

HERBALISM

nr 1(8)/2022

| CZASOPISMO NAUKOWE |

Rada Naukowa

Prof. dr Elvyra Jariene (Vytautas Magnus University Kauno, Lithuania)
Prof. Zaffer Kaya (Bartın Üniversitesi, Turkish)
Prof. dr. Halil Barış Özel (Bartın University, Turkish)
Prof. dr hab. Wolodymyr Lychowczor (Lwowski Narodowy Uniwersytet Rolniczy, Ukraina)
Prof. Imran Aslan (Bingöl University, Turkish)
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. Maľgorzata 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 Bialska 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. inż. Renata Tobiasz-Salach (Uniwersytet Rzeszowski)
Dr hab. Magdalena Twarużek (Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy)
Prof. Viola Wambol (Yuri Kondratyuk Poltava Polytechnic, Ukraine)
Dr hab. Danuta Zarzycka (Uniwersytet Medyczny w Lublinie)
Dr hab. Łukasz Luczaj (Uniwersytet Rzeszowski)

Recenzenci

Prof. dr hab. Jadwiga Anioł-Kwiatkowska, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Dr inż. Tomasz Cebulak – Uniwersytet Rzeszowski
Prof. dr hab. Honorata Danilcenko – Vytautas Magnus University Academy (Litwa)
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. Maľgorzata Stryjecka – Państwowa Akademia Nauk Stosowanych w Chełmie
Prof. dr hab. inż. Antoni Szumny – Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
Dr hab. Piotr Waligórski, Instytut Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego, Polska Akademia Nauk w Krakowie
Dr n. wet. Mirosław Welz, Wojewódzki Inspektorat Weterynarii w Krośnie
Dr hab. Grażyna Zawisłak, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Redaktor Naczelna

Dr hab. inż. Barbara Krochmal-Marczak

Redaktorzy Tematyczni

Dr hab. Katarzyna Paradowska
Dr Henryk Róžański

Redaktor Statystyczny

Dr Justyna Kurkowiak

Sekretarz Redakcji

Mgr Jolanta Witkoś

Projekt okładki

Anna Czerny /www.annczerny.pl

Korekta

Mgr Agnieszka Kaszczyszyn
Mgr Jolanta Witkoś

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

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

Spis treści

Ocena jakości szafranu (*Crocus sativus* L.) z wykorzystaniem metod spektroskopowych

Quality assessment of saffron (*Crocus sativus* L.) with the use of spectroscopic methods

Karolina Stolarek, Angelika Uram-Dudek, Iwona Wawer,

Katarzyna Paradowska. 6

Ocena możliwości zastosowania magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) w jakościowej analizie wybranych konserwantów obecnych w kosmetykach

The evaluation of the possibility of using nuclear magnetic resonance (NMR) in qualitative analysis of selected preservatives present in cosmetics

Izabela Głaszczka, Katarzyna Paradowska 27

Synergistyczne i antagonistyczne działanie przeciwutleniające w dwuskładnikowych mieszaninach wybranych polifenoli i kwasu L-askorbinowego

Synergistic and antagonistic antioxidant effects in two-component mixtures of selected polyphenols and L-ascorbic acid

Marta Głowacka, Agnieszka Zielińska 45

Porównanie zdolności chelatowania jonów żelaza (II) i zmiatania wolnego rodnika DPPH przez ekstrakty z mchów

Comparison of the capacity of moss extracts to chelate iron (II) ions and scavenge the free radical DPPH

Sara Janowska 59

Radioprotekcyjne właściwości ekstraktów z kory sosny

Radioprotective effects of pine bark extracts

Marcin Goss, Iwona Wawer, Katarzyna Paradowska. 73

Wpływ terminu zakładania plantacji na plon i jakość nasion babki płesznik (*Plantago psyllium* L.)

Influence of the term of establishment of plantations on the yield and quality of psyllium seeds (*Plantago psyllium* L.)

Zuzanna Jakubowska, Anna Biernat, Ewa Osińska 85

Karbieńiec pospolity (*Lycopus europeus* L.) roślina o cennych walorach prozdrowotnych

Lycopus europeus L., a plant with valuable health-promoting qualities

Ewa Osińska, Daniel Zauski, Piotr Barczak, Wiesława Rosłon,

Zuzanna Jakubowska. 95

| | |
|--|-----|
| Preferencje kulinarne wykorzystania roślin strączkowych w aspekcie ich właściwości prozdrowotnych Preferences for the culinary use of legumes in terms of their health-promoting properties Bernadetta Bienia, Anna Bogacz, Magdalena Dykiel, Barbara Krochmal-Marczak. . . | 105 |
| Substancje antyżywniowe w wybranych roślinach rolniczych Anti-nutritional substances in selected agricultural plants Anna Sikorska, Marek Gugąła, Krystyna Zarzecka, Łukasz Domański | 119 |
| Ziemniak kolorowy – uprawiany wczoraj, dziś, jutro Color potato – grown yesterday, today, tomorrow Krystyna Zarzecka, Agnieszka Ginter, Marek Gugąła, Iwona Mystkowska. | 130 |
| Ocena wybranych parametrów jakościowych miodu Evaluation of selected quality parameters of honey Magdalena Dykiel, Edyta Rygiel, Barbara Krochmal-Marczak, Jolanta Baran. | 140 |
| Rozmieszczenie azulenowych i bezazulenowych form <i>Achillea L.</i> w Czechach Distribution of the azulene-containing and azulene-less forms of <i>Achillea L.</i> in the Czech Republic Janina Dąbrowska. | 152 |
| Zioła i suplementy diety post-COVID, czyli możliwości wspierania chorych i ozdrowieńców Herbs and post-COVID dietary supplements, the possibility of supporting the sick and convalescents Ewelina Włodarczyk | 166 |
| Topinambur (<i>Helianthus tuberosus L.</i>) źródło substancji prozdrowotnych Jerusalem artichoke (<i>Helianthus tuberosus L.</i>) is a source of health-promoting substances Iwona Mystkowska, Krystyna Zarzecka, Angelika Dadej, Beata Kosińska, Agnieszka Ginter | 183 |
| Między świątynią a laboratorium – pisma ksieni Hildegardy z Bingen we współczesnej fitoterapii Between a temple and a laboratory – the writings of abbess Hildegard from Bingen in modern phytotherapy Sebastian Fröhlich | 191 |

Szanowni Czytelnicy!

Z przyjemnością przekazujemy Państwu ósmy numer *Herbalismu*. W tegorocznym numerze proponujemy lekturę interesujących rozważań na wiele tematów tj.; oceny jakości szafranu (*Crocus sativus*) z wykorzystaniem metod spektroskopowych, oceny przydatności metody magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) w jakościowej analizie wybranych konserwantów obecnych w kosmetykach czy też synergistycznego i antagonistycznego działania przeciwutleniającego w dwuskładnikowych mieszaninach wybranych polifenoli i kwasu L-askorbinowego.

Zainteresowanie czytelników powinny wzbudzić także artykuły dotyczące porównania zdolności chelatowania jonów żelaza (II) i zmiatania wolnego rodnika DPPH przez ekstrakty z mchów czy też radioprotekcyjne właściwości ekstraktów z kory sosny.

Polecamy także artykuły opisujące wybrane rośliny zielarskie i uprawne, które charakteryzują się cennymi właściwościami prozdrowotnymi.

Godny uwagi jest także artykuł dotyczący oceny wybranych miódów odmianowych dostępnych na rynku polskim, w którym opisane są wybrane parametry decydujące o ich jakości. Ciekawość czytelników powinna także wzbudzić publikacja dotycząca substancji antyodżywczych, czyli związków naturalnie występujących w roślinach, które mogą ograniczać lub uniemożliwiać wykorzystanie składników odżywczych lub szkodliwie wpływać na organizm człowieka.

Warta polecenia jest także praca o ziołach i suplementach diety post-COVID, opisująca szeroki wachlarz ziół i suplementów, których działanie może wspomóc chorych i ozdrowieńców po przebiegu zakażenia Sars-CoV-2.

W dziale historycznym „Z dziejów fitoterapii” znajdziecie Państwo artykuł *Między świątynią a laboratorium - pisma ksieni Hildegardy z Bingen we współczesnej fitoterapii*. Niniejsza praca jest próbą odpowiedzi czy zasadne jest stosowanie zaleceń oraz myśli pism hildegardiańskich w kontekście współczesnej fitoterapii.

Mamy nadzieję, że zaproponowana przez Redakcję zawartość *Herbalismu* w roku 2022 przyniesie czytelnikom poznawczą satysfakcję z przedstawionych przez autorów artykułów, zaś wyniki i wnioski będą źródłem inspiracji do kontynuowania badań, których wyniki z przyjemnością przedstawimy 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 Naczelny

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

Ocena jakości szafranu (*Crocus sativus* L.) z wykorzystaniem metod spektroskopowych

Quality assessment of saffron (*Crocus sativus* L.) with the use of spectroscopic methods

Karolina Stolarek¹, Angelika Uram-Dudek², Iwona Wawer²,
Katarzyna Paradowska³

- ¹ Koło Naukowe „Free Radicals” przy Zakładzie Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny, WUM, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa,
- ² Karpacka Państwowa Uczelnia w Krośnie, ul. Dmochowskiego 12, 38-400 Krosno, e-mail: iwona.wawer@kpu.krosno.pl,
- ³ Zakład Chemii Organicznej i Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny, WUM, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa; e-mail: katarzyna.paradowska@wum.edu.pl

Słowa kluczowe: szafran, *Crocus sativus*, NMR, UV-Vis, właściwości antyoksydacyjne (DPPH), krocyna, safranal

Key words: saffron, *Crocus sativus*, NMR, UV-Vis, antioxidant properties (DPPH), crocin, safranal

Streszczenie

Szafran (*Crocus sativus* L.) to wyjątkowa roślina, ceniona na całym świecie. Uznawana za jedną z najdroższych i najszlachetniejszych przypraw. Właściwości szafranu znali już starożytni, którzy nie tylko dodawali szafran do dań i napitków, barwili nim tkaniny, ale także stosowali go w celach prozdrowotnych. Roślina ta jest doskonałym środkiem wspomagającym trawienie, poprawiającym nastrój i apetyt. W wielu badaniach naukowych wykazano również jej właściwości antydepresyjne, przeciwdrgawkowe, przeciwnowotworowe, antybakteryjne oraz antyoksydacyjne. Ze względu na szerokie zastosowanie tego materiału roślinnego, różne pochodzenie czy czas przechowywania, ważna jest weryfikacja surowca pod względem składu oraz właściwości. Stąd też ważne jest poszukiwanie szybkich, nieniszczących metod analitycznych, pozwalających na kontrolę surowca. W artykule przedstawiono analizę jakościową głównych bioaktywnych związków szafranu: krocyny, pikrokrocyny oraz safranalu z wykorzystaniem trzech technik spektroskopowych: spektroskopii UV-Vis, magnetycznego rezonansu jądrowego w stanie stałym (¹H MAS i ¹³C CPMAS NMR) oraz paramagnetycznego rezonansu jądrowego (EPR). Materiał poddano również analizie właściwości antyoksydacyjnych szafranu z wykorzystaniem testu zmiatania wolnego rodnika DPPH. Test przeprowadzono na materiale świeżym i pookresie starzenia materiału –

(promieniowanie UV). Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że do przeprowadzenia analizy jakościowej badanych próbek wskazane jest zastosowanie kilku metod analitycznych w celu uzyskania pełnego obrazu. Widma ^1H MAS NMR zarejestrowane dla próbek w postaci proszku rozróżniają próbki na podstawie związków z mobilnymi łańcuchami alifatycznymi. Natomiast analiza widm ^{13}C CPMAS NMR umożliwia odróżnienie próbek i identyfikację głównych składników (pierścienie aromatyczne, cukry czy grupy karbonylowe). Wykorzystanie charakterystycznych pasm absorpcji dla głównych składników szafranu może stanowić podstawę do określenia jakości badanego materiału roślinnego. Przeprowadzona analiza z zastosowaniem rodnika DPPH wykazała, iż szafran posiada wysokie właściwości antyoksydacyjne, działanie promieni UV powoduje ich zmniejszenie średnio o 50%.

Summary

Saffron (*Crocus sativus*) is a unique plant, valued all over the world. Considered one of the most expensive and noble spices. The properties of saffron were already known to the ancients, who not only added saffron to dishes and drinks, dyed fabrics with it, but also used it for health-promoting purposes. This plant is an excellent digestive aid, improving mood and appetite. Many scientific studies have also demonstrated its antidepressant, anticonvulsant, anticancer, antibacterial and antioxidant properties. Due to the wide application of this plant material, different origin, or storage time, it is important to verify the raw material in terms of its composition and properties. Hence the search for fast, non-destructive analytical methods that allow for raw material control. The article presents a qualitative analysis of the main bioactive compounds of saffron: crocin, picrocrocin and safranal using three spectroscopic techniques: UV-Vis spectroscopy, solid state nuclear magnetic resonance (^1H MAS and ^{13}C CPMAS NMR) and nuclear paramagnetic resonance (EPR). The material was also analyzed for the antioxidant properties of saffron using the DPPH free radical scavenging test. The test was carried out on fresh material and after the material's aging period – (UV radiation). Based on the obtained results, it was found that for the qualitative analysis of the tested samples it is advisable to use several analytical methods to obtain a complete picture. The ^1H MAS NMR spectra recorded for the powder samples distinguished the samples based on compounds with mobile aliphatic chains. On the other hand, the analysis of ^{13}C CPMAS NMR spectra enables the differentiation of samples and the identification of the main components (aromatic rings, sugars, or carbonyl groups). The use of characteristic absorption bands for the main components of saffron can be the basis for determining the quality of the tested plant material. The analysis carried out with the use of the DPPH radical showed that saffron has high antioxidant properties, the effect of UV radiation reduces them by an average of 50%.

Wstęp

Za ojczyznę szafranu uważana jest Azja Mniejsza, a słowo szafran pochodzi od arabsko-perskiego *al-zafaron* i oznacza „żółty”, ale i „nitka” [4]. *Crocus sativus* – szafran uprawny to roślina jednoliścienna z rodziny kosaćcowatych (*Iridaceae*). Nie spotyka się szafranu w stanie dzikim, a miejsca upraw to głównie rejon Morza Śródziemnego, Hiszpania, Iran, Maroko, Grecja, Turcja, Francja oraz Kaszmir. Szafran to cenna przyprawa znana jako „czerwone złoto”, pozyskiwana z wysuszonych znamion słupka o ciemnopomarańczowej barwie [5], zbieranych ręcznie. Do dzisiaj szafran uważany jest za jeden z najdroższych surowców roślinnych, z tego też względu roślina ta od zawsze była i nadal jest powodem licznych oszustw i falsyfikacji, głównie z użyciem pomarańczowo-żółtych płatków aksamitki, nagietka czy krokosza barwierskiego [6, 7]. Słupki *Crocus sativus* zawierają trzy główne składniki: pikrokrocinę (odpowiedzialną za charakterystyczną goryczkę), safranal (nadający aromat) oraz krocynę (główny barwnik rozpuszczalny w wodzie). W szafranie zidentyfikowano również witaminy z grupy B: tiaminę (B1) i ryboflawinę (B2), olejki eteryczne w ilości od 0,3-1,5%. Pikrokrocyna i safranal stanowią łącznie do 4% szafranu, uważa się, że im większa jest ich zawartość tym lepsza jakość szafranu. Aktywne składniki szafranu są produktami metabolizmu złożonych karotenoidów, głównie zeaksantyny oraz w mniejszym stopniu likopenu [3, 8].

Szafran od samego początku funkcjonował jako symbol bogactwa i luksusu, a cena nie pozwalała na jego powszechne nabycie. Medyczne zastosowania szafranu obejmują leczenie zapań, hamowanie zapalenia błony śluzowej, łagodzenie depresji, łagodzenie przekrwienia dróg oddechowych, zwiększenie apetytu, leczenie kaszlu, stymulator przepływu menstruacyjnego, wzmaganie laktacji i łagodzenie skurczów [9, 10]. W medycynie ludowej stosowany był jako lek uspokajający, przeciwskurczowy czy pobudzający apetyt. W postaci wyciągu obniża ciśnienie krwi oraz poziom cholesterolu. Wykazano także jego działanie antybakteryjne, antydepresyjne oraz antykancerogenne [11, 12, 13]. Szafran był wykorzystywany do regulowania miesiączkowania i jako afrodyzjak. Miał mieć również korzystny wpływ na dolegliwości żołądkowe. Stosowano go do leczenia ran [14]. W latach 90. XX wieku część z tych tradycyjnych wskazań stała się przedmiotem badań klinicznych i przedklinicznych, których wyniki potwierdzają przeciwzapalne, przeciwdepresyjne, antyoksydacyjne, immunomodulujące oraz cytostatyczne działanie składników szafranu [7, 8, 15, 16, 17, 18, 19].

Badania kliniczne efektu przeciwdepresyjnego szafranu zapoczątkował dzieść lat temu profesor Shahin Akhondzadeh z Uniwersytetu Medycznego w Teheranie. Wpisywały się one w szerszy projekt, polegający na testowaniu efektów tradycyjnych leków roślinnych w psychiatrii, przy zastosowaniu metody naukowej [19, 20].

Szafran, głównie ze względu na zdolność nadawania potrawom zapachu, smaku oraz koloru, ma zastosowanie w kuchni. Jego intensywny smak (który określany jest jako korzenny, gorzki, lekko ostry, piżmowy) oraz kolor sprawiają, że przyprawa ta może być używana do przygotowania: makaronów, napojów (alkoholowych czy bezalkoholowych), mięs, ryb, deserów i ciast.

W artykule przedstawiono analizę jakościową głównych bioaktywnych związków szafranu: krocyny, pikrokrocyny oraz safranal z wykorzystaniem spektroskopii UV-Vis, magnetycznego rezonansu jądrowego w stanie stałym oraz paramagnetycznego rezonansu jądrowego.

W poszukiwaniu różnic w analizowanym materiale oznaczono również właściwości antyoksydacyjne szafranu (w porównaniu do innych przypraw) z wykorzystaniem testu zmiatania wolnego rodnika DPPH. Test przeprowadzono zarówno na materiale świeżo otwartym, jak i po 61 dniach starzenia materiału – poddanie działaniu promieni słonecznych.

Materiał i metody

Materiał badawczy stanowiło 6 próbek przypraw z różnych źródeł oraz 4 wzorce (główne składniki szafranu: krocyna i safranal oraz kurkumina i β -karoten) zakupione w Sigma-Aldrich. Szczegółowy 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 | Nazwa/Producent/Pochodzenie | Kolor materiału | Postać |
|-----------|--|-----------------|---------|
| 1 | Szafran – zakupiony w Tunezji (targ) | Pomarańczowy | Nitki |
| 2 | Kurkumina – zakupiona w Tunezji (targ) | Żółty | Proszek |
| 3 | Szafran – KAMIS | Czerwony | Nitki |
| 4 | Szafran – KOTANYI – s.10912211622 | Czerwony | Nitki |
| 5 | Szafran – KOTANYI – s.10911101825 | Czerwony | Nitki |
| 6 | Papryka chili – ze zbioru przypraw gospodarstwa domowego | Czerwony | Proszek |
| 7 | Krocyna – zakupiona w Sigma-Aldrich | Pomarańczowy | Proszek |
| 8 | Safranal – zakupiony w Sigma-Aldrich | Żółty | Ciecz |
| 9 | α -karoten – zakupiony w Sigma-Aldrich | Pomarańczowy | Proszek |
| 10 | Kurkumina – zakupiona w Sigma-Aldrich | Żółty | Proszek |

Oznaczenie zdolności neutralizacji wolnych rodników z użyciem DPPH

Wśród wielu metod służących do oznaczania aktywności przeciwutleniającej, zarówno czystych związków chemicznych, jak i ekstraktów roślinnych czy suplementów diety są metody oparte na prostych reakcjach chemicznych między przeciwutleniaczem a modelowymi wolnymi rodnikami. Klasycznym przykładem takiego rodnika długo żyjącego jest 2,2-difenyl-1-pikrylohydrazyl (DPPH). Najczęściej stosuje się alkoholowe roztwory DPPH. Trwałość zapewnia mu delokalizacja pojedynczego elektronu występującego pomiędzy dwoma atomami azotu. Reakcja DPPH z antyoksydantem, może przebiegać na dwa sposoby. Może to być poprzez bezpośrednie przyłączenie kationu wodoru pochodzącego od antyoksydantu (są to najczęściej związki o charakterze fenoli) oraz poprzez przeniesienie elektronu na cząsteczkę DPPH, a w kolejnym kroku dołączenie atomu wodoru [21, 22]. Doświadczenia mające na celu ustalenie zdolności antyoksydacyjnej szafranu wykonano za pomocą aparatu MiniScope MS 200 i oprogramowania komputerowego rejestrującego i ułatwiającego opracowanie widma próbek.

