nawet nieść chorągwie swojego zawodu, a dodatkowo część z obecnych była wyznania protestanckiego, po drugie, wracając po północy do pustelni, wszedł do gospody, gdzie z żołnierzami spożywał alkohol oraz tańczył (dokumenty podkreślają, że taniec nie odbywał się z kobietami, co prawdopodobnie miało w jakimś stopniu chronić reputację oskarżonego).

Następnie Treutler nabył i zbudował kilka nieruchomości, a ze zgromadzonego bogactwa udzielał jałmużn oraz pomagał znajomym. W jednym z domów nadal produkował balsam oraz inne z oferowanych preparatów ziołowych, jednak dla zmylenia urzędu nad wejściem widniał napis „Piekarnia Johannes Treutlera”. Umarł w 1892 r. w domu nazwanym Johannesburg, który zbudował w pobliżu Mariańskiej Góry. W swoim testamencie zapisał wszystko siostrze franciszkankom, w tym prawo do dysponowania recepturami. Siostry prowadzące szpital niedaleko Kłodzka nie mogły jednak podjąć się produkcji balsamu, sprzedały zatem licencję na jego wytwarzanie i sprzedaż – licytację wygrał Johannes Schittny, aptekarz z apteki Pod Murzynem, który zobowiązał się płacić z tego tytułu 700 marek rocznie, a w przypadku dużego popytu na preparaty nawet 1 tys. marek.

Przez następne kilka dziesięcioleci po śmierci Treutlera (dokładnie do 1932 r.) trwały spory pomiędzy różnymi aptekami o posiadanie „oryginalnej” receptury jego balsamu. Do największego konfliktu doszło pomiędzy właścicielem apteki Pod Murzynem a Louistem Ambrosiusem; spór ten został załagodzony wyrokiem sądu i zastrzeżeniem oddzielnych logotypów oraz nazw. Historia balsamu w Kłodzku kończy się w 1945 r., po przesiedleniu ludności niemieckiej, lecz ma kontynuację po 1949 r., gdy dr Richard Schittny wraz z synem Hansem otwierają nową aptekę Pod Murzynem, tym razem na terenie Gütersloh, i wznawiają produkcję balsamu.

Literatura

- [1] Święty Antoni. Żywot. Pisma ascetyczne, E. Wipszycka (red.), TYNIEC Wydawnictwo Benedyktynów, Kraków 2008.
- [2] Ojciec Pustelnik, Pustelnik w Kościele rzymskokatolickim, Wydawnictwo Diecezjalne Sandomierz, Prawdźiska 2005.
- [3] Kos J., Śladami pustelni na ziemi kłodzkiej, Usługi Poligraficzne Bogdan Kokot, Nowa Ruda 2016.
- [4] Starowieyski M., Apoftegmaty Ojców Pustyni, t. 1, TYNIEC Wydawnictwo Benedyktynów, Kraków 2007.
- [5] Musiał W., Pielgrzymy. Informator krajoznawczy poświęcony Sudetom, SKPS, Oddział PTTK przy Politechnice Wrocławskiej, Wrocław 2011.
- [6] Schittny H.R., Balsam jerozolimski, Herbarium św. Franciszka, Katowice 2015.

Do cytowania:

Fröhlich S., Johannes Treutler (1820–1892) – kontekst historyczno-kulturowy oraz postać pustelnika z Mariańskiej Góry, *Herbalism*, 2023, 1(9), s. 178–182.



Państwowa Akademia
Nauk Stosowanych
w Krośnie

STUDIA LICENCJACKIE i INŻYNIERSKIE

Państwowa
Akademia
Nauk Stosowanych
w Krośnie zaprasza
do studiowania
na kierunkach

- inżynierskich
- humanistycznych
- kultury fizycznej
- pielęgniarstwa



- Kształcimy na bezpłatnych studiach stacjonarnych
- Praktyczny profil kształcenia
- Wysokie miejsca w konkursach i rankingach ogólnopolskich i regionalnych
- Nowoczesna baza dydaktyczna i sportowa
- Możliwość realizacji pasji naukowych (koła naukowe), artystycznych i sportowych (AZS)
- Możliwość studiowania na ponad 60 partnerskich uczelniach zagranicznych w 19 krajach
- Wewnętrzny Ośrodek Egzaminacyjny British Council
- Uczelnia przyjazna dla osób niepełnosprawnych

Nasze studia
Nasza przyszłość

Samorząd
Studencki
PANS
w Krośnie

Rynek 1, 38-400 Krosno
tel. 13 43 755 30
fax. 13 43 755 11
pans@pans.krosno.pl



WWW.PANS.KROSNO.PL

www.herbalism.edu.pl