

Ocena właściwości przeciwutleniających *in vitro* żołądźi *Quercus rubra* pochodzących z różnych lokalizacji

In vitro evaluation of antioxidant properties of *Quercus rubra* acorns from different locations

Dominika Szynal¹, Adam Klimowicz²

¹ Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Chemii Kosmetycznej i Farmaceutycznej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, ul. Powstańców Włkp. 72, 70-111 Szczecin, e-mail: dominiczka@vp.pl (autor korespondencyjny)

² Zakład Chemii Kosmetycznej i Farmaceutycznej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, ul. Powstańców Włkp. 72, 70-111 Szczecin, e-mail: adam.klimowicz@pum.edu.pl

Słowa kluczowe: dąb czerwony, metoda DPPH, metoda ABTS, aktywność antyoksydacyjna

Keywords: northern red oak, DPPH method, ABTS method, antioxidant activity

Streszczenie

W organizmie ludzkim nieprzerwanie mają miejsce procesy metaboliczne, podczas których dochodzi do powstania różnych produktów ubocznych, w tym – zaliczanych do reaktywnych form tlenu – wolnych rodników. W celu ochrony przed ich szkodliwym działaniem stosuje się antyoksydanty. Dąb czerwony (*Quercus rubra*, *Fagaceae*), a dokładniej ekstrakty z jego żołądźi, jest cennym ich źródłem. Drzewo to jest przykładem rośliny, której różne części, w tym żołądźie czy kora, zawierają flawonoidy, które stanowią jedną z najważniejszych grup naturalnych związków eliminujących wolne rodniki. Celem badań było określenie aktywności antyoksydacyjnej ekstraktów z żołądźi *Quercus rubra* zebranych z różnych lokalizacji. Surowiec roślinny stanowiły świeże, a następnie wysuszone żołądźie dębu czerwonego, zebrane w październiku 2023 r. w trzech różnych lokalizacjach – w nadleśnictwie Nowogard, przy ruchliwej ulicy w Szczecinie oraz nad znajdującym się w tym mieście jeziorem Goplany. Zmielony surowiec poddano ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami. Ekstrakty przygotowano z użyciem czterech krótkołańcuchowych alkoholi alifatycznych: metanolu, etanolu, propan-1-olu, propan-2-olu – wszystkie w trzech stężeniach, tj. 40%, 70% oraz nierozcieńczone. Aktywność antyoksydacyjną uzyskanych ekstraktów oceniano metodami DPPH i ABTS.

Ekstrakty z żołądźi wykazywały aktywność antyoksydacyjną, która w zasadzie zależała od lokalizacji dębów. Żołądźie pochodzące z dębu czerwonego (*Quercus rubra*, *Fagaceae*) stanowią cenne źródło antyoksydantów. Ze względu na wspomniane właściwości można byłoby rozważyć ich zastosowanie w produkcji wybranych grup kosmetyków, głównie przeciwstarzeniowych.

Summary

In the human body, metabolic processes continuously occur, leading to the formation of various by-products, including free radicals belonging to reactive oxygen species. To protect against their harmful effects, antioxidants are used. The northern red oak (*Quercus rubra*, *Fagaceae*), specifically extracts from its acorns, is a valuable source of antioxidants. This tree exemplifies a plant containing flavonoids, which are one of the most important natural groups of compounds that eliminate free radicals. The aim of the study was to determine the antioxidant activity of extracts from the acorns of *Quercus rubra* collected from different locations.

The plant material consisted of fresh, and subsequently dried, acorns of the northern red oak, collected in October 2023 from three different locations: in the Nowogard Forest District, near a busy street in Szczecin, and near the nearby Goplana Lake (Szczecin). The ground raw material was subjected to ultrasound-assisted extraction. Extracts were prepared using four short-chain aliphatic alcohols: methanol, ethanol, propan-1-ol, propan-2-ol, all in three concentrations, namely 40%, 70%, and undiluted. The antioxidant activity of the obtained extracts was assessed using the DPPH and ABTS methods. The acorn extracts exhibited antioxidant activity. This activity was essentially dependent of the location of the oak trees. Acorns from the northern red oak (*Quercus rubra*, *Fagaceae*) are a valuable source of antioxidants. Due to these properties, their use in the production of selected groups of cosmetics, mainly anti-aging, could be considered.

Wstęp

Starzenie się organizmu to proces nieunikniony, ciągły i uwarunkowany genetycznie. Ten typ starzenia określany jest jako chronologiczny lub naturalny, gdyż głównie kojarzy się z czynnikami wewnętrznymi, a nie zewnętrznymi. Z upływem lat zmniejsza się produkcja kolagenu i elastyny, powstaje też coraz mniej nowych komórek. Twarz pokrywa się zmarszczkami, skóra staje się cieńsza, gdyż warstwa tkanki tłuszczowej pod nią ulega redukcji, co skutkuje zwiotczeniem skóry i powstawaniem m.in. „obwisłych policzków” [1]. Ponadto zmarszczki mimiczne stają się trwałe, bruzda nosowo-wargowa staje się zdecydowanie bardziej wyrazista, a skóra cienka i przezroczysta. Wszystkie wyżej wymienione zmiany nasilają się znacząco w okresie pomenopauzalnym, gdy pojawiają się wahania hormonalne [1]. Zewnętrzne starzenie się skóry spowodowane jest przez czynniki pochodzące ze środowiska, w którym żyjemy. Do czynników tych możemy zaliczyć: zanieczyszczenie środowiska, promieniowanie UV, palenie tytoniu czy niewłaściwą dietę. Promieniowanie ultrafioletowe stanowi główny zewnętrzny czynnik prowadzący do starzenia się skóry ze względu na to, że przez całe życie kumulują się w skórze duże dawki UV. Może powodować to tzw. fotostarzenie, jak również liczne nowotwory. Te negatywne skutki związane są z działaniem wolnych rodników [2–4].