Analizę wykonano dla dwóch serii próbek. Jedna seria (A) dotyczyła badania próbek przypraw szafranu pobranego bezpośrednio z opakowania, druga seria (B) dotyczyła tych samych próbek, ale poddanych działaniu promieni słonecznych przez okres dwóch miesięcy (61 dni). Poddanie próbek starzeniu pod wpływem promieni UV miało na celu określenie wpływu tych promieni UV – po pierwsze na zdolności antyoksydacyjne szafranu, a ponadto na sposób przechowywania przypraw. Wszystkie dalsze czynności były identyczne dla obydwu serii.

Nitki szafranu poddane zostały homogenizacji. Następnie zarówno tak rozdrobniony materiał, jak i ten będący w postaci proszku wyjściowo, odważono w dwóch seriach: ok. 25 mg (seria A) i 5 mg (seria B). Rozpuszczalnik zastosowany to metanol, w przypadku serii A dodano 5 mL, a do naważek z serii B po 1 mL. Tak sporządzone zawiesiny zostały poddane działaniu ultradźwięków (czas 15 minut, temperatura pokojowa). Po tym czasie ekstrakty przesączono i poddawano analizie z roztworu metanolowego rodnika DPPH (o stężeniu 1,288 mM).

Metanolowe przesącze próbek szafranu zmieszano w proporcji 1:1 z metanolem w roztworze DPPH i inkubowano w temperaturze 37°C przez 90 minut. Po tym czasie rejestrowano widma na spektrometrze EPR. Wyniki były odnoszone do wzorca powstałego przez zmieszanie roztworu DPPH z metanolem w proporcji 1:1.

W celu określenia czasu zakończenia reakcji prowadzone były pomiary co kilka minut w czasie trwania reakcji. Po zakończonym eksperymencie wyniki zostały przeliczone na ilość DPPH zmiecionego przez 1 g szafranu (przyprawę).

Analiza jakościowa z zastosowaniem spektroskopii UV-Vis

Widma UV-Vis zostały wykonane przy użyciu spektrofotometru firmy Thermo Scientific Genesis 150 UV-VIS w Zakładzie Zielařstwa Karpackiej Państwowej Uczelni w Krośnie. Odważono ok. 1 g uprzednio zhomogenizowanych próbek szafranu (nitki), następnie rozpuszczono w 10 mL rozpuszczalnika, którym był etanol. Tak sporządzone zawiesiny zostały poddane działaniu ultradźwięków (czas 15 minut, temperatura pokojowa). Ekstrakty przesączono i odpowiednio rozcieńczono. Następnie rejestrowano widma UV-Vis z zastosowaniem kuwet kwarcowych.

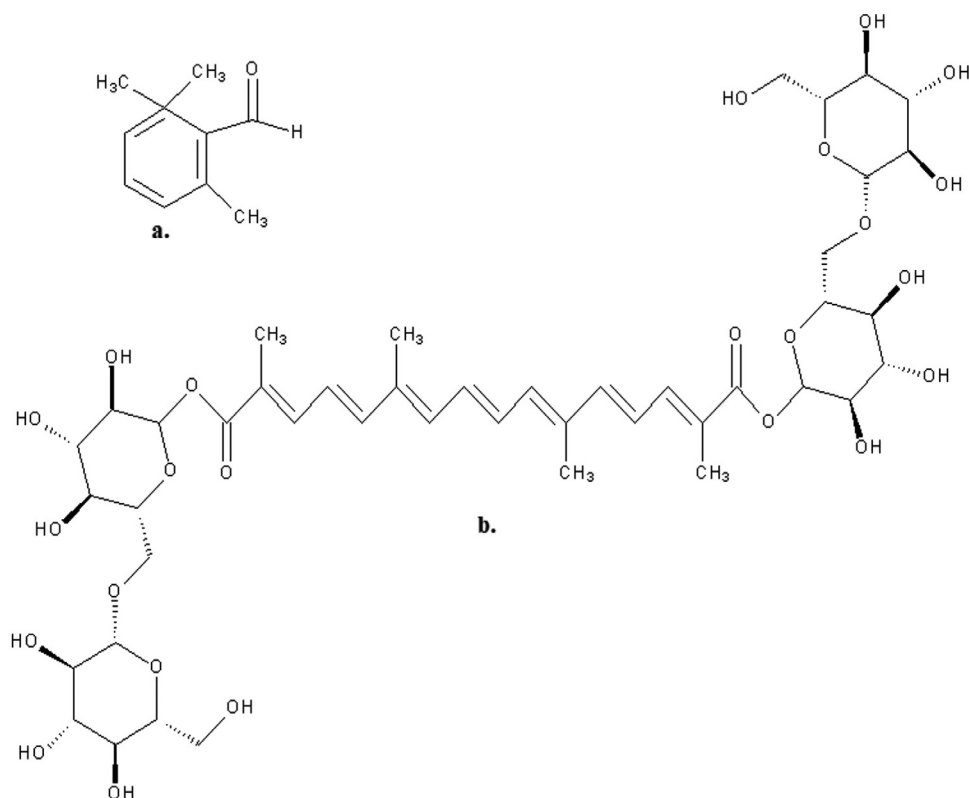
Analiza jakościowa z zastosowaniem magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR)

Widma ^1H MAS i ^{13}C CPMAS NMR zostały wykonane przy użyciu spektrometru firmy Bruker Avance DSX 400 MHz na Wydziale Farmaceutycznym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Badana substancja umieszczana była w rotorze z tlenku cyrkonu (ZrO_2) i wirowana pod kątem magicznym z szybkością 10 kHz (^{13}C) i 35 kHz (^1H). Parametry akwizycji dobrane były pod względem potrzeb eksperymentu.

Wyniki i dyskusja

Na spektroskopię składa się duża grupa metod analitycznych, umożliwiających uzyskanie szeregu informacji na temat danego związku. W zależności od tego, jaki typ postępowania zostanie zastosowany, uzyskuje się odmienne właściwości substancji. Spektroskopia zajmuje się analizą widm powstających w wyniku oddziaływania elektromagnetycznego promieniowania z materią. Jest to zjawisko selektywnej absorpcji promieniowania przez badaną próbkę. Ze względu na rodzaj użytego promieniowania wyróżniamy spektroskopię UV, VIS, IR i NMR. W spektroskopii UV-Vis mamy – podczas oddziaływania promieniowania elektromagnetycznego z materią – przeniesienie elektronów na wyższe poziomy energetyczne (UV-VIS), a przypadku NMR zmianę orientacji spinów jądrowych. Spektroskopia UV-Vis to najbardziej popularna metoda analityczna w badaniach zarówno jakościowych, jak i ilościowych. Technika pomiarów w zakresie UV/Vis jest prosta, a aparatura łatwo dostępna. W przypadku analizy układów złożonych należy wziąć pod uwagę możliwość nakładania się pasm absorpcyjnych. W analizowanym materiale trzy substancje uważa się za kluczowe. Są to safranal (Rysunek 1a), krocyna (Rysunek 1b) oraz glikozyd pikrokrocyny (z którego podczas suszenia w wyniku rozpadu powstaje safranal).

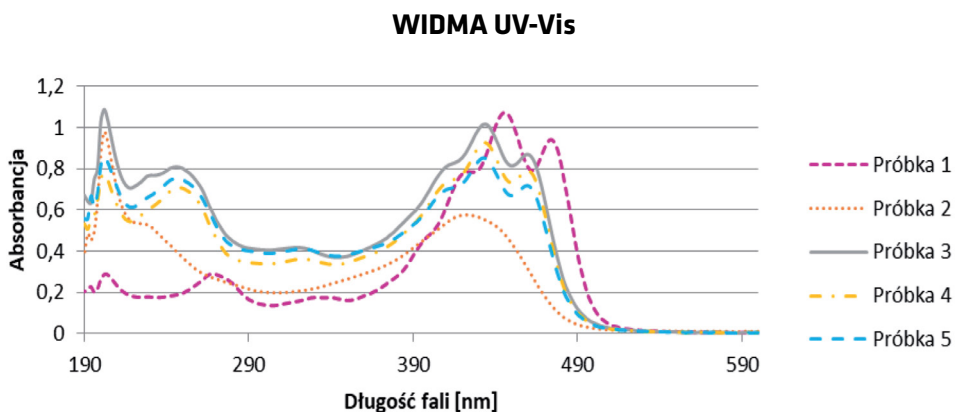
Spektroskopia UV-Vis jest od dawna wykorzystywana w analizie związków chemicznych. Obejmuje zakres nadfioletu – UV (200-380 nm) oraz promieniowanie widzialne – Vis (380-780 nm). Absorpcja promieniowania powoduje przeniesienie elektronu z orbitalu niższego na wyższy, a tym samym jego wzbudzenie.



Rysunek 1. Wzory strukturalne głównych składników szafranu: a. safranal, b. krocyn.

Figure 1. Structural formulas of the main components of saffron: a. safranal, b. crocin.

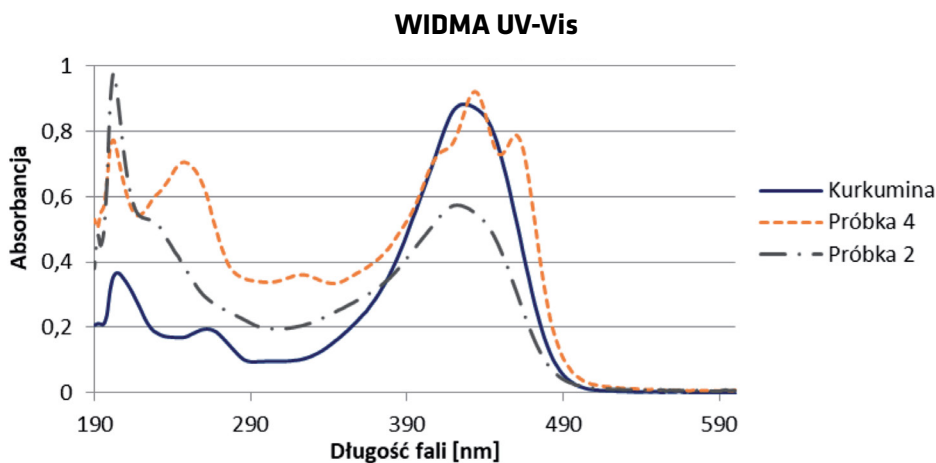
Porównanie widm analizowanych próbek 1-5 wskazuje, że szafran (*Crocus sativus* L.) (proszek i nitki) zawierają prawie te same lub bardzo podobne cząsteczki, jednakże w różnym stężeniu.



Rysunek 2. Widma UV-Vis dla analizowanych 5 próbek.

Figure 2. UV-Vis spectra for 5 analyzed samples.

Cztery z pięciu widm w swoim kształcie są jednakowe, szczególnie w zakresie 400-450 nm (Rysunek 2). W tym zakresie swoje maksimum wykazuje krocyna (szerokie pasmo przy 440 nm jest determinantem jej obecności) [23]. Natomiast próbka nr 2 (według oznaczeń jest to kurkumina) wykazuje odmienny kształt, choć maksima występują w zbliżonym zakresie (Rysunek 3).



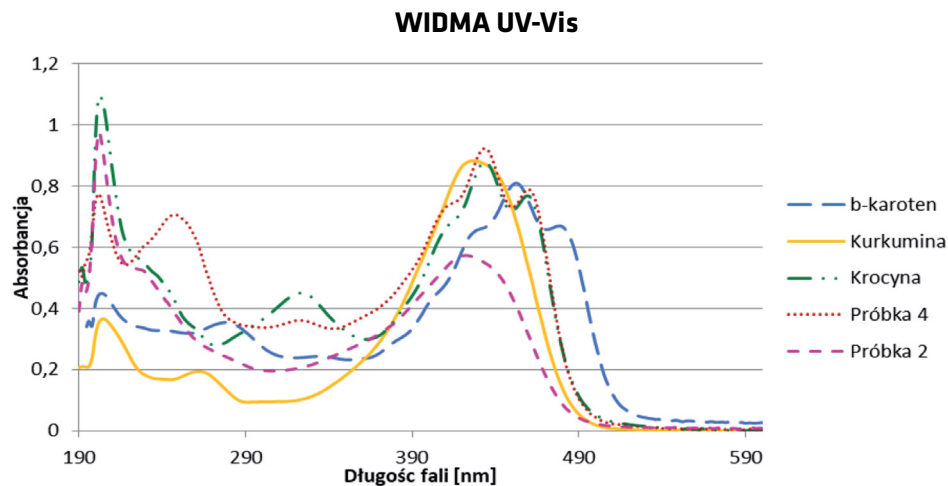
Rysunek 3. Zestaw widm UV-Vis dwóch analizowanych próbek (2 i 4) vs kurkumina.

Figure 3. Set of UV-Vis spectra of two analyzed samples (2 and 4) vs curcumin.

To, że próbkę nr 2 stanowi próbka kurkuminy potwierdza zestawienie na Rysunku 3 próbek 2 i 4 oraz dodatkowo kurkuminy.

Próbki 1, 3, 4 i 5 wykazują – oprócz maksimum przy 440 nm – również charakterystyczne maksimum absorpcji dla pikrokrocyny, wynoszące 254 nm [24] i maksimum przy 330 nm, wskazujące na obecność safranalu [25]. Intensywność tego pasma jest niewielka, stąd wniosek, że ilościowo tego związku jest najmniej.

Kształt widma przy 440 nm jest zbliżony do pasma charakterystycznego dla β -karotenu. W celu wyeliminowania tej substancji zarejestrowano widmo dla czystej substancji i z porównania widać delikatne różnice w kształcie (Rysunek 4).



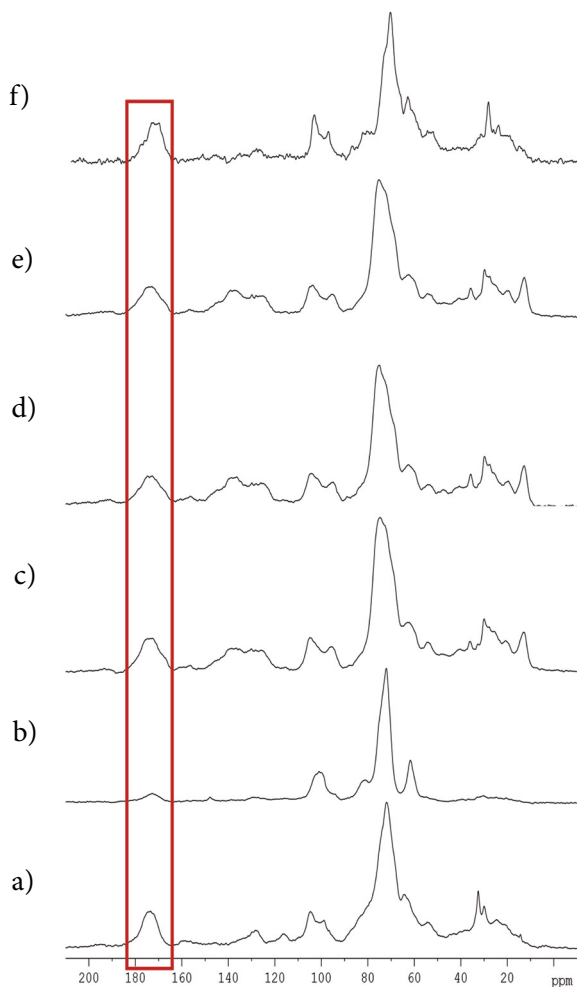
Rysunek 4. Widma UV-Vis dla trzech wzorców vs dwie próbki (nr 2 i 4).

Figure 4. UV-Vis spectra for three standards vs two samples (no. 2 and 4).

Znaczących informacji o jakościowym składzie mogą również dostarczyć zarejestrowane dla poszczególnych próbek widma NMR, zarówno ^1H MAS, jak i ^{13}C CPMAS NMR. Na ich podstawie można określić obecność poszczególnych składników mieszaniny (główne składniki), a także stwierdzić jakość materiału, czyli czy próbka przyprawy szafranu jest czysta, czy też może została zafałszowana jakąś inną substancją. Techniki stanu stałego są wykorzystywane do charakteryzowania substancji stałych: substancji aktywnych i ich postaci dawkowania (tabletek/kapsulek), a także ich wzajemnych oddziaływań. Widma ^{13}C CPMAS NMR były wykorzystywane do opisu wielu związków organicznych syntetycznych, takich jak biomolekuł wyizolowanych z roślin [26, 27, 28, 29], a także dla materiału amorficznego [30], jaki stanowią, np. przyprawy. Narzędzie to jest szczególnie przydatne, gdy mamy do czynienia z substancjami trudno rozpuszczalnymi, a także nietrwałymi w roztworze, ulegającymi rozkładowi lub polimeryzacji [31, 32]. Informacje strukturalne dotyczące, np. antybiotyków stałych, przeciwmalarycznych czy leków przeciwłękowych uzyskano na podstawie analizy widm ^{13}C CPMAS NMR. Często wykorzysty-

wanym obszarem badawczym jest polimorfizm. Polimorfy mogą wykazywać różną rozpuszczalność oraz biodostępność. NMR w stanie stałym ma zdolność do różnicowania takich związków. Technika MAS NMR idealnie nadaje się do identyfikacji substancji czynnej w tabletkach czy do badań interakcji leków z wypełniaczami. Zaletą techniki jest też jej niedestrukcyjny charakter; próbka wyjęta z rotora może być dalej wykorzystana do analizy z zastosowaniem innych technik analitycznych, np. NMR w roztworze lub chromatografii [33].

W widmach ^{13}C CPMAS NMR wszystkich analizowanych próbek istnieje wyraźny sygnał o wartości przesunięcia chemicznego $\delta = 172,63\text{-}174,84$ ppm (Rysunek 5).



Rysunek 5. Standardowe widma ^{13}C CPMAS NMR dla 6 próbek. Kolejno próbka nr 1 (a), próbka nr 2 (b), próbka nr 3 (c), próbka nr 4 (d), próbka nr 5 (e), próbka nr 6 (f).

Figure 5. Standard ^{13}C CPMAS NMR spectra for 6 samples. Sequentially, sample 1 (a), sample 2 (b), sample 3 (c), sample 4 (d), sample 5 (e), sample 6 (f).