W organizmie ludzkim nieprzerwanie mają miejsce procesy metaboliczne, podczas których dochodzi do powstania różnych produktów ubocznych, w tym zaliczanych do reaktywnych form tlenu (RFT) wyżej wymienionych rodników. Stanowią one cząsteczki posiadające minimum jeden niesparowany elektron, z czego wynika ich większa reaktywność w porównaniu do cząsteczki obojętnej [5, 6]. W warunkach homeostazy układy antyoksydacyjne działają poprawnie. Jeżeli równowaga pomiędzy wytwarzaniem RFT a procesami antyoksydacyjnymi jest zaburzona, pojawia się zjawisko określane mianem stresu oksydacyjnego. Podstawowym działaniem przeciwutleniaczy jest hamowanie powstawania wolnych rodników, spowalnianie, jak również przerywanie reakcji łańcuchowych, które przyczyniają się do ich powstawania [6, 7]. Dodatkowo związki te przeciwdziałają utlenianiu metali takich jak rtęć, ołów, kadm czy miedź, naprawiają dysfunkcje powstałe w wyniku działania RFT, których nasz organizm nie jest w stanie sam naprawić, oraz stymulują endogenne układy antyoksydacyjne poprzez syntezę enzymów antyoksydacyjnych [7]. Ponadto tworzą barierę zapobiegającą tworzeniu się RFT i ich przenikaniu do struktur biologicznych [8, 9].

Wolne rodniki kontrolowane są przez dwa systemy antyoksydacyjne. W składzie układu enzymatycznego znajdują się: dysmutaza nadtlenkowa, peroksydaza glutationowa i katalaza, czyli tzw. triada enzymów [10, 11]. Kolejny układ, nazywany nieenzymatycznym, obejmuje grupę niskocząsteczkowych substancji ochronnych, które określane są jako tzw. zmiatacze wolnych rodników. Przenoszą one swoje elektrony na wolne rodniki i przekształcają je do postaci utlenionej, która charakteryzuje się niską reaktywnością. Do tej grupy zalicza się głównie witaminy, melatoninę i glutation oraz białka osocza [12, 13]. Egzogenne przeciwutleniacze pochodzą ze źródeł naturalnych, głównie z roślin. Zawierają karotenoidy, polifenole, witaminy A, C i E, składniki mineralne, tj. cynk, mangan i selen [14–16].

Jednym z powszechnie występujących gatunków drzew jest dąb czerwony (*Quercus rubra*, *Fagaceae*). Wywodzi się on ze wschodniej części Ameryki Północnej i stanowi najliczniej występujący w Polsce obcy gatunek liściasty, zarówno pod względem zajmowanego obszaru, jak i miejsc introdukcji [17, 18]. Występuje pod postacią drzewostanów litych, a także jako domieszka w mieszanych drzewostanach. Dąb czerwony w Polsce występuje na całym niżu oraz w niższych położeniach górskich.

Według Hereźniaka dąb czerwony uważany jest za jedyny obcy gatunek, który całkowicie przystosował się do wymogów siedliskowych polskich ekosystemów leśnych [19]. Jest to gatunek charakteryzujący się bardzo szybkim wzrostem w młodości, a na swoim rodzimym obszarze dorasta nawet do 47 m wysokości. Do Polski został introdukowany w XIX w. – a dokładnie w 1806 r. Mimo iż należy do drzew wartościowych pod względem produkcyjnym, uznawany jest za gatunek inwazyjny

– stwarza zagrożenie dla miejscowej roślinności [20, 21]. W drzewostanach gospodarczych w sąsiedztwie dębu czerwonego często występuje dąb szypułkowy (*Quercus robur*, *Fagaceae*). *Quercus rubra* może stanowić konkurencję dla *Quercus robur*, a co za tym idzie – wypierać go ze składu gatunkowego [19].

Dąb czerwony znalazł szerokie zastosowanie w leśnictwie za sprawą swoich walorów. Jest to przede wszystkim wysoka wydajność, zdolność do szybkiej aklimatyzacji, duża żywotność [22], wytrzymałość na zanieczyszczenia przemysłowe oraz okresowe zasolenie gleby [23]. Z tego względu sadzony był w parkach, w miastach – wzdłuż dróg, a także stał się odmianą powszechnie stosowaną do przebudowy drzewostanów, które znajdowały się pod wpływem emisji przemysłowych [20]. Do jego zalet zalicza się również dość wysoką wartość drewna, z niewielką liczbą sęków, łatwego w obróbce [24, 25], i szybki wzrost – w porównaniu z dębami rodzimymi [26]. Pomimo wielu pozytywów obserwuje się również negatywny wpływ dębu czerwonego na fitocenozy, głównie na obszarach cennych przyrodniczo [27, 28].

Zgodnie z obowiązującymi zasadami uprawy lasu zaleca się eliminację tego gatunku w reprodukcji gatunków obcych. Jednakże dąb czerwony jest nadal masowo spotykany w polskich lasach [29]. Wyżej wymieniony gatunek ma tendencję do samoistnego odnawiania się i współtworzenia jednogatunkowych drzewostanów [26]. Aktualnie dąb czerwony zajmuje 5% powierzchni lasów państwowych, a jednocześnie jest gatunkiem, który dominuje na obszarze 0,5% z nich, czyli 3 900 ha [20]. Poza tym nadal bywa na nieznaczłą skalę hodowany w szkółkach i wprowadzany jest do środowiska przyrodniczego [24].

Dotychczas przeprowadzono bardzo niewiele badań dotyczących potencjału przeciwutleniającego ekstraktów z żołądźi dębu czerwonego. Dlatego też postanowiono dokonać oznaczenia aktywności antyoksydacyjnej metodą DPPH i ABTS ekstraktów z żołądźi *Quercus rubra* zebranych w trzech różnych lokalizacjach, w celu oceny wpływu miejsca pochodzenia na wspomnianą aktywność.

Materiały i metody

Rodnik DPPH i ABTS nabyto w firmie Sigma-Aldrich (USA). Metanol, propan-1-ol, propan-2-ol pochodziły z Chempur (Piekary Śląskie), natomiast etanol z firmy Linegal Chemicals (Warszawa).

Surowiec roślinny stanowiły dojrzałe, opadłe żołądźie dębu czerwonego zebrane w październiku 2023 r. w trzech różnych lokalizacjach – w lesie w nadleśnictwie Nowogard, z dala od ruchliwych dróg, przy ruchliwej ulicy w Szczecinie oraz nad położonym w tym mieście jeziorem Goplany – na terenie zlokalizowanym w niezbyt dużej odległości od ruchliwej ulicy, dlatego określonym jako park leśny.

Żołądź suszono w temperaturze pokojowej przez okres trzech tygodni, w dobrze wentylowanym oraz ciemnym miejscu. Wysuszone żołądź zostały poddane ocenie jakości surowca. Po wyselekcjonowaniu materiału zostały zmielone i były przechowywane w tych samych warunkach. Zmielony surowiec poddano ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami, zaliczanej do zielonych technik ekstrakcji. Ekstrakty przygotowano z użyciem 4 krótkołańcuchowych alkoholi alifatycznych: metanolu, etanolu, propan-1-olu, propan-2-olu – wszystkie w 3 stężeniach, tj. 40% (v/v), 70% (v/v) oraz nierozcieńczone. Ekstrakty sporządzano w proporcji 0,5 g roślinnego surowca na 10 cm³ rozpuszczalnika. Próbkę przygotowano z wykorzystaniem łaźni ultradźwiękowej (Sonic 0.5, Polsonic, Polska), czas trwania ekstrakcji wynosił 15, 30 lub 60 min. Łącznie przygotowano 108 ekstraktów. Po ekstrakcji materiał roślinny rozdzielono za pomocą filtrowania, a czyste wyciągi przeniesiono do plastikowych probówek zamkniętych korkiem i przechowywano w temperaturze pokojowej, w ciemnym miejscu do czasu analizy potencjału przeciwutleniającego.

Aktywność antyoksydacyjną uzyskanych ekstraktów oceniano metodami DPPH i ABTS [27, 28]. Metoda DPPH polega na rejestrowanej spektrofotometrycznie zmianie zabarwienia etanolowego roztworu rodnika DPPH z fioletowej na żółtą. Pomiaru dokonano przy długości fali 517 nm (przy użyciu spektrofotometru Hitachi U-51000). W skrócie: do 132 µl badanego ekstraktu dodawano 2500 µl rozcieńczonego alkoholowego roztworu DPPH i po upływie 10 min dokonywano pomiaru przy wspomnianej powyżej długości fali. Aktywność antyoksydacyjną wyrażoną jako równoważnik troloksu w mmol troloksu/dm³ wyznaczono ze sporządzonej krzywej zależności absorbancji od stężenia troloksu ($y = -1,4527x + 0,9423$; $r = 0,982$) [29, 30]. Każdy ekstrakt badano w trzech powtórzeniach, a wyniki przedstawiono w postaci średniej arytmetycznej $\pm$ odchylenie standardowe (SD).

Druga z zastosowanych metod, metoda ABTS, opiera się na spektrofotometrycznej ocenie zdolności przeciwutleniaczy do neutralizacji niebieskiego kationorodnika produkowanego z ABTS (2,2'-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonianu)), otrzymanego w wyniku reakcji z nadsiarczanem sodu, wyrażonej obniżeniem absorbancji badanego roztworu [31]. Sposób postępowania obejmował dodanie do 25 µl próbki badanego ekstraktu 2500 µl rozcieńczonego 50% (v/v) metanolem roztworu ABTS i dokonaniu, po 6-minutowej inkubacji w temperaturze pokojowej, pomiaru absorbancji przy długości fali 734 nm. Aktywność antyoksydacyjną wyrażoną jako równoważnik troloksu w mmol troloksu/dm³ wyznaczono ze sporządzonej krzywej zależności absorbancji od stężenia troloksu ($y = -0,2697x + 0,8806$; $r = 0,985$) [30, 31]. Każdy ekstrakt badano w trzech powtórzeniach, a wyniki przedstawiono w postaci średniej arytmetycznej $\pm$ odchy-

lenie standardowe (SD). Oceniono również korelację pomiędzy aktywnościami uzyskanymi przy użyciu obu metod z wykorzystaniem regresji liniowej. Oceniono również istotność statystyczną różnic pomiędzy poszczególnymi grupami pomiarów. Ponieważ wyniki w poszczególnych grupach różniły się istotnie od rozkładu normalnego, do analizy wykorzystano test Manna-Whitneya i Kruskala-Wallisa. Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą arkusza kalkulacyjnego programu Excel z pakietu Microsoft Office oraz programu ProStat v.5.5.

Wyniki

Na rysunku 1 przedstawiono średnie aktywności antyoksydacyjne ekstraktów z żołądźci dębu czerwonego zebrane w 3 lokalizacjach: przy ruchliwej ulicy, w parku leśnym i w lesie oddalonym od ruchliwych dróg. Aktywność antyoksydacyjną oznaczono metodą ABTS, natomiast wyniki wyrażono w mmol troloksu/dm³. Jak wynika z przedstawionych rycin, aktywność antyoksydacyjna oznaczona metodą ABTS otrzymanych ekstraktów była na podobnym poziomie, ale stwierdzono istotne statystyczne różnice między materiałem zebrany przy ruchliwej ulicy i w parku leśnym oraz w lesie (Tabela 1).