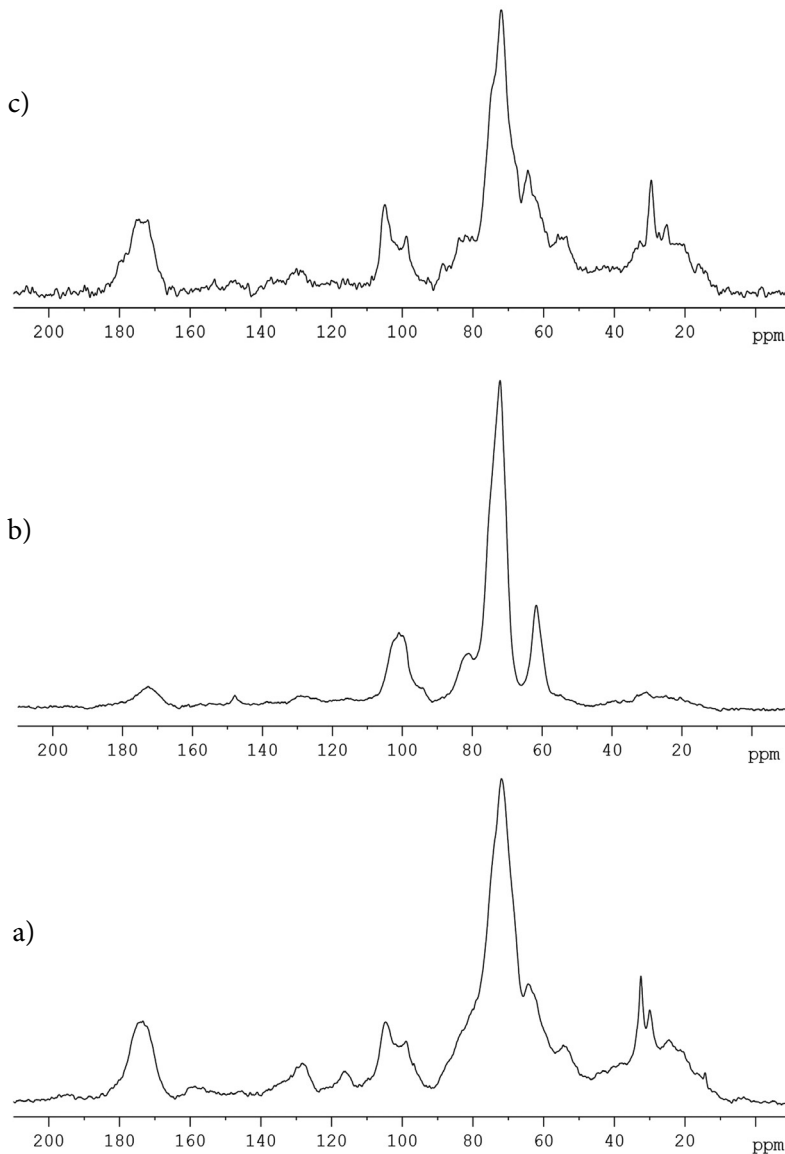
Uważa się, że głównymi składnikami szafranu są dwie substancje: safranal i krocyna (Rysunek 1). Krocyna (o wzorze sumarycznym $C_{44}H_{64}O_{24}$) to organiczny związek z grupy karotenoidów, odpowiedzialna przede wszystkim za kolor szafranu, natomiast safranal ($C_{10}H_{14}O$), odpowiedzialny za aromat, to produkt degradacji karotenoidu zeaksantyny poprzez pośrednią pikrokrocinę. Zatem interesujące było, czy można dokonać szybkiej ich identyfikacji w cieple stałym z wykorzystaniem NMR.

Ten zakres ppm jest charakterystyczny dla występowania grup C=O. W przypadku badanego materiału zarówno krocyna, jak i safranal zawierają C=O, choć w widmie roztworu safranalu sygnał dla tego węgla występuje w okolicach 190 ppm. W widmach w cieple stałym sygnał pochodzący od aldehydowej grupy safranalu jest przesunięty na skutek tworzenia się wiązania wodorowego z udziałem grupy C=O. Dla próbki 2 da się zauważyć, iż sygnał grupy C=O ma mniejszą intensywność (Rysunek 5b) niż sygnał ten w widmach pozostałych próbek. Widmo ^{13}C CPMAS NMR dla próbki 2 jest wyróżniające się na tle innych zarejestrowanych widm. Widma próbek 3-5 są niemalże identyczne co do ilości sygnałów i ich kształtu. Grupa sygnałów w okolicach 125-140 ppm charakterystyczna jest dla węgli czwartorzędowych, które obecne są zarówno w cząsteczce safranalu, jak i krocyny. W widmie próbek 2 i 6 (Rysunek 5b i f) w tym zakresie nie widać żadnych wyraźnych sygnałów, natomiast w widmie próbki 1 mamy nieco inny kształt tych sygnałów i są przesunięte, mają niższą wartość przesunięcia chemicznego (Rysunek 6). Może to być wynik większej wilgotności próbek; w takim środowisku mogły zachodzić reakcje przemiany krocyny w pikrokrocinę lub nawet częściowy jej rozkład, w wyniku czego grupy węgli z wiązaniem podwójnym występują w mniejszej ilości lub są inaczej połączone.

Ważnym interpretacyjnie zakresem jest zakres odpowiadający cukrom i występuje on od 105 do 54 ppm. We wszystkich widmach wygląda podobnie, jednakże w widmach próbek 2 i 6 wyróżniają się intensywnymi sygnałami (Rysunek 6.) Te niewielkie różnice mogą być spowodowane występowaniem innych cukrów albo innymi ich połączeniami. Widmo krocyny w zakresie typowym dla cukrów jest podobne do widma próbek o numerach 1, 3, 4 i 5, ale nie można wykluczyć obecności innego związku zawierającego cukry, np. pikrokrocyny. Charakterystyczne przesunięcia chemiczne świadczą o tym, że krocyna jest obecna w badanych próbkach (oprócz nr 2 i 6).

W widmie węglowym charakterystyczny jest jeszcze trzeci zakres, zakres alifatyczny. W widmach szafranu występują sygnały w zakresie 36-12 ppm, które odpowiadają grupom CH_3 . Grupy te są obecne zarówno w cząsteczce safranalu, jak i krocyny. Przesunięcia chemiczne są podobne dla próbek 3-5, różnią się dla próbek 1 i 6, a próbka 2 nie posiada w tym zakresie żadnych sygnałów (Rysunek 6). Interpretując widmo, zauważamy, że w próbkach 1 i 6 mogą istnieć inne związki, a krocyna jest prawdopodobnie w mniejszej ilości. Przemawia za tym fakt, iż w widmie

krocyny najbardziej wyraźny jest sygnał przy 13,3 ppm, natomiast w próbce 1 i 6 jest on niski. Grupa intensywnych sygnałów powstała prawdopodobnie z nałożenia widm krocyny i safranalu, ponieważ safranalu w tym zakresie posiada bardzo silne rezonanse. Próbka 6 to papryka w proszku, zawiera prawdopodobnie pochodną krocyny lub inny karotenoid.

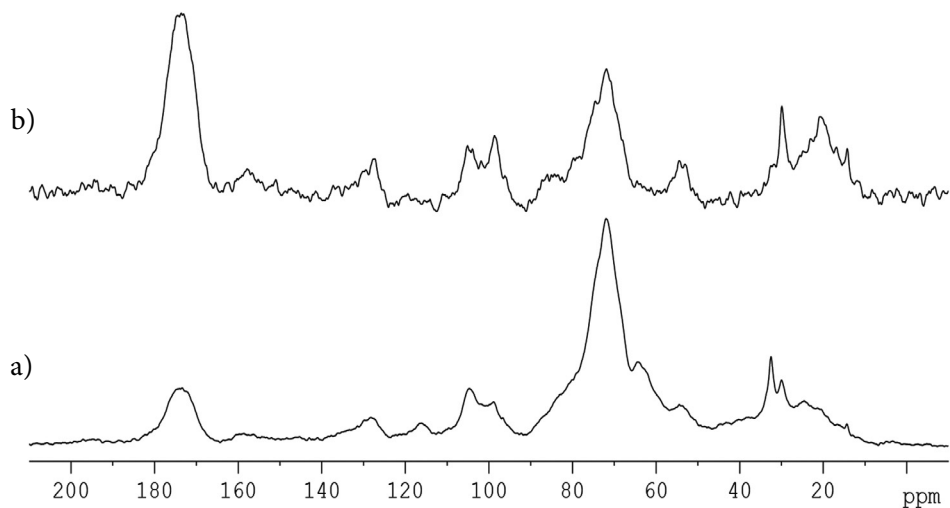


Rysunek 6. ^{13}C CPMAS NMR próbki nr 1 (a), próbki nr 2 (b) i próbki nr 6 (c).

Figure 6. ^{13}C CPMAS NMR of sample 1 (a), sample 2 (b) and sample 6 (c).

Podsumowując, metoda NMR pozwala na ustalenie, czy w danej próbce znajduje się szafran, czy inna substancja. Kurkumina oraz papryka mają zupełnie inne widma, brak charakterystycznych dla szafranu sygnałów. Na podstawie porównania widm możemy określić, czy próbka zawiera szafran. Mając do porównania przesunięcia chemiczne czystej krocyny oraz pikrokrocyny [34, 35] można określić, czy w próbce dominuje krocyna, czy już zdążyła rozłożyć się z utworzeniem pikrokrocyny. Można więc stwierdzić, że jakość szafranu jest możliwa do ustalenia poprzez analizę widm NMR. Jak wiadomo szafran o wysokiej jakości powinien być bogaty w krocynę.

Zarejestrowanie widma z „dipolar dephasing” (DD) pozwoliło na redukcję sygnałów pochodzących od węgli cukrowych ($-CH$), a wzmocnienie sygnałów pochodzących od węgli czwartorzędowych w zakresie aromatycznym widma. W widmie DD próbki 1 widać, że sygnały cukrowe są niższe, a w zakresie 140-125 ppm pojawiają się nowe sygnały, oprócz tych przy 138,5 i 130,1 ppm mamy również rezonanse przy 128,3 i 124,9 ppm (Rysunek 7).

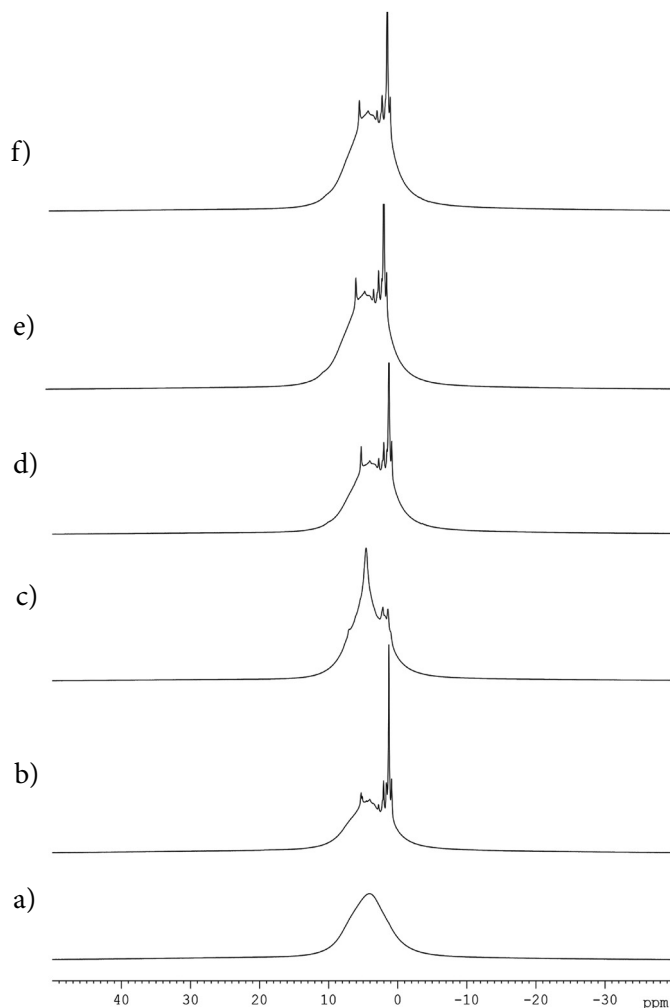


Rysunek 7. ^{13}C CPMAS NMR próbki nr 1 standard (a) oraz dipolar dephasing (b)

Figure 7. ^{13}C CPMAS NMR sample no.1 standard (a) and with dipolar dephasing (b)

Widma 1H MAS NMR nie dają informacji strukturalnych, ponieważ wirowanie próbki z szybkością 33 kHz nie uśrednia oddziaływań dipolowych. Widma 1H MAS NMR wszystkich analizowanych badanych próbek przedstawia Rysunek 5. Nawet widmo 1H MAS NMR dla czystego związku w fazie stałej, np. krocyny (Rysunek 8a), daje szeroki kontur w całym zakresie spektralnym dla protonu (0-10 ppm) z maksimum przy 4,5 ppm.

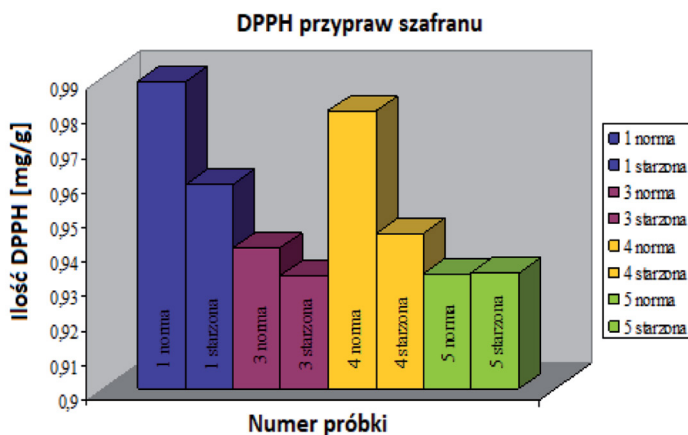
Widma poszczególnych próbek analizowanego materiału, który stanowi mieszanina związków w fazie stałej, są szczególnie trudne w interpretacji. Jednak mobilne grupy protonów dają charakterystyczne wąskie sygnały, które wyróżniają się na tle szerokiego konturu. Tego typu sygnały dają lipidy oraz alifatyczne łańcuchy grup metylenowych ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$). Profil takich związków widoczny w widmie jest charakterystyczny dla próbki/materiału (Rysunek 5) jak „odcisk palca” i można stwierdzić, czy dana próbka zawiera mobilne strukturalnie składniki, typowe dla szafranu, czy mamy do czynienia z autentykiem lub też zafałszowaną próbką.



Rysunek 8. ^1H MAS NMR dla 6 próbek: krocyny (a), próbka nr 1 (b), próbka nr 2 (c), próbka nr 3 (d), próbka nr 4 (e) oraz próbka nr 5 (f).

Figure 8. ^1H MAS NMR for 6 samples: crocin (a), sample 1 (b), sample 2 (c), sample 3 (d), sample 4 (e) and sample 5 (f).

Przeprowadzona analiza właściwości antyoksydacyjnych próbek „świeżych” i po starzeniu promieniami UV, czyli dwóch serii (A i B) wykazała zróżnicowanie analizowanego materiału (Rysunek 9). Analizy można dokonać przy użyciu spektroskopii UV-VIS (pomiar przy długości fali 515 nm) bądź elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR), która jest metodą często wykorzystywaną do badania aktywności antyoksydacyjnej związków chemicznych z udziałem rodników zarówno materiału w stanie stałym, ciekłym, ale również gazowym. Spektroskopia EPR wykrywa nawet stężenia rodników rzędu 10^{-9} [36].



Rysunek 9. Porównanie ilości wymiecionych wolnych rodników przez poszczególne próbki.

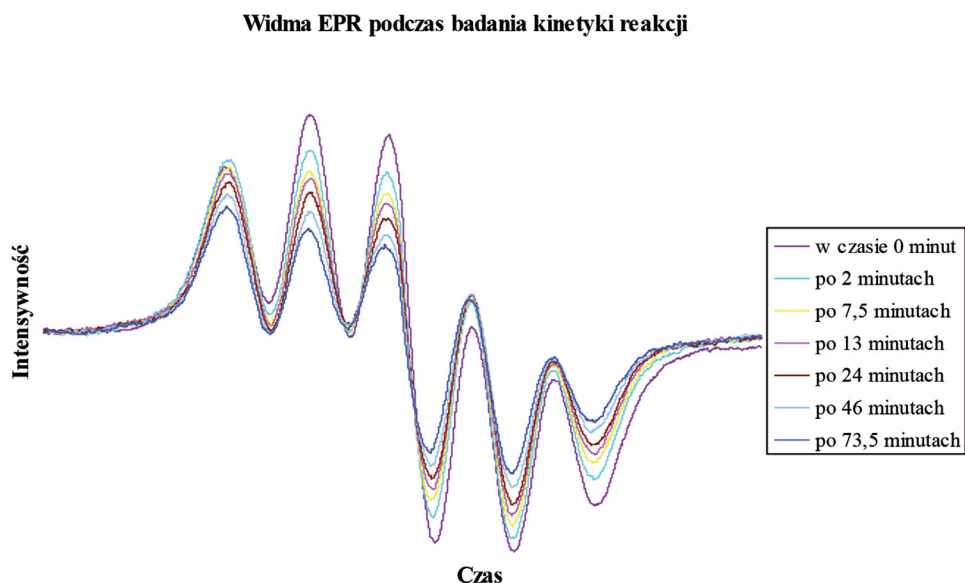
Figure 9. Comparison of the amount of free radicals swept away by individual samples.

Na rysunku przedstawiono wyniki ilości mg DPPH zneutralizowane przez 1g próbki szafranu (zgodnie z deklaracją producenta/sprzedającego) po zakupie materiału oraz po okresie 61 dni nasłonecznienia. Materiał można podzielić na dwie grupy o zbliżonych właściwościach antyoksydacyjnych. Próbki 1 i 4 wykazywały najwyższe właściwości antyoksydacyjne, natomiast wyniki próbek 3 i 5 były o połowę niższe. W przypadku próbek 1 i 5 zróżnicowanie może wynikać z pochodzenia przyprawy, natomiast w przypadku zaobserwowanych różnic próbek 4 i 5 jest to dość zaskakujące. Próbki pochodzą od jednego producenta, różnią się numerem serii, a zatem różni je czas wytworzenia (inny czas zapakowania). Być może torebki przypraw z innym numerem seryjnym pochodziły z różnych źródeł lub były w inny sposób suszone.

Dla każdej przebadanej, starzonej próbki zdolność antyoksydacyjna wyraźnie zmalała. Nie była to jednak wartość identyczna. Próbki 1 i 4 starzały się szybciej niż próbki 3 i 5. Nie mogła na to wpływać postać przyprawy (nitka lub proszek), gdyż wszystkie 4 przebadane próbki występowały wyjściowo w formie nitek. Czynnikiem

wpływającym na różne tempo starzenia najprawdopodobniej jest procent zawartości wody w badanych materiałach. Interesujące okazało się, że nawet w próbkach pochodzących od tego samego producenta (próbki 4 i 5) zdolność antyoksydacyjna starzonej próbki nie była taka sama. próbka 5 praktycznie nie wykazała zmian we właściwościach antyoksydacyjnych po okresie starzenia w porównaniu do próbki wyjściowej.

Na Rysunku 10 przedstawiono przykładowe widma paramagnetycznego rezonansu elektronowego (EPR) zarejestrowane dla próbki szafranu 3 (według Tabeli 1). Są to widma rejestrowane w czasie po zmieszaniu ekstraktu próbki z metanolem w roztworze DPPH.



Rysunek 10. Wybrane widma próbki 3 szafranu zarejestrowane metodą EPR podczas badania kinetyki reakcji z DPPH.

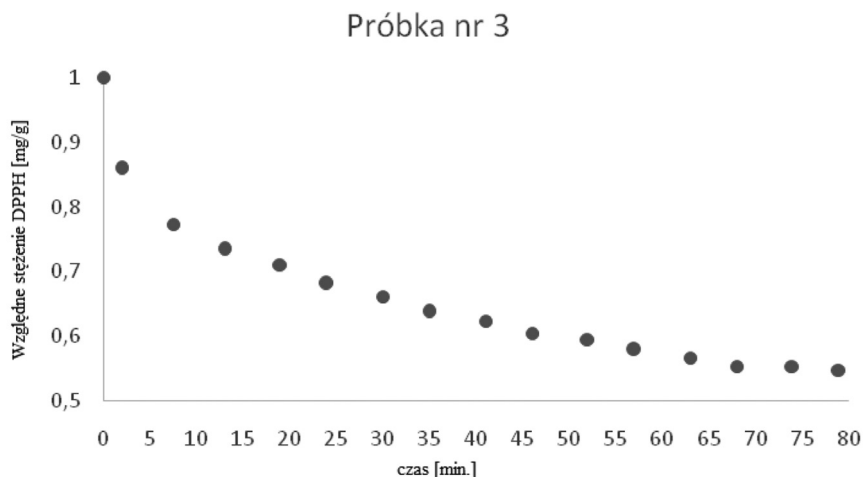
Figure 10. Selected spectra of sample 3 of saffron recorded using the EPR method during the kinetics of the reaction with DPPH.