Tabela 1. Analiza statystyczna różnic aktywności antyoksydacyjnej żołądźci dębu czerwonego zebranych z trzech lokalizacji

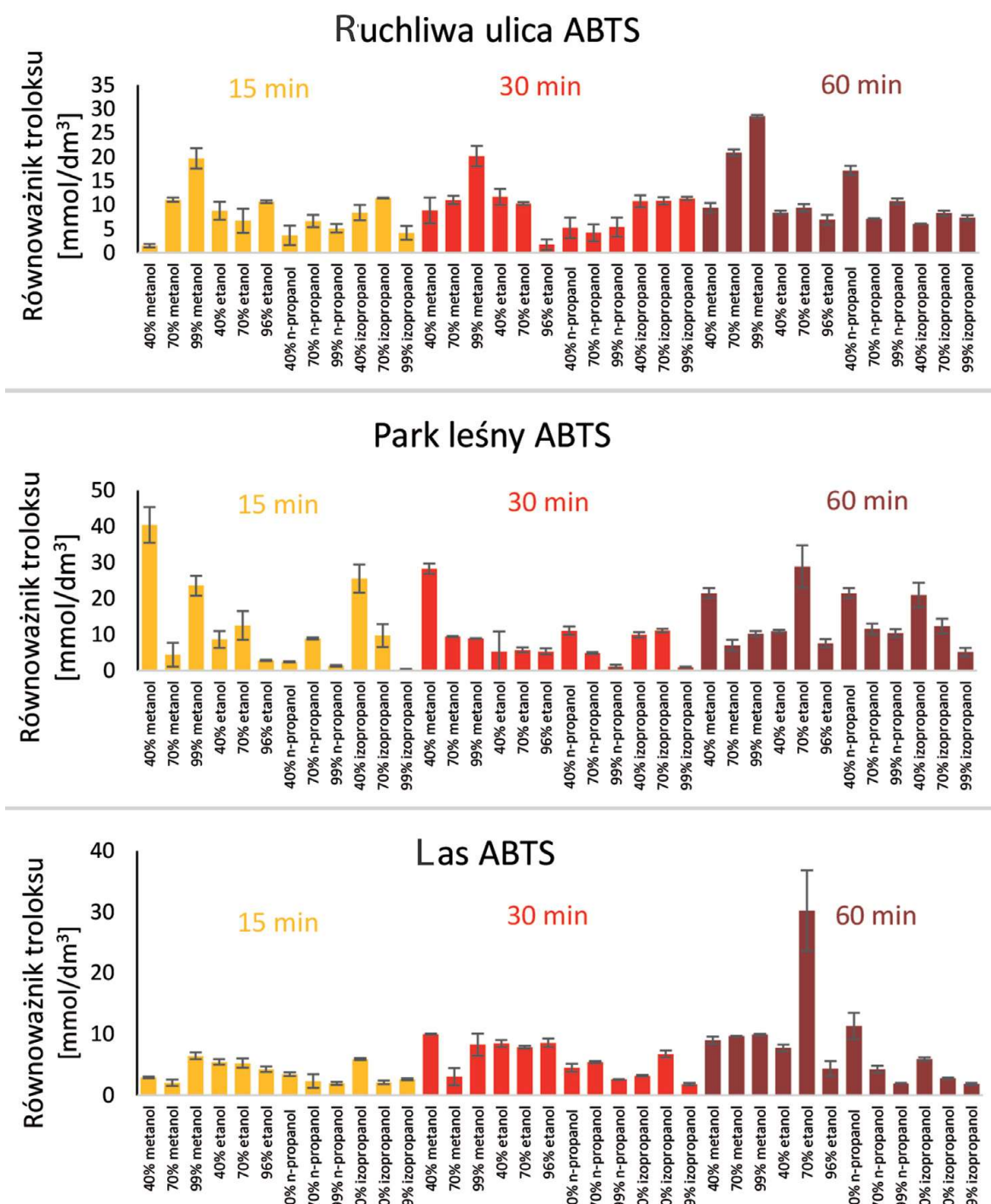
Table 1. Statistical analysis of differences in antioxidant activity of red oak acorns collected from three locations

Metoda oznaczania aktywności	Porównywane lokalizacje		<i>p</i>
DPPH	ruchliwa ulica	park leśny	$p < 0,0001$
	ruchliwa ulica	las	$p = 0,0027$
	park leśny	las	$p = 0,0049$
ABTS	ruchliwa ulica	park leśny	$p = 0,67$ (NS)
	ruchliwa ulica	las	$p = 0,0003$
	park leśny	las	$p = 0,0021$

NS – nieistotne statystycznie

Źródło: badanie własne.

Source: own study.



Rysunek 1. Średnia aktywność antyoksydacyjna ($\pm$ odchylenie standardowe, SD) ekstraktów żołądzi dębu czerwonego zebranych w trzech lokalizacjach oznaczona metodą ABTS i wyrażona jako równoważniki troloksu [mmol troloksu/dm³]. Pionowe linie oznaczają odchylenie standardowe (SD).

Figure 1. Mean antioxidant activity ($\pm$ standard deviation, SD) of red oak acorn extracts collected at three locations determined by the ABTS method and expressed as trolox equivalents [mmol trolox/dm³]. Vertical lines represent standard deviations (SD).

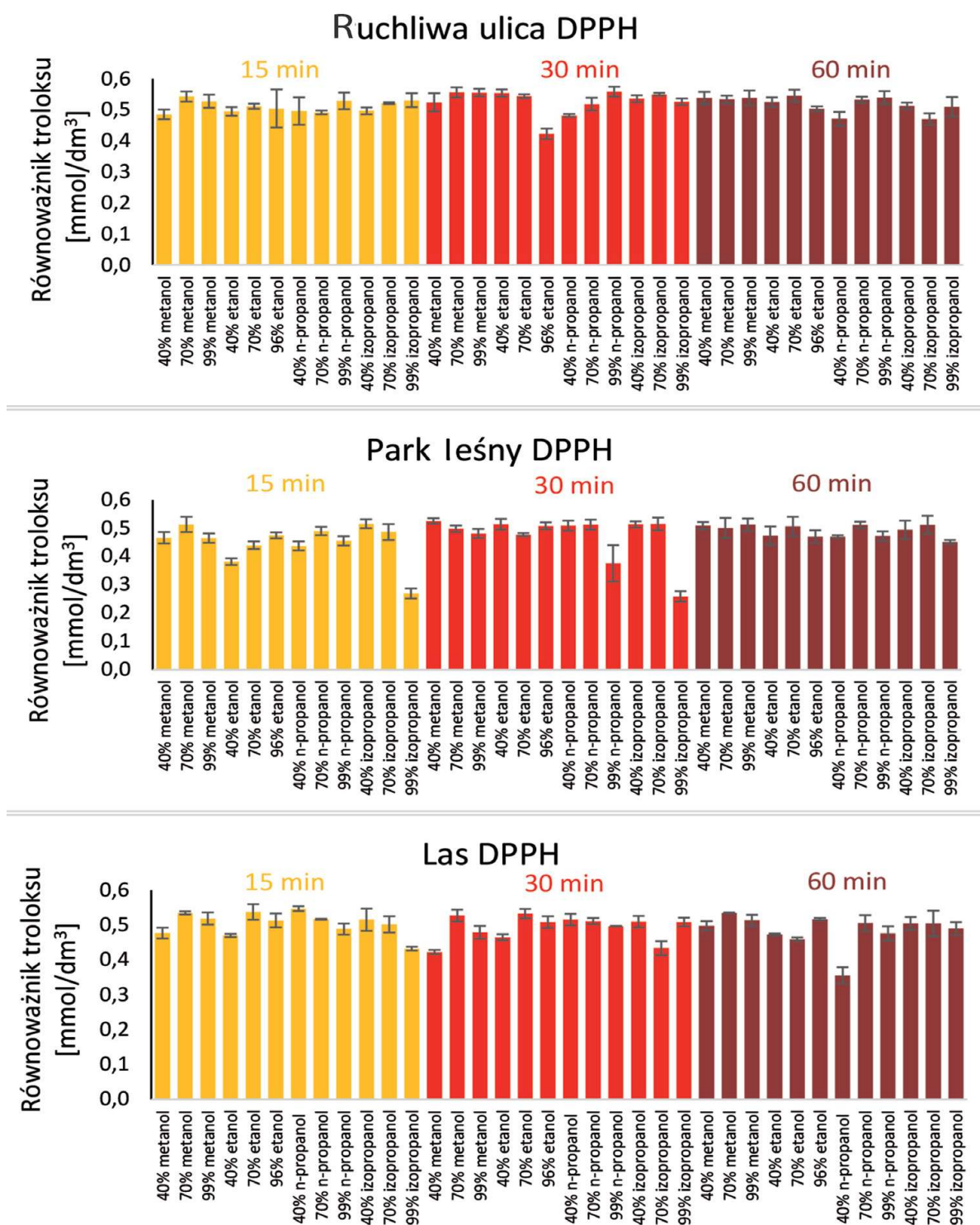
Źródło: badania własne.

Source: own study (results of this study).

Rysunek 2 przedstawia średnie aktywności antyoksydacyjne ekstraktów z żołądźi dębu czerwonego pochodzących z tych samych lokalizacji. Aktywność antyoksydacyjną oznaczono metodą DPPH, natomiast wyniki wyrażono, podobnie jak w przypadku poprzedniej metody, w mmol troloksu/dm³. Jak wynika z przedstawionych rycin, aktywność antyoksydacyjna otrzymanych ekstraktów oznaczona metodą DPPH była na podobnym poziomie, ale stwierdzono istotne statystyczne różnice między ekstraktami pochodzącymi z poszczególnych lokalizacji (Tabela 1). Otrzymane wyniki wydają się świadczyć o tym, że to, gdzie rośnie dąb czerwony, może mieć wpływ na aktywność antyoksydacyjną ekstraktów z jego żołądźi.

Oceniono również, czy zastosowany alkohol, jego stężenie i czas ekstrakcji miały wpływ na obserwowane aktywności antyoksydacyjne ekstraktów z żołądźi dębu czerwonego. Wykorzystano w tym celu test Kruskala-Wallisa. W przypadku zastosowania do oznaczeń aktywności antyoksydacyjnej ekstraktów w poszczególnych alkoholach metody DPPH nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy ekstraktami ($p = 0,2264$). Przy oznaczaniu aktywności metodą ABTS stwierdzono istotne statystycznie różnice między ekstraktami sporządzonymi w metanolu i n-propanolu ($p = 0,029$) i pomiędzy ekstraktami w metanolu i izopropanolu ($p = 0,002$), natomiast ekstrakty etanolowe nie różniły się w stopniu statystycznie istotnym od ekstraktów w metanolu, n-propanolu i izopropanolu ($p = 0,165$; $p = 0,090$ i $p = 0,165$), podobnie ekstrakty w n-propanolu i izopropanolu ($p = 0,372$). Zbadano również wpływ czasu ekstrakcji. W przypadku oceny metodą DPPH nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy poszczególnymi czasami ekstrakcji surowców ($p = 0,310$), natomiast w przypadku analizy ekstraktów metodą ABTS stwierdzono istotne statystycznie różnice pomiędzy próbkami ekstrahowanymi przez 15 i 30 min ($p = 0,003$). Stężenie alkoholi użytych do sporządzenia ekstraktów miało wpływ na uzyskane właściwości. W przypadku oznaczeń metodą DPPH stwierdzono istotne statystycznie różnice między ekstraktami sporządzonymi w 40 i 70% (v/v) alkoholach ($p = 0,036$) i pomiędzy ekstraktami w 70% i stężonych alkoholach ($p = 0,035$). W przypadku oznaczeń metodą ABTS istotnie statystycznie różniły się ekstrakty w 40% i stężonych alkoholach ($p = 0,015$) oraz w 70% i stężonych alkoholach ($p = 0,048$).