Na podstawie przeprowadzonych serii pomiarów, czyli badania kinetyki reakcji neutralizacji DPPH, wyznaczone zostały względne stężenia DPPH, które zostały przedstawione w odniesieniu do wartości w czasie $t=0$ przyrównanej do 1 (Tabela 2).

Tabela 2. Kinetyka reakcji neutralizacji rodnika DPPH przez próbkę przyprawy szafranu (nr 3).
Table 2. Kinetics of the DPPH radical neutralization reaction by a sample of saffron spice (no. 3).

| Czas [min] | Względne stężenie DPPH [mg/g] | Czas [min] | Względne stężenie DPPH [mg/g] |
|------------|-------------------------------|------------|-------------------------------|
| 0 | 1 | 41 | 0,623 |
| 2 | 0,859 | 46 | 0,605 |
| 7,5 | 0,773 | 52 | 0,595 |
| 13 | 0,734 | 57 | 0,579 |
| 19 | 0,710 | 63 | 0,567 |
| 24 | 0,681 | 68 | 0,554 |
| 30 | 0,661 | 74 | 0,554 |
| 35 | 0,638 | 79 | 0,548 |

Dzięki zestawieniu widm rejestrowanych w różnym czasie mamy możliwość zaobserwować, w jaki sposób zmienia się ilość rodnika DPPH w próbce. Pozwala to określić, jaka część DPPH (względne stężenie) przereagowała z antyoksydantami zawartymi w ekstraktach szafranu. Te wartości posłużyły do zbadania zależności stężenia DPPH od czasu reakcji (Rysunek 11). Czas reakcji neutralizacji pomiędzy rodnikiem a badanymi próbkami nie przekracza 75 minut. Szybkość reakcji widocznie spada w ciągu pierwszych 25 minut, następnie postęp reakcji zachodzi łagodniej, aż po ok. godzinie osiągnane jest *plateau*.



Rysunek 11. Przebieg kinetyki reakcji neutralizacji DPPH przez związki zawarte w próbce nr 3.

Figure 11. The course of the kinetics of the DPPH neutralization reaction by the compounds in sample 3.

Badania prowadzone metodą EPR potwierdziły, że związki pochodzące z szafranu wykazują zdolność antyoksydacyjną.

Wnioski

W wielu przypadkach do analizy jakościowej jest wskazane zastosowanie kilku metod analitycznych w celu uzyskania pełnego obrazu. Często też zastosowanie NMR w fazie stałej w analizie substancji praktycznie nierozpuszczalnych albo, które ulegają rozkładowi w roztworze lub tworzą w nim zawiesiny, jest wręcz niezbędne. Widma ciał stałych rejestrowane analogicznymi jak w roztworze technikami znacznie się od nich różnią. Charakteryzują się szerokimi, niesymetrycznymi sygnałami, pozbawionymi zazwyczaj struktury subtelnej, co uniemożliwia analizę strukturalną związków. Otrzymywane w widmie szerokie linie są wynikiem kilku czynników. Najważniejsze z nich to silne dipolowe oddziaływania między jądrami, a także efekt anizotropii przesunięć chemicznych [37, 38]. W widmach rejestrowanych w roztworze szybkie ruchy molekuł uśredniają silne oddziaływania dipoli magnetycznych z zewnętrznym polem magnetycznym, natomiast w przypadku ciała stałego, ruchy te są zahamowane.

Widma ^1H MAS NMR zarejestrowane dla próbek w postaci proszku pozwalają odróżnić związki z mobilnymi łańcuchami alifatycznymi, a analiza widm ^{13}C CPMAS NMR umożliwia zarówno odróżnienie, próbek jak i identyfikację głównych składników (pierścienie aromatyczne, cukry czy grupy karbonyłowe). Analiza z zastosowaniem NMR w ciele stałym potwierdza pochodzenie próbki i w nieinwazyjny sposób potwierdza autentyczność produktu (zgodność z deklaracją producenta). Spektroskopia NMR w stanie stałym jest ważną techniką w wielu obszarach, między innymi w dziedzinie nauk farmaceutycznych, kosmetycznych czy właśnie spożywczych.

Wykorzystanie charakterystycznych pasm absorpcji dla głównych składników szafranu może stanowić podstawę do określenia jakości badanego materiału roślinnego. Jednakże w obecności innych karotenoidów (maksimum 450 nm) może nie być w 100% miarodajny.

Pokazano także, że szafran posiada zdolności antyoksydacyjne. Związki zawarte w przyprawie neutralizują rodnik DPPH, co widać w widmach EPR monitorujących spadek stężenia DPPH względem wzorca. Reakcja z rodnikiem DPPH prowadzona w temperaturze 32°C po upływie 75 minut jest prawie zakończona, co pokazują pomiary kinetyczne. Zdolności wymiatania rodnika są różne dla każdej badanej próbki. Postępowanie przed zapakowaniem przyprawy oraz sposób przechowywania może mieć wpływ na jej skład i właściwości antyoksydacyjne.

Dla próbek szafranu zbadanych pod względem zdolności antyoksydacyjnej widoczne są wyraźnie różnice. Nawet próbki 4 i 5 różnią się znacząco, mimo, że pochodzą od tego samego producenta. Przekonuje to, że w przypadku tak wrażliwego surowca jak szafran konieczne są badania jego jakości, a także sprawdzanie jego autentyczności.

Próbki wystawione na działanie promieni słonecznych przez okres dwóch miesięcy wykazują znacznie słabsze zdolności antyoksydacyjne w stosunku do tych przechowywanych prawidłowo. Niektóre jednak nie zmieniły w większym stopniu tych właściwości, na przykład próbka 5. Największe różnice obserwowano dla próbek 1 i 4, czyli dla surowca w postaci nitek.

Literatura

- [1] Łojewski M., Muszyńska B., Opoka W., Rojowski J., Sułkowska-Ziaja K., Surowce naturalne mające znaczenie w profilaktyce i wspomagające leczenie depresji, *Psychiatria Polska*, 2015, 49(3), s. 435-453.
- [2] Sztaba D., Znaczenie roślin biblijnych w farmacji, manuskrypt pracy magisterskiej, Katedra Farmakognozji Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum, Kraków, 2007, s. 71-80, 153-156, 311-320, 354-360, 385-396.
- [3] Schmidt M., Betti G., Hensel A., Saffron in phytotherapy: pharmacology and clinical uses, *Wien Med Wochenschr*, 2007, 157(13-14), s. 315-319.
- [4] Harper D., Szafran, *Słownik etymologii online*, 2016.
- [5] Rocchi R., Mascini M., Sergi M., Compagnone D., Mastrocola D., Pittia P., Crocins pattern in saffron detected by UHPLC-MS/MS as marker of quality, process and traceability, *Food Chemistry*, 2018, 264, s. 241-249.
- [6] Koocheki A., Milani E., Saffron adulteration, *Saffron*, 2020, s. 321-334.
- [7] Tahir ul Gani M., Khurshid Wani A., Singh J., Shukla S., Therapeutic application and toxicity associated with *Crocus sativus* (saffron) and its phytochemicals, *Pharmacological Research – Modern Chinese Medicine*, 2022, 4, s. 100136-100147.
- [8] Ulbricht C., Seamon E., Windsor R.C., Armbruster N., Dawn Costa J.K., Giese N., Gruenwald J., Iovin R., Isaac R., Grimes Serrano J., Tanguay-Colucci S., Weissner W., Yoon H., Zhang J., An evidence-based systematic review of cinnamon (*Cinnamomum* spp.) by the Natural Standard Research Collaboration, *Journal of Dietary Supplements*, 2011, 8(4), s. 378-454.
- [9] Sharma M., Thakur R., Sharma M., Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological properties of *Crocus sativus* (saffron), *Journal of Indian Botanical Society*, 2020, 99, s. 115-126.
- [10] Mohajeri S.A., Sepahi S., Azam A.G., Antidepressant and antianxiety properties of saffron, *Saffron*, 2020, s. 431-444.
- [11] Csupor D., Tóth B., Mottaghpisheh J., Zangara A., Al-Dujaili Emad A.S., The psychopharmacology of saffron, a plant with putative antidepressant and neuroprotective properties, [w:] *Nutraceuticals in Brain Health and Beyond*, red. Dilip Ghosh, Academic Press, London, 2021, s. 213-226.

- [12] Gohari A.R., Saeidnia S., Mahmoodabadi M.K., An overview on saffron, phytochemicals, and medicinal properties, *Pharmacognosy Reviews*, 2013, 7, s. 61-66.
- [13] Escribano J., Alonso G.L., Fernandez J.A., Crocin, safranal and picrocrocin from saffron (*Crocus sativus*) inhibit the growth of human cancer cells in vitro, *Cancer Letters*, 1996, 100(1-2), s. 23-30.
- [14] Hosseinzadeh H., Nassiri-Asl M., Avicenna's (Ibn Sina) the Canon of Medicine and Saffron (*Crocus sativus*): A Review, *Phytotherapy Research*, 2013, 4, s. 475-483.
- [15] Abdullaev I., Espinosa-Aguirre J.J., Biomedical properties of saffron and its potential use in cancer therapy and chemoprevention trials, *Cancer Detection and Prevention*, 2008, 28(6), s. 426-432.
- [16] Jazani A.M., Karimi A., Azgomi R.N.D., The potential role of saffron (*Crocus Sativus* L.) and its components in oxidative stress in diabetes mellitus: A systematic review., *Clinical Nutrition ESPEN*, 2022, 48, s. 148-157.
- [17] Melnyk J.P., Wang S., Marcone M.F., Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron, *Food Research International*, 2010, 43(8), s. 1981-1989.
- [18] Karimi Gh., Hosseinzadeh H., Khaleghpanah P., Study of antidepressant effect of aqueous and ethanolic extract of *Crocus sativus* in mice, *IJBMS*, 2001, 4, s. 11-15.
- [19] Noorbala A.A., Akhondzadeh S., Tahmacebi-Pour N., Jamshidi A.H., Hydro-alcoholic extract of *Crocus sativus* L. versus fluoxetine in the treatment of mild to moderate depression: a double-blind, randomized pilot trial, *Journal of Ethnopharmacology*, 2005, 97(2), s. 281-284.
- [20] Akhondzadeh S., Fallah-Pour H., Afkham K., Jamshidi A.H., Khalighi-Cigaroudi F.J., Comparison of *Crocus sativus* L. and Imipramine in the treatment of mild to moderate depression: a pilot double blind randomised trial, *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2007, 31(2), s. 439-442.
- [21] Cybul M., Nowak R., Przegląd metod stosowanych w analizie właściwości antyoksydacyjnych wyciągów roślinnych, *Herba Polonica*, 2008, 54(1), s. 68-78.
- [22] Wilczyńska A., Metody oznaczania aktywności antyoksydacyjnej miodów pszczołach, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2009, XLII, 3, s. 870-874.
- [23] ISO/TS 3632-1/2. Technical Specification. *Crocus sativus* L. Saffron. Ed. ISO, Geneva, Switzerland, 2003.
- [24] Alonso G.L., Carmona M., Zalacain A., Gonzalez L.V., Gonzalez M.L., Sarasa-Delgado F., Study of saffron adulteration by increasing its coloring strength, [w:] *Proceedings of 1st International Congress PFT Pigments in Food Technology*, 1999, 24-26, s. 341-346.
- [25] Roedel W., Petrzika M., Analysis of the volatile components of saffron, *Journal of High Resolution Chromatography*, 1991, 14, s. 771-774.
- [26] Wawer I., Witkowski S., Analysis of Solid State ¹³C NMR Spectra of Biologically Active Compounds, *Current Organic Chemistry*, 2001, 5(10), s. 987-999.
- [27] Wawer I., Nartowska J., Cichowlas A., ¹³C cross-polarization MAS NMR study of some steroidal sapogenins. *Solid State NMR*, 2011, 20, s. 35-47.
- [28] Ahmedova A., Paradowska K., Wawer I., ¹H, ¹³C MAS NMR and DFT GIAO study of quercetin and its complex with Al(III) in solid state, *Journal Inorganic Biochemistry*, 2012, 110, s. 27-35.

- [29] Morzycki J.W., Wawer I., Gryszkiewicz A., Maj J., Siergieńczyk L., Zaworska A., ¹³C-NMR study of 4-azasteroids in solution and solid state, *Steroids*, 2002, 67(7), s. 621-626.
- [30] Wawer I., Wolniak M., Paradowska K., Solid state NMR study of dietary fiber powders from aronia, bilberry, black currant, and apple, *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, 2006, 30(2), s. 106-113.
- [31] Paradowska K., Wawer I., Solid-state NMR in the analysis of drugs and naturally occurring materials, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2014, 93, s. 27-42.
- [32] Paradowska K., Wolniak M., Pisklak M., Gliński J.A., Davey M.D., Wawer I., (13)C, (15)N CPMAS NMR and GIAO DFT calculations of stereoisomeric oxindole alkaloids from Cat's Claw (*Uncaria tomentosa*), *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, 2008, 34(4), s. 202-209.
- [33] Paradowska K., Wolniak M., Fijałek Z., Wawer I., Identification, and analysis of drugs in the solid state by ¹³C CPMAS NMR: suxamethonium chloride and hydrocortisone (Corhydron), *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 2008, 65(3), s. 295-301.
- [34] Sobolev A.P., Carradori S., Capitani D., Silvia Vista S., Trella A., Marini F., Mannina L., Saffron Samples of Different Origin: An NMR Study of Microwave-Assisted Extracts, *Foods*, 2014, 3, s. 403-419.
- [35] Cusano E., Consonni R., Petrakis E.A., Astraka K., Cagliani L.R., Polissiou M.G., Integrated analytical methodology to investigate bioactive compounds in *Crocus sativus* L. flowers, *Phytochemical Analysis*, 2018, 29(5), s. 476-486.
- [36] Zasacka M., Kamiński A., Stachowicz W., Biomedyczne zastosowanie techniki Elektronowego Rezonansu Paramagnetycznego i radiacyjnie indukowanych defektów w hydroksyapatycie, *Czasopismo Stomatologiczne*, 2008, 61(10), s. 711-719.
- [37] Wawer I., Pisklak M., Paradowska K., NMR ciała stałego – zastosowanie w farmacji i diagnostyce medycznej, *Wiadomości Chemiczne*, 2015, 59, s. 1-2.
- [38] Bryce D.L., Bernard G.M., Gee M., Lumsden M.D., Eichele K., Wasylshen R.E., Practical aspects of modern routine solid-state multinuclear magnetic resonance spectroscopy: one-dimensional experiments, *Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy*, 2001, 46, s. 46-81.

Do cytowania:

Stolarek K., Uram-Dudek A., Wawer I., Paradowska K., Ocena jakości szafranu (*Crocus sativus* L.) z wykorzystaniem metod spektroskopowych, *Herbalism*, 2022 1(8), s. 6-26.

Ocena możliwości zastosowania magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) w jakościowej analizie wybranych konserwantów obecnych w kosmetykach

The evaluation of the possibility of using nuclear magnetic resonance (NMR) in qualitative analysis of selected preservatives present in cosmetics

Izabela Głaszczka¹, Katarzyna Paradowska²

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

² Zakład Chemii Organicznej i Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny, WUM, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa, adres e-mail: katarzyna.paradowska@wum.edu.pl

Słowa kluczowe: ¹H NMR, konserwanty, parabeny

Key words: ¹H NMR, preservatives, parabens

Streszczenie

Substancje konserwujące są nieodłącznym składnikiem większości produktów kosmetycznych obecnych na rynku. Ich obecność zapewnia trwałość produktu oraz odpowiednie właściwości i bezpieczeństwo stosowania. Stężenie konserwantów jest ściśle określone i regulowane normami prawnymi. Celem niniejszej pracy była jakościowa analiza wybranych związków o właściwościach konserwujących: parabenów, 2-fenoksyetanolu i alkoholu benzylowego w próbkach kosmetycznych z wykorzystaniem metody ¹H NMR, czyli protonowego magnetycznego rezonansu jądrowego i ocena przydatności tej metody w wymienionym celu. Analizie poddano dziewięć produktów kosmetycznych, do których należały toniki, płyny micelarne i szampony do włosów. Badania wykazały, że widma ¹H NMR są doskonałym narzędziem do stwierdzenia obecności substancji konserwujących w produktach kosmetycznych. Umożliwiają szybką weryfikację kosmetyków pod względem zawartości badanych substancji.

Summary

Preservatives are an inherent component of most cosmetic products on the market. Their presence ensures the durability of the product as well as appropriate properties and safety of use. The concentration of preservatives is strictly defined

and regulated by legal standards. The aim of this study was a qualitative analysis of selected preservatives: parabens, 2-phenoxyethanol and benzyl alcohol in cosmetic samples using the ^1H NMR method, i.e. nuclear magnetic resonance, and evaluation of the suitability of this method for the above-mentioned purpose. Nine cosmetic products were analyzed, including toners, micellar waters and hair shampoos. Research has shown that ^1H NMR spectra are an excellent tool for identifying the presence of preservatives in cosmetic products. They enable quick verification of cosmetics in terms of the content of preservatives.

Wstęp

Ważnym i nieodłącznym elementem naszej codzienności we wszystkich grupach wiekowych są różnego rodzaju kosmetyki. Głównym ich zadaniem jest zapewnienie higieny, poprawa kondycji skóry w różnych etapach życia oraz przeciwdziałanie następstwom starzenia. Kosmetyki obecne na rynku kosmetycznym posiadają różne daty ważności – w przypadku niektórych są one stosunkowo długie. Biorąc pod uwagę fakt, iż produkty takie, szczególnie jeśli zawierają w swoim składzie wodę, są bardzo narażone na działanie drobnoustrojów, zastosowanie w ich produkcji konserwantów jest nieuniknione i wskazane.

Obecnie na rynku kosmetycznym wśród konsumentów dominuje zainteresowanie produktami naturalnymi, ekologicznymi czy roślinnymi, również co do konserwantów. Z tego względu wielu producentów na etykietach swoich kosmetyków umieszcza informacje o braku tych związków w składzie. Z uwagi na fakt, że produkty takie muszą być zabezpieczone przed szkodliwym działaniem, powinny być należycie chronione. W związku z tym za hasłem „bez konserwantów” kryje się stosowanie substancji, które nie widnieją na liście substancji konserwujących używanych w kosmetykach. Często związki te, poza działaniem przedłużającym trwałość, mają dodatkowe właściwości, jak np. działanie przeciwdrobnoustrojowe.

Zła sława konserwantów, szczególnie z grupy parabenów nie ma ugruntowanych podstaw, a mimo to na rynku kosmetycznym odchodzi się od tego rodzaju substancji jako składników kosmetyku. Nie ma jednak możliwości zaprzestania korzystania ze środków konserwujących. Znajdują się one nie tylko w kosmetykach, ale też w produktach żywnościowych czy leczniczych. Ich obecność stanowi integralną część produktu, który ma zachować swoje właściwości chemiczne i fizyczne przez długi czas oraz ma być bezpieczny do stosowania przez konsumentów.

Stężenie konserwantów jest ściśle uregulowane normami prawnymi i nie może zostać przekroczone. Wpływ tych związków na zdrowie człowieka w dalszym ciągu stanowi temat wielu badań naukowych różnych produktów, w tym również produktów kosmetycznych.