Dokonano również analizy korelacji pomiędzy wartościami aktywności antyoksydacyjnej oznaczonej metodą DPPH i ABTS. Stwierdzono istotną statystycznie liniową korelację pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną oznaczoną obiema metodami dla ruchliwej ulicy i parku leśnego (ruchliwa ulica $y = 0,002x + 0,4992$; $R = 0,3822$, $p = 0,021$; park leśny $y = 0,0024x + 0,443$; $R = 0,3658$; $p = 0,028$), natomiast nie stwierdzono takiej korelacji w przypadku lasu ($y = -0,0024x + 0,5087$; $R = -0,3173$; $p = 0,059$).



Rysunek 2. Średnia aktywność antyoksydacyjna ($\pm$ odchylenie standardowe, SD) ekstraktów żółdzi dębu czerwonego zebranego w trzech lokalizacjach oznaczona metodą DPPH i wyrażona jako równoważniki troloksu [mmol troloksu/dm³]. Pionowe linie oznaczają odchylenie standardowe (SD).

Figure 2. Mean antioxidant activity ($\pm$ standard deviation, SD) of red oak acorn extracts collected at three locations determined by the DPPH method and expressed as trolox equivalents [mmol Trolox/dm³].

Źródło: badania własne.

Source: own study (results of this study).

Dyskusja

W prezentowanej pracy podjęto próbę określenia aktywności antyoksydacyjnej ekstraktów z żołądź *Quercus rubra* zebranych w październiku 2023 r. w trzech różnych lokalizacjach – w nadleśnictwie Nowogard, przy ruchliwej ulicy w Szczecinie oraz przy położonym w tym mieście jeziorze Goplany. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że aktywność antyoksydacyjna ekstraktów otrzymanych z wykorzystaniem czterech niskocząsteczkowych alkoholi była różna w zależności od miejsca zbioru żołądź.

Głównymi substancjami prozdrowotnymi znajdującymi się w żołądźkach pochodzących z różnych gatunków *Quercus* są m.in. związki fenolowe. Niezwykle ważna jest ocena ich wpływu na skórę w procesie starzenia, gdyż dowiedzenie ich korzystnego wpływu umożliwiłoby wykorzystanie żołądź m.in. w przemyśle kosmetycznym. Od lat aktywność antyoksydacyjna żołądź dębu czerwonego stanowi przedmiot zainteresowań przedstawicieli wielu dyscyplin naukowych. W związku z tym istnieje możliwość porównania pozyskanych wyników badań własnych z badaniami prowadzonymi przez innych badaczy.

Oracz i wsp. [32] przeprowadzili pierwsze kompleksowe badanie mające na celu szczegółową identyfikację strukturalną metodą UHPLC-DAD-ESI-HRMS/MS związków fenolowych w surowych i poddanych obróbce termicznej nasionach *Q. rubra*. Przeprowadzona przez nich analiza w tym zakresie pozwoliła zidentyfikować i oznaczyć ilościowo łącznie 41 związków fenolowych, w tym garbniki ulegające hydrolizie (gallotaninę i elagitaninę), glikozydy fenolowe, kwas elagony i jego pochodne oraz pochodne kwasu hydroksybenzoesowego. Głównymi pojedynczymi związkami fenolowymi w nasionach *Q. rubra* były m.in. kreatynina, rugosyna, enoteina B i izomery D rugosyny. Wykazano, iż kreatynina jest jednym z najbardziej stabilnych termicznie związków fenolowych nasion dębu czerwonego, natomiast najbardziej wrażliwe na obróbkę cieplną są galotaniny i dimeryczne elagotanniny o dużej masie cząsteczkowej.

Górnaś w swych badaniach [33] przeanalizował obecność tokoferoli w owocach *Q. rubra* L. oraz *Q. robur* L. przy użyciu techniki wysokosprawnej chromatografii cieczowej. W wyniku analizy zidentyfikował cztery rodzaje tokoferoli: α -tokoferol, β -tokoferol, γ -tokoferol oraz δ -tokoferol. W żołądźkach *Q. robur* najwyższym stężeniem cechowały się γ -tokoferole, podczas gdy w *Q. rubra* dominowały pod tym względem β -tokoferole. Dominacja β -tokoferoli w żołądźkach pochodzących z dębu czerwonego jest interesująca, bowiem w innych gatunkach *Quercus* dominują inne tokoferole [34]. Wysoka zawartość tokoferoli w owocach dębów decyduje o ich właściwościach antyoksydacyjnych, co czyni je surowcem potencjalnie użytecznym w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym [33].

Marc i wsp. [35] w swojej pracy przedstawili możliwość wykorzystania proszku z żołądź z dębu czerwonego do otrzymania produktu czekoladowego niezawierającego środków pobudzających układ nerwowy. Czekoladę otrzymano po zoptymalizowaniu procesu prażenia żołądź dębu i uzyskaniu proszku. Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że żołądź dębu czerwonego charakteryzują się dużą zawartością związków fenolowych, które wykazują silne działanie przeciwutleniające, a w związku z tym spełniają liczne funkcje fizjologiczne, biochemiczne i biologiczne. Żołądź te są obiecującym materiałem bazowym, który zawiera duże ilości metabolitów wtórnych, zdolnych do zapewnienia ochrony przed skażeniem mikrobiologicznym, a zwłaszcza namnażaniem się bakterii Gram-dodatnich (*Bacillus cereus*).

Oracz i wsp. [36] skupili się na zbadaniu składu związków bioaktywnych, w tym związków fenolowych i produktów reakcji Maillarda, cech smakowych i zdolności przeciwutleniających żołądź dębu czerwonego, uwzględniając różne kombinacje czasu i temperatury ich prażenia. Celem badania było zidentyfikowanie odpowiednich i efektywnych warunków obróbki termicznej, które poprawiają właściwości sensoryczne produktu oraz zwiększają lub utrzymują zawartość korzystnych dla zdrowia związków bioaktywnych, wykazujących m.in. właściwości przeciwutleniające. Badacze wykazali, iż zarówno nieprażone, jak i prażone nasiona *Quercus rubra* można uznać za cenne źródło związków bioaktywnych, wykazujących silne właściwości przeciwutleniające. Żołądź dębu czerwonego można zatem wykorzystać do produkcji pełnowartościowej i zdrowej żywności, bogatej we wszystkie niezbędne składniki odżywcze, której spożywanie może znacząco zmniejszyć ryzyko rozwoju chorób cywilizacyjnych. Ponadto wysoka zawartość melanoidyn i związków fenolowych sprawi, że surowiec ten oraz uzyskane z niego preparaty staną się trwalsze, jak również bardziej odporne na szkodniki oraz patogeny, a także łatwiejsze będzie ich przetworstwo – pozwoli to uniknąć niepożądanego stosowania stabilizatorów i konserwantów oraz wydłużyć przewidywany czas przechowywania surowca. Tym samym uprawa dębu czerwonego zasadniczo nie wymaga nawożenia ani stosowania pestycydów i można uznać jego żołądź za znaczące źródło żywności funkcjonalnej. Dodatkowo wyniki badań pokazały, iż zarówno prażone, jak i nieprażone nasiona *Quercus rubra* mogą być wykorzystywane jako składnik funkcjonalny w przemyśle spożywczym oraz mogą znaleźć zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym.

Zamieszczone dane z piśmiennictwa, jak również wyniki przeprowadzonych badań świadczą o znaczących właściwościach przeciwutleniających dębu czerwonego. Uzyskane wyniki dowodzą, iż można rozważyć możliwość szerszego zastosowania *Quercus rubra* w przemyśle farmaceutycznym oraz kosmetycznym.

Wnioski

1. Dąb czerwony (*Quercus rubra*, *Fagaceae*) stanowi cenne źródło antyoksydantów.
2. Znaczący wpływ na uzyskiwany potencjał antyoksydacyjny wyciągów z tej rośliny miał rodzaj stosowanego ekstrahenta, jak również czas ekstrakcji.
3. Ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami, zaliczana do zielonych technik, jest cenną metodą służącą pozyskiwaniu ekstraktów o znaczącej aktywności antyoksydacyjnej.
4. Ze względu na istotne właściwości prozdrowotne dąb czerwony powinien znaleźć zastosowanie w produkcji kosmetyków, głównie przeciwstarzeniowych.

Literatura

- [1] Urbańska M., Nowak G., Florek E., Wpływ palenia tytoniu na starzenie się skóry, *Przegląd Lekarski*, 2012, 69(10), s. 1111–1114.
- [2] Węglowska J., Milewska A., Pozytywne i negatywne skutki promieniowania słonecznego, *Postępy Kosmetologii*, 2011, 2(2), s. 93–97.
- [3] Tobin D.J., Introduction to skin aging, *Journal of Tissue Viability*, 2017, 26(1), s. 37–46.
- [4] Miller E., Malinowska K., Gałęcka E., Mrowicka M., Kędziora J., Rola flawonoidów jako przeciwutleniaczy w organizmie człowieka, *Polski Merkuriusz Lekarski*, 2008, 24(144), s. 556–560.
- [5] Prior R.L., Oxygen radical absorbance capacity (ORAC): New horizons in relating dietary antioxidants/bioactives and health benefits, *Journal of Functional Foods*, 2015, 18, s. 797–810.
- [6] Skotnicka M., Golan M., Szmukała N., Rola naturalnych przeciwutleniaczy pochodzenia roślinnego w profilaktyce nowotworowej, *Annales Academiae Medicae Gedanensis*, 2017, 47, s. 119–127.
- [7] Karadag A., Ozcelik B., Saner S., Review of methods to determine antioxidant capacities, *Food Analytical Methods*, 2009, 2(1), s. 41–60.
- [8] Koss-Mikołajczyk I., Baranowska M., Namieśnik J., Bartoszek A., Metody oznaczania właściwości przeciwutleniających fitozwiązków w systemach komórkowych z wykorzystaniem zjawiska fluorescencji/luminescencji, *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 2017, 71, s. 602–617.
- [9] Puzanowska-Tarasiewicz H., Kuźmicka L., Tarasiewicz M., Antyoksydanty a reaktywne formy tlenu, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2010, 43(1), s. 9–14.
- [10] Zabłocka A., Janusz M., Dwa oblicza wolnych rodników tlenowych, *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 2008, 62, s. 118–124.
- [11] Czajka A., Wolne rodniki tlenowe a mechanizmy obronne organizmu, *Nowiny Lekarskie*, 2006, 75(6), s. 582–586.
- [12] Wawrzyniak A., Krotki M., Stoparczyk B., Właściwości antyoksydacyjne owoców i warzyw, *Medycyna Rodzinna*, 2011, 1, s. 19–23.