Definicja kosmetyku określona jest w sposób jednoznaczny w artykule 2 Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1223/2009 z 30 listopada 2009 r. dotyczącym produktów kosmetycznych [1]. W zależności od przeznaczenia wyróżniamy kosmetyki do skóry, włosów, paznokci i twarzy. Inny podział dotyczy grupy docelowej – znane są preparaty dla kobiet, mężczyzn, dzieci, nastolatków i dla osób starszych. Kolejny czynnik klasyfikacji to funkcje przez nie pełnione, tj. produkty czyszczące, pielęgnujące, ochronne, zapachowe oraz kosmetyki zmieniające wygląd.

Obserwujemy duże zainteresowanie kosmetykami pielęgnacyjno-ochronnymi. Pomagają one zachować dobry stan skóry zdrowej, chronić przed niekorzystnym działaniem czynników zewnętrznych, a także przywracać jej prawidłową strukturę [2]. Część z nich może wykazywać charakter leczniczy.

Obok klasycznych kosmetyków wyróżniamy produkty należące do kategorii, takich jak: dermokosmetyki czy kosmetyki naturalne. Dermokosmetyki to produkty, które mogą wykazywać działanie przeciwzapalne, przeciwobrzękowe czy być stosowane jako środki gojące oraz zmniejszające widoczność blizn [3]. Dermokosmetyki w znacznym stopniu mogą wspomóc proces leczenia, lecz nie zastępują produktów leczniczych. Stosowane są w schorzeniach, takich jak: trądzik, łupież czy atopowe zapalenie skóry. Kosmetyki naturalne to takie, w których dodatek substancji syntetycznych nie przekracza 5%. Jako konserwanty stosowane są w nich: alkohol benzyłowy, kwas salicyłowy, sorbowy czy benzoesowy, tj. związki syntetyczne, ale identyczne z naturalnymi. Z kolei za zapach w kosmetykach naturalnych odpowiadać mogą olejki eteryczne występujące naturalnie [4]. W fitokosmetykach za aktywność odpowiadają substancje zawarte w ekstraktach i wyciągach z roślin, olejkach zemulgowanych lub czystych oraz eterycznych [5].

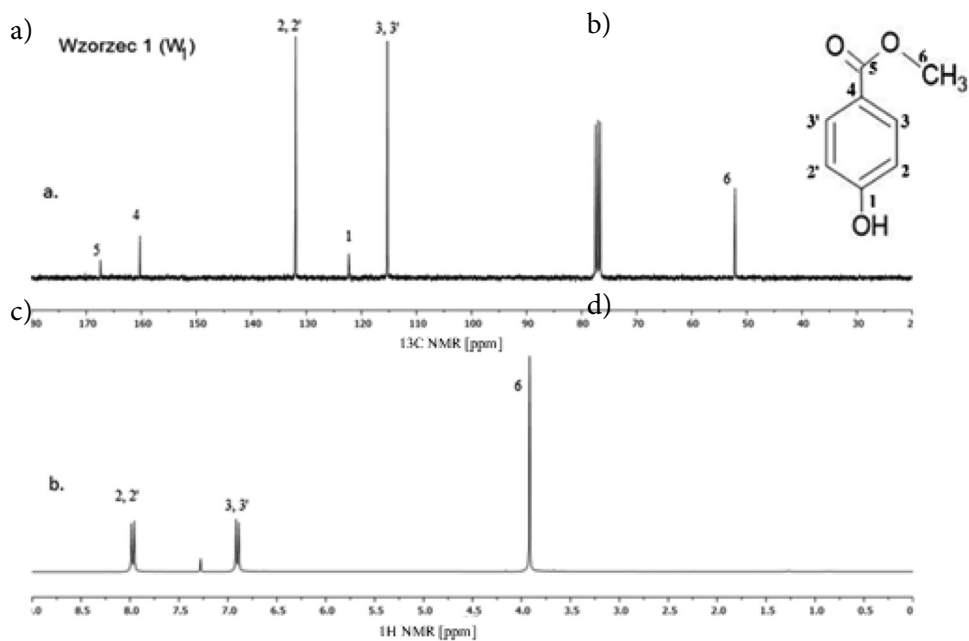
Efekt terapeutyczny i odżywczy środków kosmetycznych i leczniczych związany jest z procesem przenikania substancji aktywnej przez skórę. Proces ten może zachodzić z różną intensywnością. Wyróżniamy trzy etapy przenikania: powierzchniowy (adsorpcja), śródskórny (penetracja) i głęboki (resorpcja). W przypadku środków leczniczych korzystne jest, aby substancja przenikała do układu krążenia. Wskazane jest, aby szybkość tego przenikania była jak największa. Z kolei w przypadku preparatów kosmetycznych jest odwrotnie. Korzystną cechą jest, aby substancja aktywna przenikała wolno lub wcale, zatem charakterystyczne jest przenikanie trzema etapami.

Produkty kosmetyczne, szczególnie te zawierające choćby niewielką ilość wody i substancje organiczne, narażone są na działanie mikroorganizmów, takich jak: bakterie, pleśnie czy grzyby. Ich wpływ może niekorzystnie oddziaływać na kosmetyk, poprzez modyfikację wyglądu, zapachu, konsystencji i właściwości. Ponadto obecność produktów przemiany materii drobnoustrojów może powodować podrażnienia skóry konsumentów [2]. W celu ich ochrony, zapobieganiu przed tym zjawiskiem i w celu przedłużenia trwałości, dodawane są do kosmetyków substan-

cje konserwujące. Do grupy tej należy wiele związków, m.in. paraben, alkohole, fenole, aldehydy, pochodne kwasów organicznych i substancje nieorganiczne [6].

Konserwanty, aby mogły zostać użyte w produktach kosmetycznych, muszą spełniać szereg wymagań – być bezpieczne w zastosowaniu, nietoksyczne i wykazywać dobrą tolerancję. Efekt terapeutyczny powinien być odczuwalny w jak najniższych stężeniach, by zminimalizować działania niepożądane, a także wykazywać aktywność w szerokim spektrum [7]. Substancje te muszą być także stabilne i dobrze rozpuszczalne w wodzie [2], a ich działanie w organizmie człowieka powinno być wielokierunkowe. Jedną z najpopularniejszych grup konserwantów są paraben. Jako środki konserwujące stosować je zaczęto w latach trzydziestych XX wieku. Chemicznie to estry z resztą kwasu p-hydroksybenzoesowego, różniące się podstawnikiem (rodzajem grupy alkilowej) w pozycji *para*.

W ich budowie wyróżniamy różne grupy alkilowe: metylową, etylową, propylową czy butylową, których nazwa jest związana z tym podstawnikiem. Są to zatem kolejno: metylparaben, etylparaben, propylparaben i butylparaben (Rysunek 1).



Rysunek 1. Wzory strukturalne najbardziej popularnych parabenów: a. metylparabenu, b. etylparabenu, c. propylparabenu, d. butylparabenu.

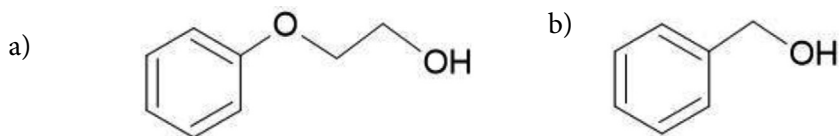
Figure 1. Structural formulas of the most popular parabens: a. methylparaben, b. ethylparaben, c. propylparaben, d. butylparaben.

W związku z tym różnią się one nieznacznie między sobą rozpuszczalnością oraz działaniem przeciwdrobnoustrojowym. Długość łańcucha alkilowego determinuje rozpuszczalność w wodzie – maleje ona wraz ze wzrostem długości łańcucha. Wraz ze zmniejszeniem rozpuszczalności właściwości przeciwdrobnoustrojowe rosną, gdyż ich aktywność zależy od środowiska, w którym się znajdują. Największą trwałość wykazują w pH 4-5. Najlepszą efektywność zapewnia stosowanie mieszanin parabenów, ze względu na ich synergistyczne działanie [8]. Najwięcej parabenów dostarczanych do organizmu ludzkiego pochodzi z produktów kosmetycznych (50 mg), następnie z produktów farmaceutycznych (25 mg), a najmniej parabenów dostarczamy wraz żywnością (1 mg) [8].

Inne przykłady konserwantów stosowanych w kosmetykach to, np. fenoksyetanol (2-fenoksyetanol, monofenyleter glikolu etylenowego czy fenoksytol). Wykazuje skuteczność wobec szerokiego spektrum drobnoustrojów (bakterie z grupy Gram-dodatnich i Gram-ujemnych). Ponadto posiada aktywność przeciwko drożdżakom, do których należy m.in. *Candida albicans*. Ma zastosowanie w wielu produktach kosmetycznych, a także w lekach. Dodatkowo może być wykorzystywany jako substancja zapachowa, stosowana w mieszankach. W Europie, maksymalne stężenie fenoksyetanolu w produktach kosmetycznych wynosi 1%. Nie zaleca się stosowania go na obszar pieluszkowy u dzieci poniżej 3 roku życia [9]. Fenoksyetanol może mieć zastosowanie jako preparat na rany i oparzenia w stężeniu 2–2,2%. Dodatkowo, w wyższym stężeniu (od 3 do 9%) może występować w środkach odstraszających owady [10].

Do konserwantów zaliczany jest także alkohol benzylowy. To aromatyczny alkohol, znany również pod nazwami benzenometanol, fenylometanol, fenylkarbinol czy alkohol fenylometylowy. W kosmetykach pełni rolę konserwantu, rozpuszczalnika oraz substancji odpowiedzialnej za zapach. Zmniejsza także lepkość kosmetyku. Podobnie jak fenoksyetanol, maksymalne stężenie alkoholu benzylowego określone przez Parlament Europejski i Radę to 1% [11]. Bez ograniczeń stosowany jest w preparatach, takich jak: mydła, szampony, farby do włosów, cienie i tusze do rzęs [12].

Budowę wymienionych konserwantów przedstawiają wzory strukturalne na Rysunku 2.



Rysunek 2. Wzory strukturalne konserwantów: a. 2-fenoksyetanolu, b. alkoholu benzylowego.

Figure 2. Structural formulas of preservatives: a. 2-phenoxyethanol, b. benzyl alcohol.

W związku z wieloma obostrzeniami, co do zawartości tych związków w produktach, ważna jest ciągła weryfikacja ich zawartości w materiale różnego pochodzenia i sprawdzanie deklaracji producentów. W artykule przedstawiona została

jakościowa analiza związków z grupy konserwantów, tj. parabenów, 2-fenoksyetanolu i alkoholu benzylowego. Wymienione konserwanty to najczęściej stosowane substancje konserwujące występujące w kosmetykach. Do badań jakościowych serii wybranych kosmetyków została wykorzystana jedna z metod spektroskopowych, magnetyczny rezonans jądrowy – ^1H NMR.

Materiał i metody

Analizie poddano dziewięć kosmetyków, wśród których były: 4 toniki, 3 płyny micelarne oraz 2 szampony do włosów. Zgodnie ze składem, powinny one zawierać konserwanty z grupy parabenów, fenoksyetanol i/lub alkohol benzylowy. W celach badawczych, do porównania, jeden z produktów nie zawiera żadnych z wyżej wymienionych związków (dane według producenta). Skład kosmetyków wraz z wyszczególnionymi konserwantami obecnymi w składzie przedstawia Tabela 1.

Tabela 1. Skład deklarowanych produktów kosmetycznych.

Table 1. Composition of the declared cosmetic products.

| L.p | Nazwa | Konserwanty | L.p | Nazwa | Konserwanty |
|-----|---|--|-----|---------------------------------------|---|
| 1. | Odświeżający tonik do twarzy | <ul style="list-style-type: none"> • metyloparaben • alkohol benzylowy | 6. | Płyn micelarny | <ul style="list-style-type: none"> • brak |
| 2. | Tonik normalizujący do twarzy | <ul style="list-style-type: none"> • metyloparaben • alkohol benzylowy | 7. | Szampon przyspieszający porost włosów | <ul style="list-style-type: none"> • alkohol benzylowy |
| 3. | Wzmacniający szampon do włosów długich, skłonnych do zniszczeń i przetłuszczania się u nasady | <ul style="list-style-type: none"> • alkohol benzylowy | 8. | Tonik | <ul style="list-style-type: none"> • metyloparaben • etyloparaben • propyloparaben • butyloparaben • fenoksyetanol |
| 4. | Płyn micelarny | <ul style="list-style-type: none"> • fenoksyetanol • alkohol benzylowy | 9. | Oliwkowy tonik z witaminą C | <ul style="list-style-type: none"> • fenoksyetanol |
| 5. | Płyn micelarny | <ul style="list-style-type: none"> • fenoksyetanol | | | |

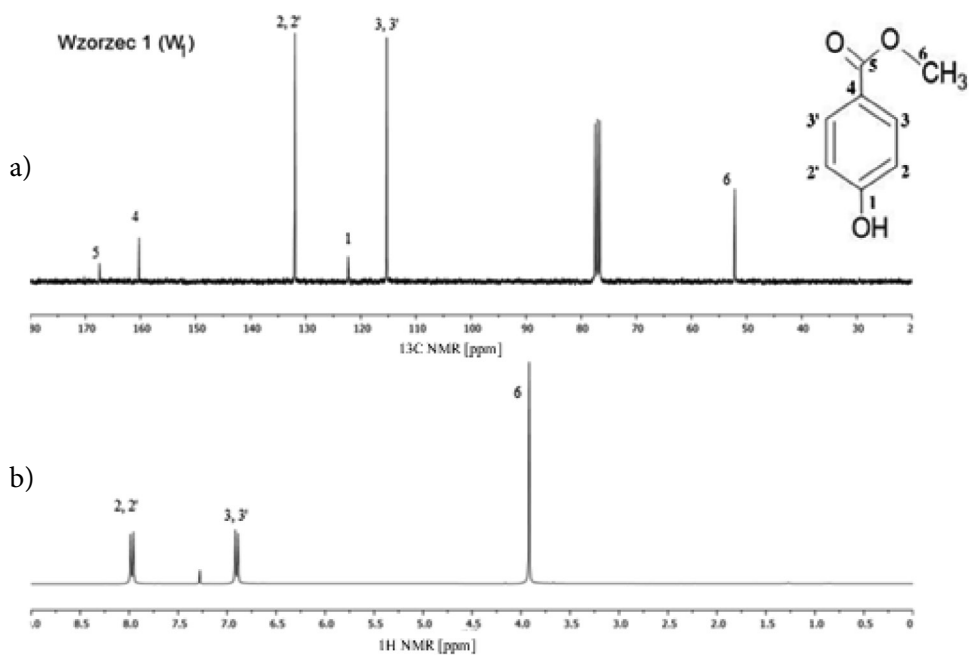
Przeprowadzenie jakościowej analizy wymagało, aby w analizowanych próbkach znacznie zredukować ilość wody, dlatego wszystkie kosmetyki zostały poddane procesowi liofilizacji. Po 25 g każdego z kosmetyków zostało zamrożone i utrzymywane w temperaturze -24°C przez kilka dni. Następnie dokonano liofilizacji w wykorzystaniem aparatu Martin Christ Alpha 1–2 LDplus DONSERV. Próbki liofilizowano w temperaturze -25°C przy próżni 0,63 mBar. Czas liofilizacji wynosił 7 dni. Zakupiono też w Sigma-Aldrich odpowiednie wzorce:

Ocena możliwości zastosowania magnetycznego rezonansu

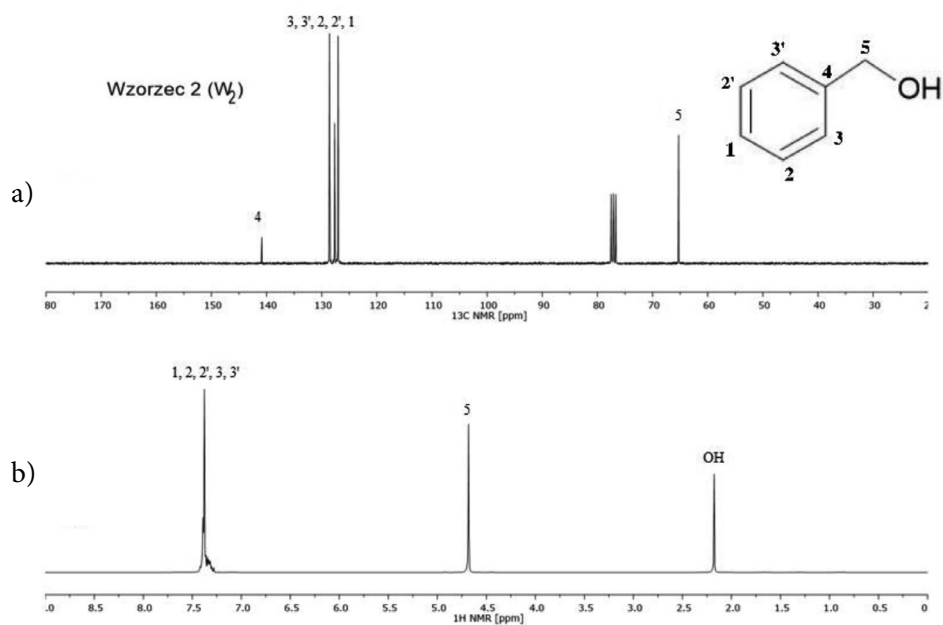
- p-hydroksybenzoesan metylu ReagentPlus®, Sigma-Aldrich – W_1
- bezwodny alkohol benzylowy, 99,8%, Sigma-Aldrich – W_2
- 2-fenoksyetanol, $\geq 99\%$, Sigma-Aldrich – W_3 .

Dla wybranych wzorców konserwantów (metyloparabenu – W_1 , alkoholu benzylowego – W_2 , 2-fenoksyetanolu – W_3) wykonano widma ^1H i ^{13}C NMR, po uprzednim rozpuszczeniu w deuterowanym chloroformie (CDCl_3) i dokonano pełnego przypisania sygnałów. Widma ^1H NMR i ^{13}C NMR wzorców, wraz z numeracją atomów węgla we wzorze strukturalnym substancji, przedstawiają trzy kolejne Rysunki: 3, 4 i 5, odpowiednio dla metyloparabenu, alkoholu benzylowego, 2-fenoksyetanolu. Z kolei dla roztworów próbek badanych ($P_1 - P_9$) wykonano widma ^1H NMR w D_2O .

Wszystkie widma zostały zarejestrowane na spektrometrze Varian VNMRS 300 Oxford. Uzyskane widma opracowano za pomocą programu Mestrenova 6.0.2. Posłużyły one do analizy jakościowej konserwantów obecnych w kosmetykach.

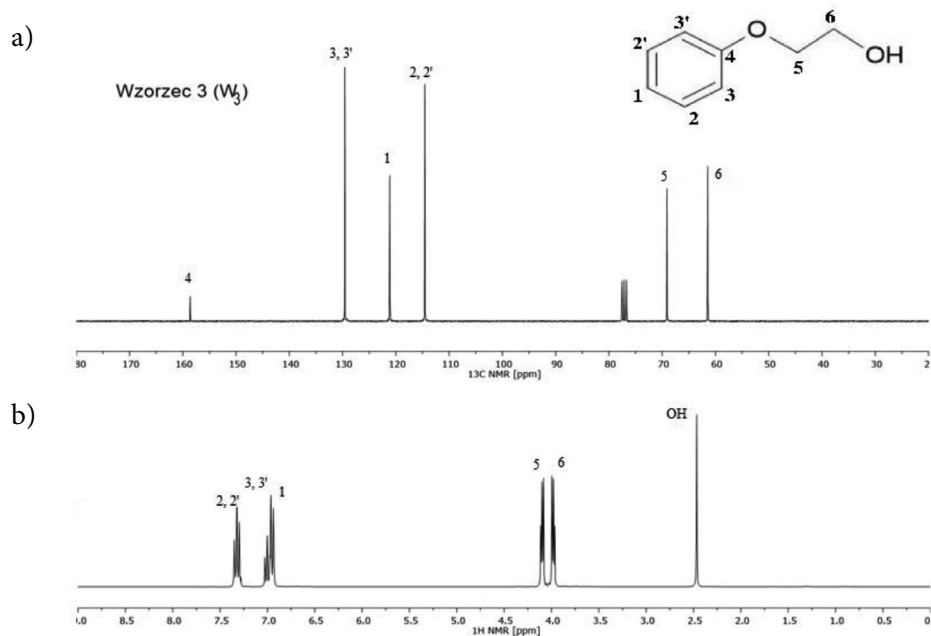


Rysunek 3. Widma NMR metyloparabenu (W_1): a. widmo węglowe, b. widmo protonowe.
Figure 3. NMR spectra of methylparaben (W_1): a. carbon spectrum, b. proton spectrum.



Rysunek 4. Widma NMR alkoholu benzyłowego (W_2): a. widmo węglowe, b. widmo protonowe.

Figure 4. NMR spectra of benzyl alcohol (W_2): a. carbon spectrum, b. proton spectrum.



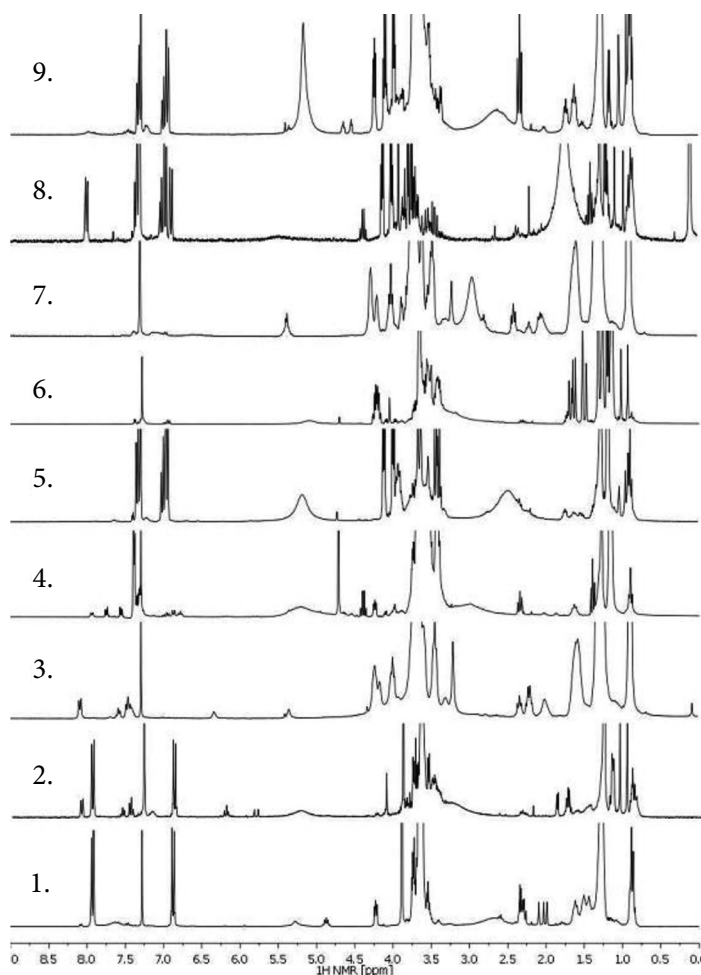
Rysunek 5. Widma NMR fenoksyetanolu (W_3): a. widmo węglowe, b. widmo protonowe.

Figure 5. NMR spectra of 2-phenoxyethanol (W_3): a. carbon spectrum, b. proton spectrum.

Wyniki i dyskusja

Magnetyczny rezonans jądrowy (NMR) to uznana metoda farmakopealna stosowana zarówno do jakościowej, jak i ilościowej analizy pojedynczych substancji oraz mieszanin. Pozwala na dokładną identyfikację substancji w próbkach, stąd też próba zastosowania widm ^1H NMR w aspekcie oznaczeń konserwantów w produktach kosmetycznych do szybkiej ich identyfikacji. Wykorzystana została do wykrycia i/lub potwierdzenia obecności wybranych konserwantów w badanych dziewięciu kosmetykach.

Dla wszystkich analizowanych produktów kosmetycznych (2 szamponów, 3 płynów micelarnych i 4 toników) zarejestrowane zostały widma ^1H NMR, które przedstawione są na Rysunku 6.



Rysunek 6. Widma ^1H NMR wszystkich analizowanych próbek w D_2O . Numery 1- 9 są numerami porządkowymi analizowanych produktów.

Figure 6. ^1H NMR spectra in D_2O of all analyzed samples no 1-9.

Przystępując do analizy widm ^1H NMR w D_2O dla dziewięciu kosmetyków, od razu widać, iż względem siebie są one dość zróżnicowane. W widmie każdego produktu można wyróżnić trzy obszary, w których sygnały są stosunkowo dobrze rozdzielone i w większości nieposzerzone. Dwa obszary określane są mianem obszaru alifatycznego, czyli obszar w zakresie 0- 2,5 ppm i obszar 3,0- 5,5 ppm. Obszar aromatyczny natomiast znajduje się w zakresie wyższych wartości przesunięcia chemicznego – 6,5 ppm do 9,00 ppm. Powyżej 9,0 ppm nie zarejestrowano żadnych sygnałów. Zagęszczenie sygnałów w przypadku każdej próbki obserwujemy w obszarze alifatycznym widma (0-5ppm), mniejszą ilość sygnałów widać w obszarze aromatycznym (6 ppm-12 ppm). Taki układ jest korzystny dla analizy konserwantów, gdyż właśnie w tym (aromatycznym) zakresie występują sygnały pochodzące od konserwantów identyfikowanych w badanych kosmetykach.

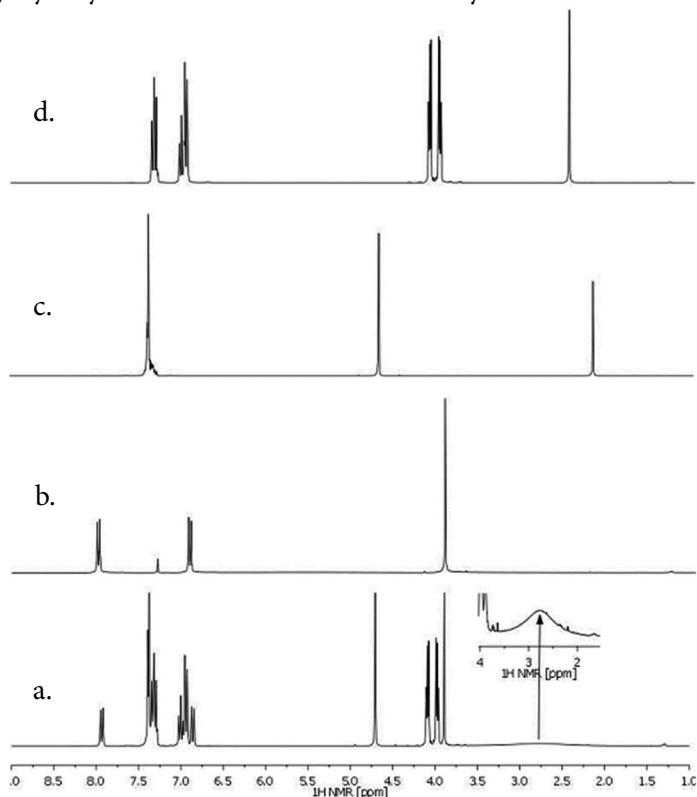
W przypadku toników, woda może stanowić nawet 80-90% składu. Rejestracja widm dokonana była dla próbek zliofilizowanych, czyli po usunięciu wody, aby nie obserwować szerokiego sygnału „zasłaniającego” inne sygnały. Ponieważ pierwotnie widma były rejestrowane w CDCl_3 , a dopiero po jego odparowaniu ponownie rozpuszczone, tym razem w D_2O , w wielu widmach widać „reszkowy” sygnał od CDCl_3 przy $\delta=7,26$ ppm, ale w żaden sposób nie wpływa to na identyfikację konserwantów w próbkach kosmetyków.

W widmach dla próbek 2, 3 i 4, w zakresie od 6,00 ppm do 9,00ppm, oprócz sygnałów charakterystycznych dla analizowanych konserwantów, obserwujemy sygnały protonów pochodzących najprawdopodobniej od substancji aktywnych obecnych w dodatkach roślinnych (ekstraktach roślinnych) do kosmetyków, np. polifenolowych związków. Dodatki roślinne przy istniejącym trendzie „powrotu do natury” są w ostatnim czasie bardzo popularne. W zasadzie każdy kosmetyk zawiera albo ekstrakt roślinny, albo mieszaninę kilku związków, rzadziej jedną aktywną substancję w swoim składzie. Sygnał przy wartości przesunięcia chemicznego $\delta=8,10$ ppm to wartość dedykowana układowi typu $-\text{CH}=\text{CH}-$ typowego połączenia m.in. dla pierścieni aromatycznych.

W obszarze alifatycznym, gdzie obserwujemy zarówno większą ilość sygnałów pojedynczych, jak i multipletów, możemy zidentyfikować obecność kwasu cytrynowego, czyli bardzo częstego konserwantu kosmetyków i żywności. Kwas cytrynowy o wzorze sumarycznym $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$, posiada aż trzy grupy karboksylowe ($-\text{COOH}$). Jest on wymieniony w składzie sześciu z dziewięciu analizowanych kosmetyków, a przeprowadzona analiza widm ^1H NMR potwierdza jego obecność w sposób jednoznaczny. Mimo braku obecności kwasu w próbce nr 9, został zidentyfikowany w widmie ^1H NMR. Jest to charakterystyczny sygnał (multiplet typu AB), występujący przy wartości przesunięcia chemicznego $\delta=2,35$ ppm.

Dużą ilość sygnałów obserwujemy w zakresie alifatycznym, a dokładnie w obszarze 3-4,5 ppm, który jest specyficzny dla protonów występujących w pochodnych cukrowych, czyli polisacharydach. Potwierdza to, że częstym dodatkiem do kosmetyków są polisacharydy wytwarzane przez fermentujące rośliny, takie jak *Biosaccharide gum*.

W pracy zastosowano widma ^1H NMR w celu szybkiej i prostej weryfikacji obecności wybranych związków o charakterze konserwującym we wskazanych kosmetykach. Wybrano trzy z nich: W_1 – metyloparaben (najczęściej stosowany w przemyśle kosmetycznym), W_2 – alkohol benzylowy i W_3 – 2-fenoksyetanol. Ze względu na synergizm działania, często w kosmetykach mamy mieszaninę tych związków. Aby identyfikacja była łatwiejsza i aby wyeliminować możliwość nakładania się sygnałów na siebie, gdy występują w mieszaninie, wykonano widmo mieszaniny trzech oznaczanych wzorców. Rysunek 7 prezentuje zestawienie widm ^1H NMR pojedynczych wzorców oraz ich mieszaniny.



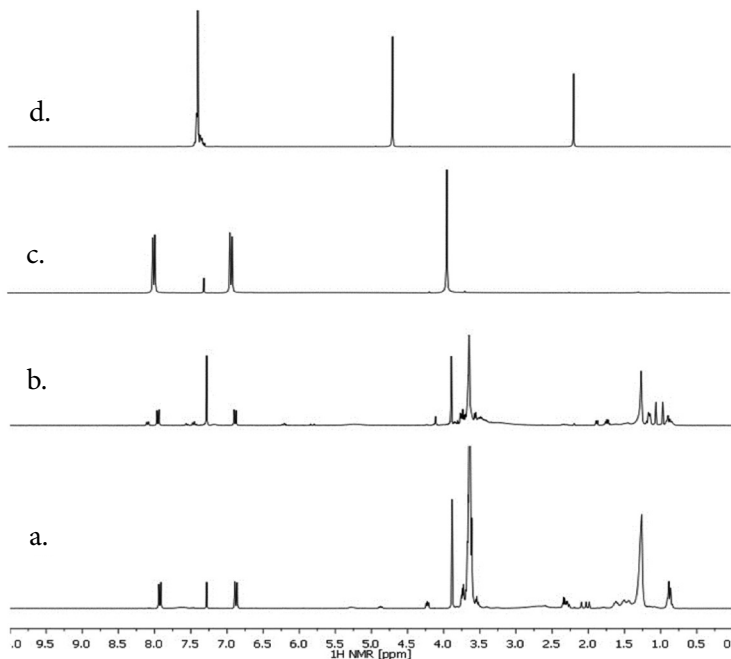
Rysunek 7. Widma ^1H NMR: a. mieszaniny trzech wzorców oraz pojedynczych wzorców, b. metyloparaben, c. alkohol benzylowy i d. 2-fenoksyetanol.

Figure 7. ^1H NMR spectra: a. of the mixture of three standards and single standards, b. methylparaben, c. benzyl alcohol, d. 2-phenoxyethanol.

Mimo zmieszania trzech związków o zbliżonej budowie, sygnały są nadal dobrze odseparowane i bez większego problemu poprzez porównanie z wzorcem można dokonać identyfikacji pojedynczych substancji.

Pełna analiza z wykorzystaniem techniki ^1H NMR wymagała sporządzenia odpowiednich zestawów widm ^1H NMR wybranych próbek z wzorcami odpowiednich konserwantów, obecnymi według spisu w produkcie.

Rysunek 8 przedstawia widmo ^1H NMR dwóch kosmetyków (1 i 2). Według opisu na opakowaniu, w preparatach powinny występować dwa konserwanty: metyloparaben (W_1) i alkohol benzylowy (W_2). Analizując widma ^1H NMR, w przypadku obu tych próbek i porównując je z widmami ^1H NMR wzorców W_1 i W_2 , można stwierdzić, iż metyloparaben jest obecny w obydwu tych kosmetykach, o czym świadczą charakterystyczne dublety o wartościach przesunięcia chemicznego δ 7,96 ppm i δ 6,92 ppm. Natomiast nie można w sposób jednoznaczny wyeliminować ani potwierdzić obecności alkoholu benzylowego. W tym przypadku sygnał pochodzący od resztkowych ilości CDCl_3 ($\delta = 7,26$ ppm) pokrywa się z sygnałem od aromatycznych protonów alkoholu. W widmie dla próbki nr 2 sygnał ten ma wyższą intensywność, co może jednak wskazywać na obecność tej substancji, zaś dla próbki nr 1 nie obserwujemy takiej zależności.

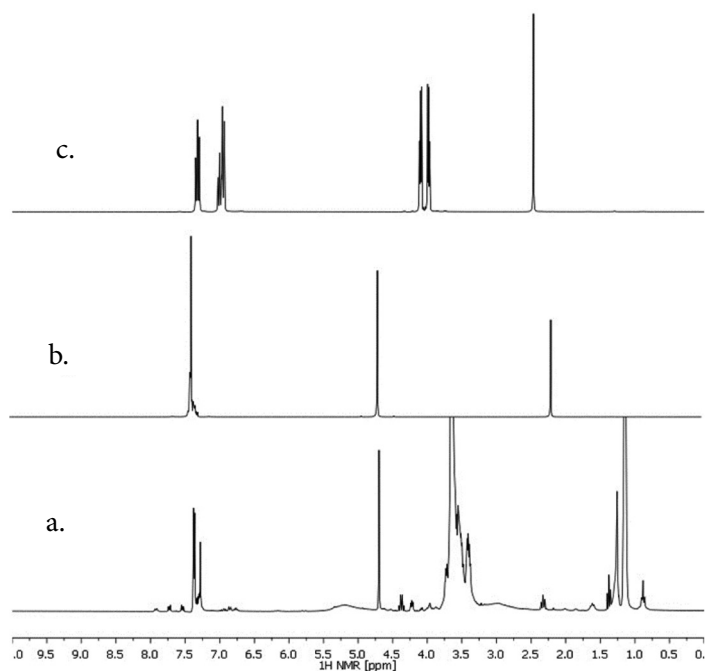


Rysunek 8. Widma ^1H NMR: a. próbka nr 1, b. próbka nr 2, c. metyloparaben (W_1), d. alkohol benzylowy (W_2).

Figure 8. ^1H NMR spectra: a. sample No. 1, b. sample No. 2, c. methylparaben (W_1), d. benzyl alcohol (W_2).

W widmie nie ma również innych sygnałów, np. od protonów z grupy $-\text{CH}_2-$, świadczących o obecności alkoholu benzyłowego w znaczącej ilości.

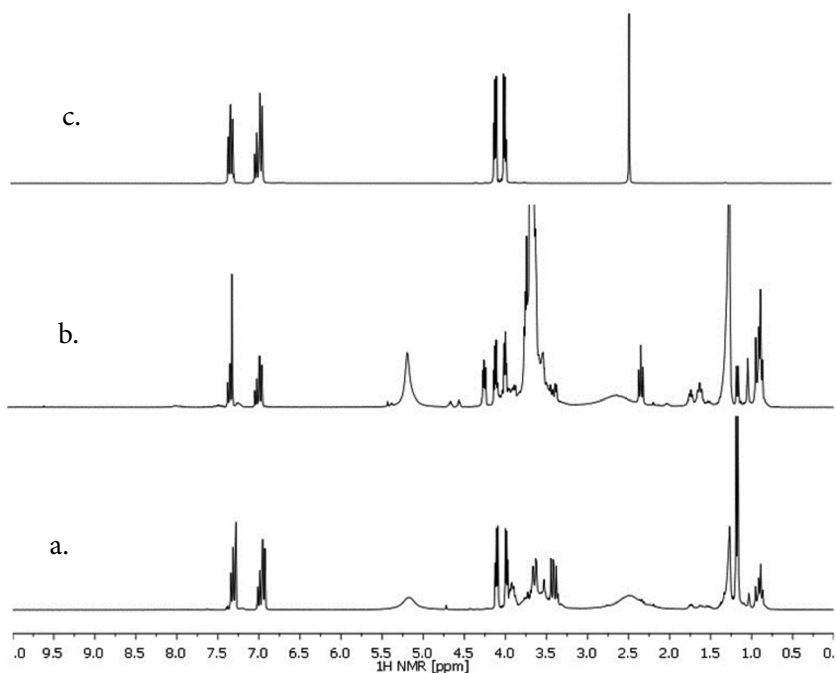
Rysunek 9 prezentuje widmo protonowe próbki nr 4 i wzorców konserwantów wykazanych w jej składzie, czyli alkoholu benzyłowego (W_2) i fenoksyetanolu (W_3). Wynik analizy potwierdza obecność alkoholu, gdyż obserwujemy charakterystyczne dla niego sygnały, np. przy 7,4 ppm od protonów aromatycznych czy 4,7 ppm od protonów alifatycznych z grupy $-\text{CH}_2-$. W widmie ^1H NMR próbki nr 4 widoczne są sygnały charakterystyczne dla 2-fenoksyetanolu. Sygnały te odznaczają się niską intensywnością, co może wskazywać na mniejszą ilość 2-fenoksyetanolu w stosunku do alkoholu benzyłowego.



Rysunek 9. Widma ^1H NMR: a. próbka nr 4, b. alkohol benzyłowy (W_2), c. fenoksyetanol (W_3).

Figure 9. ^1H NMR spectra: a. sample No. 4, b. benzyl alcohol (W_2), c. 2-phenoxyethanol (W_3).