- [13] Siti H.N., Kamisah Y., Kamsiah J., The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review), *Vascular Pharmacology*, 2015, 71, s. 40–56.
- [14] Crobeddu B., Aragao-Santiago L., Bui L.C., Boland S., Baeza Squiban A., Oxidative potential of particulate matter 2.5 as predictive indicator of cellular stress, *Environmental Pollution*, 2017, 230, s. 125–133.
- [15] Szwagrzyk J., Potencjalne korzyści i zagrożenia związane z wprowadzaniem do lasów obcych gatunków drzew, *Sylwan*, 2000, 144(2), s. 99–106.
- [16] Bijak S., Bronisz A., Bronisz K., Wpływ czynników klimatycznych na przyrost radialny dębu szypułkowego i czerwonego w LZD Rogów, *Studia i Materiały CEPL*, 2012, 1(30), s. 1222.
- [17] Tomusiak R., Wojtan R., Arasim W., Porównanie przyrostów radialnych dębu czerwonego i szypułkowego rosnących w bliskim sąsiedztwie, *Studia i Materiały CEPL*, 2016, 48(3), s. 81.
- [18] Gazda A., Augustynowicz P., Obce gatunki drzew w polskich lasach gospodarczych: co wiemy o puli i rozmieszczeniu wybranych taksonów, *Studia i Materiały CEPL*, 2012, 33, s. 53–61.
- [19] Tokarska-Guzik B., Dajdok Z., Zając M., Zając A., Urbisz A., Danielewicz W., Hołdyński C., Rośliny obcego pochodzenia w Polsce ze szczególnym uwzględnieniem gatunków inwazyjnych, *Generalna Dyrekcja Ochrony Środowiska*, 2012, s. 197.
- [20] Wilczek Z., Kluska P., Zarzycki W., Zarzycka M., Fitocenozy z udziałem dębu czerwonego (*Quercus rubra* L.) na terenie nadleśnictwa Kobiór i ich znaczenie dla tego gatunku, *Acta Geographica Silesiana*, 2017, 26, s. 79–87.
- [21] Woziwoda B., Antropogeniczne wspomaganą ekspansja dębu czerwonego *Quercus rubra*. Zagrożenia ekosystemów leśnych przez człowieka, *Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie*, 2008, s. 259–263.
- [22] Wójcik S., Dąb czerwony, *Las Polski*, 2008, 18, s. 22–23.
- [23] Kuc M., Piszczek M., Janusz A., Znaczenie dębu czerwonego w ekosystemie leśnym i rachunku ekonomicznym nadleśnictw Regionalnej Dyrekcji Lasów Państwowych w Katowicach, *Studia i Materiały CEPL*, 2012, 33(4), s. 152–159.
- [24] Chmura D., Charakterystyka fitocenotyczna leśnych zbiorowisk zastępczych z udziałem *Quercus rubra* L. na Wyżynie Śląskiej, *Acta Botanica Silesiaca*, 2014, 10, s. 17–40.
- [25] Chmura D., Impact of alien tree species *Quercus rubra* L. on understorey habitat and flora: a study of the Silesian Upland (Southern Poland), *Polish Journal of Ecology*, 2013, 61(3), s. 431–442.
- [26] Woziwoda B., Kopeć D., Witkowski J., The negative impact of intentionally introduced *Quercus rubra* L. on a forest community, *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 2013, 83(1), s. 39–49.
- [27] Woziwoda B., Potocki M., Sagan J., Zasada M., Tomusiak R., Wilczyński S., Commercial Forestry as a Vector of Alien Tree Species – the Case of *Quercus rubra* L. Introduction in Poland, *Baltic Forestry*, 2014, 20(1), s. 131–141.

- [28] Muzykiewicz A., Zielonka-Brzezicka J., Florkowska K., Klimowicz A., Antioxidant potential of *Hippophae rhamnoides* L. extracts obtained with green extraction technique, *Herba Polonica*, 2018, 84(4), s. 14–22.
- [29] Muzykiewicz A., Nowak A., Florkowska K., Klimowicz A., Optimization of ultrasound-assisted extraction of fresh and frozen Mirabelle plum to enhance antioxidant potential, polyphenols, plant pigments, and phenolic acid content, *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 2022, 21(3), s. 239–250.
- [30] Wąsik A., Klimowicz A., Extracts from *Corylus avellana* as a source of antioxidants useful in cosmetic preparations, *Pomeranian Journal of Life Sciences*, 2022, 68(4), s. 56–66.
- [31] Koss-Mikołajczyk I., Baranowska M., Namieśnik J., Bartoszek A., Metody oznaczania właściwości przeciwutleniających fitozwiązków w systemach komórkowych z wykorzystaniem zjawiska fluorescencji/luminescencji, *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 2017, 71, s. 602–616.
- [32] Oracz J., Żyżelewicz D., Pacholczyk-Sienicka B., UHPLC-DAD-ESI-HRMS/MS profile of phenolic compounds in northern red oak (*Quercus rubra* L., syn. *Q. borealis* F. Michx.) seeds and its transformation during thermal processing, *Industrial Crops and Products*, 2022, 189, s. 115860.
- [33] Górnaś P., Oak *Quercus rubra* L. and *Quercus robur* L. acorns as an unconventional source of gamma-and beta-tocopherol, *European Food Research and Technology*, 2019, 245(1), s. 257–261.
- [34] Szablowska E., Tańska M., Acorns as a source of valuable compounds for Food and Medical Applications: A Review of *Quercus* Species Diversity and Laboratory Studies, *Applied Sciences*, 2024, 14, 2799.
- [35] Marc R.A., Niculae M., Páll E., Mureşan V., Mureşan A., Tanislav A., Puscas A., Muresan C., Cerbu C., Red Oak (*Quercus rubra* L.) Fruits as Potential Alternative for Cocoa Powder: Optimization of Roasting Conditions, Antioxidant and Biological Properties, *Forests*, 2021, 12(8), s. 1088.
- [36] Oracz J., Prejzner M., Grzelczyk J., Kowalska G., Żyżelewicz D., Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Sensory Properties of Northern Red Oak (*Quercus rubra* L., syn. *Q. borealis* F. Michx.) Seeds Affected by Roasting Conditions, *Molecules*, 2023, 28(5), s. 2299.