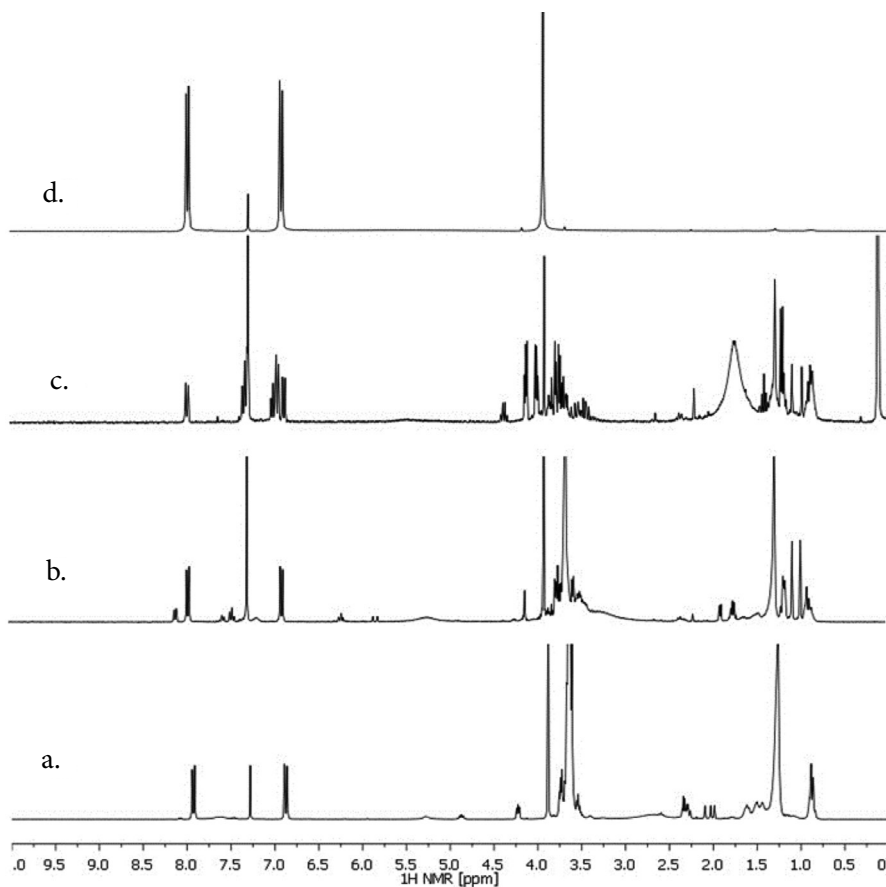
W próbkach kosmetyków nr 5 i nr 9 jedynym konserwantem wyszczególnionym w składzie jest 2-fenoksyetanol (W_3). Na Rysunku 10 przedstawiono widma tych próbek oraz odpowiedniego wzorca (W_3). W przypadku obydwu próbek możemy zaobserwować sygnały pochodzące od protonów aromatycznych w zakresie 7–7,3 ppm. Ponadto, przy 4 ppm widoczne są w tych widmach charakterystyczne triplety odpowiadające protonom alifatycznym ($-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$). W związku z tym, zarówno w kosmetyku nr 5, jak i w kosmetyku nr 9 można potwierdzić obecność 2-fenoksyetanolu (W_3).



Rysunek 10. Widma ^1H NMR: a. próbka nr 5, b. próbka nr 9, c. fenoksyetanol (W_3).

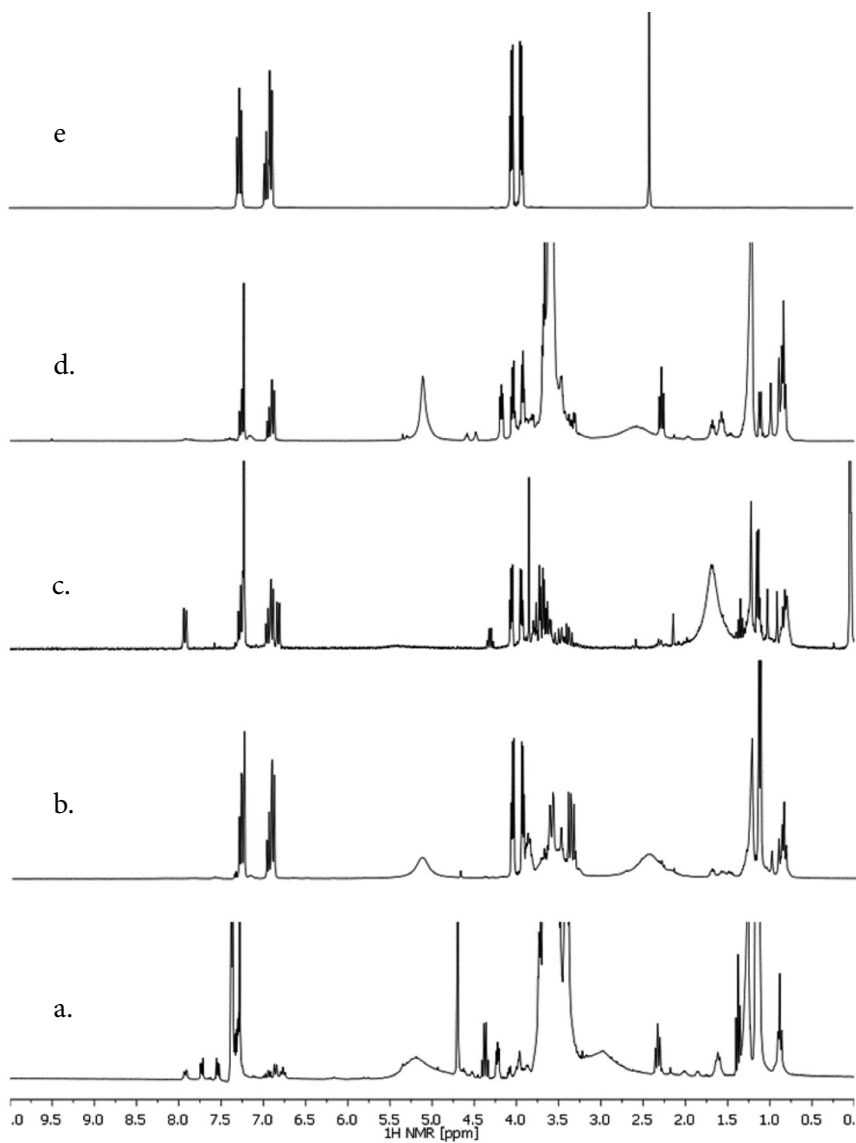
Figure 10. ^1H NMR spectra: a. sample No. 5, b. sample No. 9, c. phenoxyethanol (W_3).

Widma kosmetyków nr 1, 2 i 8, w których składzie deklarowana jest obecność metyloparabenu wraz z porównawczym widmem tego wzorca (W_1), zestawione zostały na Rysunku 11. Obserwowane są charakterystyczne dublety o wartości przesunięcia chemicznego 7,96 ppm i 6,92 ppm pochodzące od protonów aromatycznych w metyloparabencie. Dodatkowo, potwierdzeniem obecności tego konserwantu jest sygnał przy 3,90 ppm, który pochodzi od alifatycznych protonów z grupy $-\text{CH}_3$. W związku z tym w kosmetykach nr 1, 2 i 8 można potwierdzić obecność pochodnej metylowej parabenów.



Rysunek 11. Widma ^1H NMR: a. próbka nr 1, b. próbka nr 2, c. próbka nr 8, d. metyloparaben (W_1).
Figure 11. ^1H NMR spectra: a. sample No. 1, b. sample No. 2, c. sample No. 8, d. methylparaben (W_1).

Próbki kosmetyków, które w swoim składzie zawierają 2-fenoksyetanol to próbki nr: 4, 5, 8 i 9. Zostały one przedstawione na Rysunku nr 12 wraz z widmem wzorca, czyli 2-fenoksyetanolu. Obecność tego konserwantu można potwierdzić w trzech kosmetykach z czterech analizowanych, a mianowicie dla próbek nr 5, 8 i 9.



Rysunek 12. Widma ^1H NMR: a. próbka nr 4, b. próbka nr 5, c. próbka nr 8, d. próbka nr 9, e. fenoksyetanol (W3).

Figure 12. ^1H NMR spectra: a. sample No. 4, b. sample No. 5, c. sample No. 8, d. sample No. 9, e. phenoxyethanol (W3).

Ponieważ nie wszystkie z kosmetyków wybranych do badania zawierały konserwanty, a ich ilość różni się pomiędzy poszczególnymi produktami, interesujące było sprawdzenie, czy istnieje prosta zależność pomiędzy datą ważności tych kosmetyków, a ilością konserwantów w składzie (ilość konserwantów vs data przydatności/ważności). Okazuje się, że nie istnieje relacja pomiędzy datą ważności a ilością substancji konserwujących. Nie w każdej analizowanej próbce ilość różnych konserwantów wpływa na termin ważności. Niemniej jednak w próbce nr 6, w której według producenta nie ma konserwantów, termin przydatności produktu był znacznie skrócony. Natomiast w próbce nr 8 (zawierającej fenoksyetanol i aż 4 rodzaje różnych parabenów) termin ważności jest najdłuższy ze wszystkich badanych kosmetyków, mimo że stężenia poszczególnych konserwantów w tej próbce są niewielkie (Rysunek 13).



Rysunek 13. Zależność pomiędzy terminem ważności a liczbą konserwantów w próbkach.

Figure 13. The relationship between the expiration date and the number of preservatives in the samples.

Podsumowanie

Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR to doskonała metoda do szybkiej identyfikacji substancji konserwujących w płynnych produktach kosmetycznych. Przeprowadzona analiza z wykorzystaniem ^1H NMR dziewięciu wybranych kosmetyków pozwala zadedykować ten typ widm do szybkiej weryfikacji produktów kosmetycznych pod kątem konserwantów (np. *benchtóp*). Zestawienie widm ^1H NMR analizowanych próbek z widmami wzorców stanowi odpowiednie podłoże do oznaczenia lub wykluczenia obecności danego związku (konserwantu) w próbce. Dodatkowo wskazuje ewentualne zanieczyszczenia i obecność innych substancji niż konserwanty. ^1H NMR jest też możliwe w zastosowaniu ilościowym.

Oznaczanie składu i weryfikacja składu podanego przez producenta wszelkich produktów w tym też produktów kosmetycznych jest niezwykle istotna i potrzebna. Wskazuje na to fakt, że analiza tylko dziewięciu kosmetyków pozwoliła wyodrębnić te produkty, których skład faktyczny jest różny od deklarowanego przez producenta. Niektóre związki wymienione w składzie nie występują w produkcie lub znajdują się w nieoznaczalnym stężeniu, a inne, mimo, że nie są deklarowane, mogą zostać wykryte.

Wiadomo też, że na datę ważności (przydatności) ma wpływ nie tylko ilość różnych konserwantów w kosmetykach, ale także ich stężenie w próbkach oraz obecność innych składników aktywnych, np. związków polifenolowych czy witamin.

Literatura

- [1] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1223/2009 z dnia 30 listopada 2009 r. dotyczące produktów kosmetycznych.
- [2] Malinka W., Zarys Chemii Kosmetycznej, Volumed, Wrocław 1999.
- [3] Lamer-Zarawska E., Chwała C., Gwardys A., Rośliny w kosmetyce i kosmetologii przeciwstarzeniowej, Wydawnictwo Lekarskie PZWL 2015.
- [4] Pawlik A., Niewęglowska-Wilk M., Kalicińska J., Śpiewak R., Kosmetyki „naturalne”, „biologiczne” i „ekologiczne”. Gwarancja bezpieczeństwa czy marketing? Kosmetologia Estetyczna, 2017, 2, s. 125-127.
- [5] Kosmetologia i farmakologia skóry, red. Martini M.-C., Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2008.
- [6] Bojarowicz H., Wojciechowska M., Gocki J., Substancje konserwujące stosowane w kosmetykach oraz ich działania niepożądane, Problemy Higieny i Epidemiologii, 2008, 89(1), s. 30-33.
- [7] Marwicka J., Niemyska K., Wieczorek M., Parabeny jako substancje konserwujące stosowane w preparatach kosmetycznych oraz ich wpływ na apoptozę fibroblastów skóry człowieka, Kosmetologia Estetyczna, 2017, 6, s. 561-568.
- [8] Bojarowicz H., Wnuk M., Buciuński A., Efektywność i bezpieczeństwo stosowania parabenów, Problemy Higieny i Epidemiologii, 2012, 93(4), s. 647-653.
- [9] Dréno B., Zuberbier T., Gelmetti C., Gontijo G., Marinovich M. Safety review of phenoxyethanol when used as a preservative in cosmetics, Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2019, 33, s. 15-24.
- [10] Kosmetyki – bioaktywne składniki: praca zbiorowa, red. Schroeder G., Cursiva, [Kostrzyn] 2012.
- [11] Dziennik Urzędowy Uni Europejskiej dot. produktów kosmetycznych, 22.12.2009; I 342/59
- [12] Nair B., Final report on the safety assessment of Benzyl Alcohol, Benzoic Acid and Sodium Benzoate, International Journal of Toxicology, 2001, 20, s. 23-50.

Do cytowania:

Głaszczka I., Paradowska K., Ocena możliwości zastosowania magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) w jakościowej analizie wybranych konserwantów obecnych w kosmetykach, Herbalism, 2022 1(8), s. 27-44.

Synergistyczne i antagonistyczne działanie przeciwutleniające w dwuskładnikowych mieszaninach wybranych polifenoli i kwasu L-askorbinowego

Synergistic and antagonistic antioxidant effects in two-component mixtures of selected polyphenols and L-ascorbic acid

Marta Głowacka, Agnieszka Zielińska*

Zakład Chemii Organicznej i Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa, e-mail: agnieszka.zielinska@wum.edu.pl

Słowa kluczowe: kwas L-askorbinowy, polifenole, synergizm, antagonizm, właściwości antyoksydacyjne

Key words: L-ascorbic acid, polyphenols, synergism, antagonism, antioxidant properties

Streszczenie

Witaminy, związki fenolowe i karotenoidy są najczęściej występującymi w owocach i warzywach naturalnymi substancjami antyoksydacyjnymi. Przeciwutleniacze chronią komórki przed oksydacyjnym uszkodzeniem przez reaktywne formy tlenu i inne rodniki. Pomiędzy tymi składnikami mogą zachodzić interakcje zarówno wzmacniające efekt antyoksydacyjny, jaki i go osłabiający. Przykładami tych interakcji są: synergizm, charakteryzujący się tym, że efekty wywoływane przez składniki w mieszaninie są wyższe, a antagonizm, gdy efekty są niższe, niż wynikałoby to z sumy działania poszczególnych składników stosowanych oddzielnie. Jeśli pomiędzy poszczególnymi badanymi substancjami interakcje nie zachodzą, a wartość oczekiwana i obserwowana nie różnią się istotnie od siebie, możemy zaobserwować efekt addytywny. Ze względu na zwiększające się zainteresowanie naturalnymi antyoksydantami, są one szeroko stosowane w suplementach diety oraz kosmetykach. Dzięki wiedzy na temat możliwych interakcji można tworzyć produkty handlowe o lepszych właściwościach przeciwutleniających, jednocześnie optymalizując proces powstawania. W publikacji przedstawiono wyniki badań interakcji pomiędzy kwasem askorbinowym a wybranymi kwasami fenolowymi, flawonoidami i kumarynami. Właściwości antyoksydacyjne oznaczono metodami FRAP, ABTS, Folina-Ciocalteu'a oraz DPPH. Na podstawie pomiarów określono działania antagonistyczne, synergistyczne lub addytywne mieszanin w porównaniu do czystych związków.

Summary

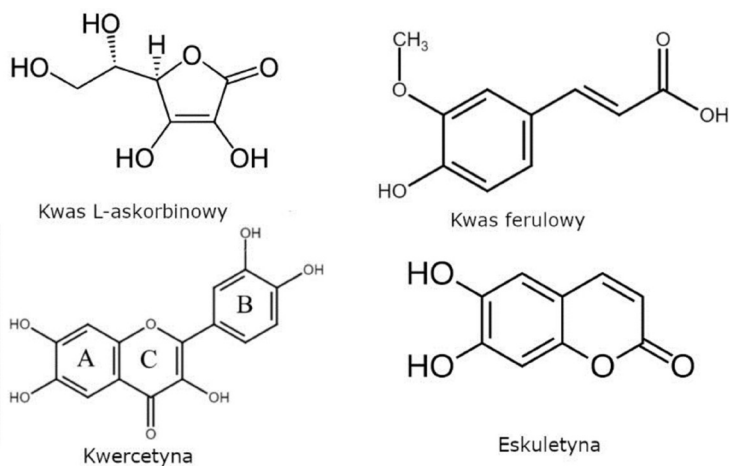
Vitamins, phenolic compounds and carotenoids are the most common natural antioxidant substances found in fruits and vegetables. Antioxidants protect cells from oxidative damage by reactive oxygen species and other radicals. There may be interactions between these components, both enhancing the antioxidant effect and weakening it. The synergistic effect is characterized by the fact that the theoretical sum of the effects of the individual components in a mixture is lower than the observed value, and antagonistic when the expected sum of effects is higher than their observed value. If there are no interactions between the individual substances tested, and the expected and observed values do not differ significantly from each other, we can observe an additive effect. Due to the growing interest in natural antioxidants, we can observe their increasing use in dietary supplements and cosmetics. Thanks to the knowledge about possible interactions, we can create commercial products with better antioxidant properties, while optimizing their composition. The publication presents the results of the interaction studies between ascorbic acid and selected phenolic acids, flavonoids and coumarins. Antioxidant properties were determined by FRAP, ABTS, Folin-Ciocalteu and DPPH methods. The antagonistic, synergistic or additive effects of the mixtures were determined in comparison to the pure compounds.

Wstęp

Kwas L-askorbinowy ze względu na swój hydrofilowy charakter jest rozpuszczalny w wodzie oraz rozcieńczonych alkoholach. Związek ten (Rysunek 1.) jest najbardziej trwały w stanie stałym, natomiast w roztworach wodnych ulega rozkładowi pod wpływem podwyższonej temperatury, obecności tlenu, żelaza i miedzi, a jego roztwory, ze względu na kwasowy charakter cząsteczki, wykazują najlepszą trwałość w pH 4-6 [1, 2]. Kwas L-askorbinowy wykazuje silne właściwości antyoksydacyjne. W stosunkowo niskim stężeniu może być donorem wodoru (mechanizm HAT z ang. *hydrogen atom transfer*) lub elektronów (mechanizm SET, z ang. *single electron transfer*). Oddając elektron przekształca się w rodnik askorbylowy, a następnie w kwas L-dehydroaskorbinowy (DHA) (utleniona forma kwasu askorbinowego). Zarówno rodnik askorbylowy jak i kwas L-dehydroaskorbinowy są odwracalnie przekształcane do kwasu askorbinowego. Obie formy (utleniona i zredukowana) chronią białka, węglowodany, lipidy oraz kwasy nukleinowe przed oksydacyjnym uszkodzeniem poprzez reaktywne formy tlenu i inne rodniki (m.in. rodniki ponadtlenkowe, rodnik hydroksylowy, tlen singletowy, nadtlenek wodoru). Kwas L-askorbinowy jest obecny w wysokich stężeniach w organach posiadających wysoką aktywność metaboliczną np. w wątrobie, nadnerczach, mózgu, gruczołach śluzowych, trzustce, żołądku oraz płucach, odgrywa znaczącą rolę w zapobieganiu uszkodzeniom mózgu przez rodniki [2].

Kwas L-askorbinowy może być stosowany miejscowo w celu neutralizacji rodników powstałych przez ekspozycję na promieniowanie nadfioletowe i inne czynniki środowiskowe, takie jak dym papierosowy czy zanieczyszczenia [3]. Zastosowanie 10% roztworu kwasu wykazuje zmniejszenie się oparzeń słonecznych o 40-60% oraz rumienia o 52% [4]. Kwas L-askorbinowy bierze udział w procesach syntezy kolagenu (poprzez interakcję z jonami metali przejściowych, głównie miedzi i żelaza), karnityny, kwasu foliowego, hormonów katecholaminowych (adrenaliny, noradrenaliny), aminowanych hormonów peptydowych (wazopresyny) oraz regeneruje witaminę E [5].

W suplementach diety kwas L-askorbinowy lub jego pochodne często łączone są z ekstraktami roślinnymi. Ich ważnym składnikiem są kwasy fenolowe (Rysunek 1) – pochodne kwasu hydroksycynamonowego i kwasu hydroksybenzoowego. Najbardziej znane kwasy hydroksycynamonowe to kwas kawowy, ferulowy, synapowy i p-kumarowy. W roślinach grupa ta występuje przeważnie jako pochodne glikozydów, amidów i estrów glukozy lub kwasu chinowego. Przykładem może być kwas chlorogenowy, który jest połączeniem kwasu kawowego i chinowego [6, 7]. Kwasy fenolowe wykazują właściwości przeciwutleniające, mogą działać jako donory wodoru i reagować z reaktywnym tlenem oraz azotem, doprowadzając w ten sposób do reakcji terminacji, która przerywa łańcuchowe reakcje rodnikowe. Wykazują zdolność do chelatowania jonów metali enzymów biorących udział w reakcjach oksydacyjnych. Zdolności przeciwutleniające kwasów fenolowych polegają także na stabilizacji rodników, powstających w reakcjach utlenienia przez ich uwodornienie lub kompleksowanie [7].



Rysunek 1. Kwas L-askorbinowy i przykładowe związki użyte w badaniach.

Figure 1. L-ascorbic acid and examples of compounds used in the research

Flawonoidy charakteryzują się 15-węglowym szkieletem, składającym się z dwóch pierścieni aromatycznych (Rysunek 1). Różnią się poszczególnymi podstawnikami, stopniem nasycenia i utlenieniem pierścienia. Naturalnie najczęściej

występują w postaci glikozydów. Są one bardziej stabilne niż wolna postać flawonoidów, chociaż mają dość niską biodostępność, dlatego często wymagają hydrolizy do aglikonu. W postaci aglikonu naturalnie występują flawony i flawonole [8]. Flawonoidy wykazują wiele właściwości, między innymi działanie przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwalergiczne, przeciwzakrzepowe, wzmacniające i uszczelniające ściany naczyń krwionośnych [9]. Związki te działają antyoksydacyjne poprzez chelatowanie jonów metali oraz inhibicję niektórych enzymów wytwarzających rodniki. Ze względu na wysoką reaktywność grupy hydroksylowej, flawonoidy reagują z rodnikiem tworząc mało aktywne, krótko żyjące rodniki, które bardzo szybko ulegają rekombinacji. Najsilniejsze działanie przeciwutleniające wykazują flawony i flawanole [10]. Strukturami wpływającymi na działanie przeciwutleniające są ułożenie w pozycji orto grup hydroksylowych w pierścieniu B (Rysunek 1), obecność grup hydroksylowych, wiązanie nienasycone między węglami C2 i C3 w sąsiedztwie z grupą karbonylową w pierścieniu C oraz O-metylacja [11].

Kolejną grupą związków wykazujących działanie antyoksydacyjne są kumaryny, o strukturze benzo- α -pironu, podobne chemiczne do flawonoidów. Najczęściej występują jako cząsteczki lub aglikony w glikozydach [9]. Kumaryny wykazują działanie przeciwzapalne, przeciwskurczowe, przeciwutleniające, przeciwnowotworowe, przeciwzakrzepowe, antibakteryjne i przeciwwirusowe [12, 13]. Główną właściwością kumaryn jest działanie przeciwutleniające, które polega na hamowaniu wytwarzania reaktywnych form tlenu RFT oraz ich wychwytywaniu. Aktywność antyoksydacyjna może dotyczyć różnych mechanizmów, w zależności od struktury chemicznej kumaryn. Efekt przeciwutleniający jest skorelowany z miejscem przyłączenia i liczbą elektrodonorowych grup hydroksylowych. Inną metodą hamowania powstawania rodników przez kumaryny jest chelatowanie jonów metali przejściowych, takich jak żelazo czy miedź [9, 14].

Na rynku spotykane są suplementy zawierające mieszanki witaminy C w postaci kwasu L-askorbinowego lub jego pochodnych oraz polifenoli. Większość z nich ma za zadanie wspomagać układ odpornościowy, pozostałe działania związane są z aktywnością przeciwutleniającą wybranych związków. Przykładowo dodawany jest kwas ferulowy, witamina E, kwercetyna, rutyna, hesperydyna, naryngenina, a także wiele ekstraktów roślinnych, np. z: korzenia kurkumy, czarnego bzu, dzikiej róży, czarnej porzeczki, owoców cytrusowych.

Analizując właściwości antyoksydacyjne stwierdzono, że efekty synergistyczne występują, gdy połączenie dwóch lub więcej substancji wykazuje silniejszy efekt antyoksydacyjny niż suma działania każdego z nich oddzielnie. Synergistyczne działanie antyoksydacyjne nie jest do końca wyjaśnione. Przykładowe hipotezy mechanizmu synergistycznego to: powstawanie dimerów i adduktów oraz nowych substancji fenolowych, które posiadają silniejszą aktywność przeciwutleniającą

od substratów reakcji; antyoksydant o niższym potencjale redukuje antyoksydant o wyższym potencjale redukcyjnym; tworzenie kompleksów międzycząsteczkowych pomiędzy antyoksydantami, wykazującymi silniejsze właściwości przeciwutleniające niż związki macierzyste; nieokreślone reakcje między substancjami; inna rozpuszczalność przeciwutleniaczy, powodująca różnice w rozkładzie związków między fazami [15, 16].

Antagonizm to zjawisko, w którym połączenie dwóch lub więcej związków wykazuje słabszy efekt antyoksydacyjny, w porównaniu do sumy matematycznej ich działania oddzielnie. Mechanizm interakcji antagonistycznej, można spróbować wyjaśnić poprzez: powstawanie adduktów i kompleksów pomiędzy antyoksydantami; redukcja słabszego antyoksydantu poprzez silniejszy przeciwutleniacz; polimeryzacja antyoksydantów; nieodwracalne reakcje rodników, prowadzące do ich zneutralizowania; nieprzewidywalne reakcje między substancjami [15, 16]. Z kolei efekt addytywny to zjawisko, gdy przeciwutleniacze w złożonej mieszaninie mają takie same właściwości antyoksydacyjne, jak suma matematyczna ich działania oddzielnie. Efekt ten zakłada brak interakcji lub nieprzewidywalne reakcje między antyoksydantami w mieszaninie [15].

Stosunkowo dużo poświęcono uwagi badaniu wpływu kwasu L-askorbinowego na właściwości antyoksydacyjne kwercetyny [17]. Zdolność zmiatania rodnika ABTS przez kwercetynę, niezależnie od stosunku składników mieszaniny, można przedstawić jako addytywną. Jednak przy użyciu testu z rodnikiem DPPH proporcje badanej mieszaniny mają wpływ na wyniki doświadczenia. Stosunek wagowy 3:1, 2:1, 1:1 kwercetyny do kwasu L-askorbinowego wykazuje właściwości addytywne obu składników mieszaniny, ale przy nadmiarze kwasu (1:2, 1:3) wykazano ich antagonizm względem rodnika DPPH. Podane różnice mogą wynikać z środowiska obu reakcji. W teście TEAC (reakcja z rodnikiem ABTS) był to bufor o pH 7,4, a w teście DPPH metanol [17]. Wyniki pomiarów TEAC właściwości antyoksydacyjnych kwasu askorbinowego i kwercetyny w różnym pH były stałe dla kwasu w całym zakresie, jednak dla kwercetyny wzrastały one wraz ze wzrostem pH [18]. W celu wyjaśnienia antagonistycznego oddziaływania kwercetyny z kwasem L-askorbinowym w zależności od stosunku składników mieszaniny, zaproponowano mechanizm działania polegający na tworzeniu kompleksu molekularnego połączonego wiązaniem wodorowym pomiędzy grupą C4'-OH cząsteczki flawonoidu, a grupą C2-OH i karbonylowym atomem tlenu cząsteczki kwasu. Zablockowanie reaktywnej grupy C4'-OH flawonoidu, powoduje obniżenie jej dostępności dla rodników oraz zmniejszenie jej zdolności do oddawania elektronów [18]. Kwercetyna (jak i rutyna) posiada w swoich cząsteczkach grupy hydroksylowe przy atomach węgla 3' i 4' w pierścieniu B, grupę 3-hydrokso-4-karbonylową oraz pierścień γ -pirolowy. Dzięki temu oprócz wiązania jonów metali np. miedzi, nie tylko hamuje powstawanie RFT, ale również inhibituje konwersję kwasu askorbinowego do kwasu dehydroaskorbinowego [19].

W badaniach nad wpływem pH środowiska na właściwości antyoksydacyjne, wykazano, że kwas L-askorbinowy stabilizuje katechiny, które są nietrwałe w środowisku obojętnym i zasadowym [20]. W doświadczeniach nad interakcjami tego kwasu z kwercetyną i rutyną wykazano, że typ interakcji może się zmieniać w zależności od pH środowiska, proporcji składników w mieszaninie oraz ich rodzaju [18, 21].

Aktywność przeciwutleniającą mieszaniny kwasu L-askorbinowego i kwasu ferulowego, badaną metodą DPPH można określić jako oddziaływanie antagonistyczne obu substancji. Prawdopodobnym wytłumaczeniem tego zjawiska jest degradacja do związku mniej reaktywnego [15]. Wyjaśnieniem działania antagonistycznego może być również to, że silniejszy przeciwutleniacz szybko zmniejsza stężenie kationowych rodników (np. DPPH czy ABTS), zmniejszając w ten sposób szybkość reakcji pomiędzy słabszym antyoksydantem a rodnikiem, ze względu na zmniejszenie się ilości kationorodników. Takie obserwacje mogą prowadzić do wniosku, że obserwowany efekt antagonistyczny w mieszaninach zależy nie tylko od stężenia antyoksydantów czy środowiska reakcji, ale również od stężenia rodników kationowych [22]. Natomiast właściwości antyoksydacyjne mieszaniny kwasu kawowego i witaminy C mierzone przy pomocy metody ORAC (z ang. oxygen radical absorbance capacity – zdolność wiązania rodników tlenowych), wskazują na efekt synergistyczny [15].

Interakcje polifenoli i kwasu L-askorbinowego nie zawsze są addytywne, co może wpływać na właściwości suplementów diety oraz produktów leczniczych. Skutki działania fizjologicznego między tymi związkami wymagają badań *in vivo*. Jednak na podstawie przedstawionych wyników testów *in vitro*, można przewidzieć wpływ wielu czynników, np. pH, na właściwości antyoksydacyjne przeciwutleniaczy. Celem pracy było zbadanie efektów synergistycznych i antagonistycznych w mieszaninach dwuskładnikowych wybranych flawonoidów i kwasu L-askorbinowego.

Material i metody

Do badań oddziaływań z kwasem L-askorbinowym (CAS 50-81-7) wybrano związki z najważniejszych grup polifenoli, dobranych pod względem różnic strukturalnych, głównie ilości grup OH, ale także w przypadku flawonoidów, pozycją pierścienia B: a) kwasy fenolowe: kawowy (CAS 331-39-5), trans-ferulowy (CAS 537-98-4), cynamonowy (CAS 140-10-3), p-kumarowy (501-98-4), chlorogenowy (CAS 327-97-9), b) flawonoidy: flawonole: chryzyna (CAS 480-40-0), kwercetyna (CAS 117-39-5), rutyna (CAS 153-18-4), flawanony: naryngenina (CAS 480-41-1), (-) epikatechina (CAS 490-46-0), izoflawonoid: daidzeina (CAS 490-46-0), kumaryny: umbeliferon (CAS 93-35-6), eskuletyna (CAS 305-01-1) i jej glikozyd: eskulina (CAS 531-75-9). Przygotowano 1 mM roztwory substancji wzorcowych w 70% etanolu. Wszystkie użyte w badaniach substancje chemiczne zostały zakupione

w Sigma-Aldrich i Avantor. Badania UV/VIS wykonano na spektrofotometrze EVOLUTION 60S Thermo Fisher Scientific. Wszystkie pomiary były powtarzane trzykrotnie. Analizę statystyczną wykonano przy pomocy MS Excel® i Statistica® 13.

Metody badania właściwości przeciwutleniających

Aktywność przeciwutleniającą metodą FRAP (*Ferric reducing ability of plasma*) wyznaczono zgodnie z metodyką Gliszczyńskiej-Świągło oraz Prior i in. [17, 23]. Pomiary absorbancji wykonano przy długości fali 593 nm. Wykonano pomiary dla czystych substancji i mieszanin z kwasem askorbinowym w stosunku 1:1. Wyniki FRAP uzyskano na podstawie krzywej wzorcowej dla sporządzonej dla Troloxu i przedstawiono jako wartość FRAP wyrażone jako równoważniki Troloxu TE na μmol związku [$\mu\text{mol TE}/\mu\text{mol}$].

Wyznaczenie zdolności zmiatania rodnika ABTS wykonano metodą opisaną przez Tyrakowską i in. [24]. Badania wykonano dla tych samych próbek jak powyżej. Pomiary absorbancji wykonano przy długości fali 734 nm. Zdolność zmiatania rodnika ABTS dla badanych roztworów, wyrażone jako równoważniki Troloxu [$\mu\text{mol TE}/\mu\text{mol}$ związku], odczytano z krzywej wzorcowej.

Pomiary całkowitej zawartości polifenoli metodą Folina-Ciocalteu'a wykonano zgodnie z Singleton i Rossi [25]. Pomiar absorbancji wykonano przy długości fali 765 nm.

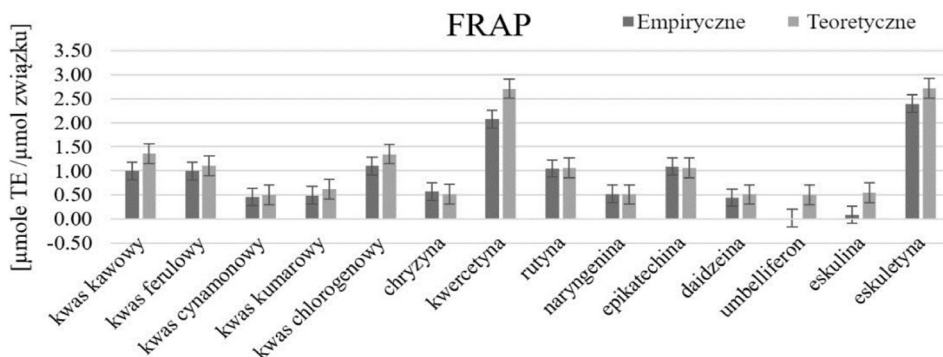
Całkowitą zawartość polifenoli dla badanych roztworów, wyrażoną jako równoważniki kwasu galusowego [$\mu\text{g GAE}/\mu\text{mol}$ związku], odczytano z krzywej wzorcowej.

Wyznaczenie zdolności zmiatania rodnika DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazylu) wykonano metodą na podstawie Branda-Williamsa [26] dostosowaną do pomiarów techniką EPR. Pomiary wykonano za pomocą spektrometru EPR Magnetech MiniScope MS200. Widma EPR zarejestrowano trzykrotnie dla każdej próbki. W oparciu o intensywność widm obliczono zdolność zmiatania rodnika DPPH, którą przedstawiono w postaci: [$\mu\text{mol TE}/\mu\text{mol}$ związku].

Wyniki i dyskusja

W celu potwierdzenia addytywnego, synergistycznego lub antagonistycznego działania wybranych związków w mieszaninie z witaminą C, dla wszystkich metod policzono teoretyczną aktywność przeciwutleniającą mieszaniny, sumując indywidualne efekty jej składników i porównano ją z aktywnością zmierzoną dla badanej mieszaniny. Jako istotne różnice między wartością empiryczną a teoretyczną przyjęto $p < 0,05$. Wyniki pomiarów dla metody FRAP przedstawiono na Rysunku 2. Chryzyna, naryngenina, daidzeina i umbeliferon stosowane samodzielnie nie wykazały działania antyoksydacyjnego mierzanego za pomocą metody FRAP, za efekt przeciwrodnikowy w mieszaninie odpowiadał kwas L-askorbinowy. Oddziaływania

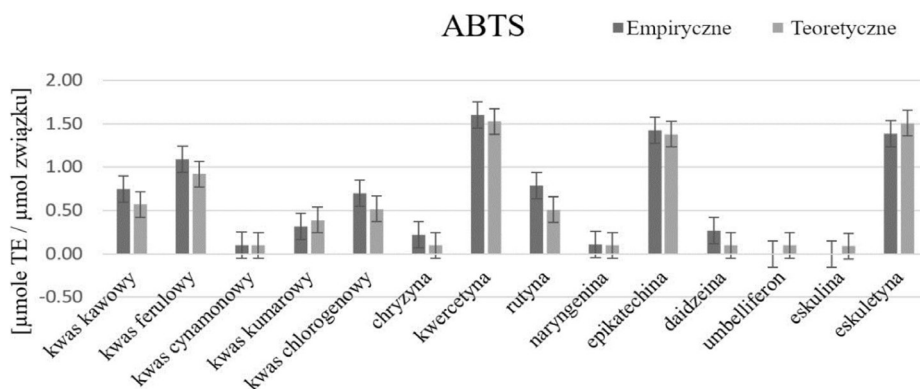
antagonistyczne wykazały mieszaniny z kwasem kawowym, kwercetyną i eskuletyną. W przypadku pozostałych związków stwierdzono efekt addytywny kwasu L-askorbinowego z rutyną, naryngeniną oraz epikatechiną obserwowany jest efekt addytywny. Jedynie w mieszaninie z chryzyną stwierdzono synergizm.



Rysunek 2. Wartości FRAP empiryczne i teoretyczne dwuskładnikowych mieszanin polifenoli z kwasem L-askorbinowym.

Figure 2. FRAP values measured and theoretical for binary mixtures of polyphenols with L-ascorbic acid.

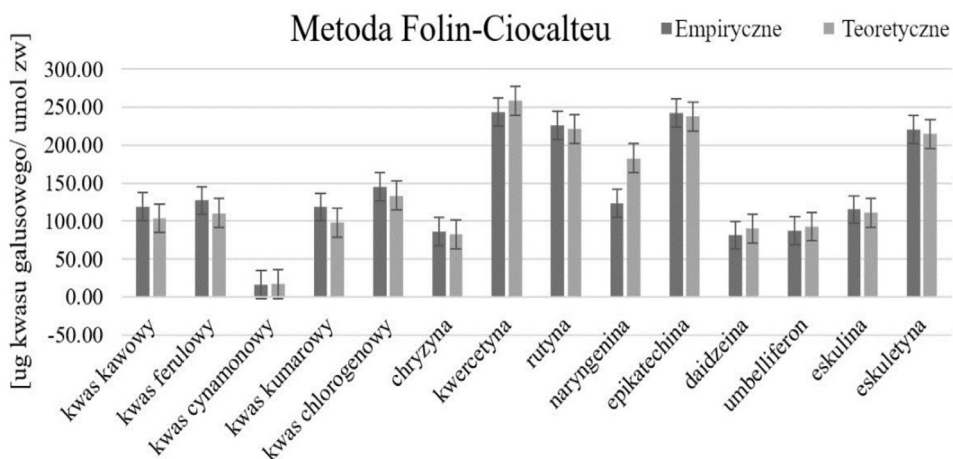
Inne wyniki uzyskano z pomiarów metodą z użyciem rodnika ABTS. Oddziaływanie antagonistyczne odnotowano w mieszaninach kwasu askorbinowego z kwasem kumarowym, umbelliferonem, eskuliną i eskuletyną. Natomiast efekt synergistyczny wykazywały mieszaniny witaminy C z kwasem kawowym, ferulowym, chlorogenowym, chryzyną, rutyną i daidzeiną. Pozostałe mieszaniny związków polifenolowych z kwasem askorbinowym przedstawiały efekt addytywny (Rysunek 3).



Rysunek 3. Zdolność zmiatania rodnika ABTS – wartości empiryczne i teoretyczne dwuskładnikowych mieszanin polifenoli z kwasem L-askorbinowym.

Figure 3. ABTS radical scavenging ability – measured and theoretical values of binary mixtures of polyphenols with L-ascorbic acid.

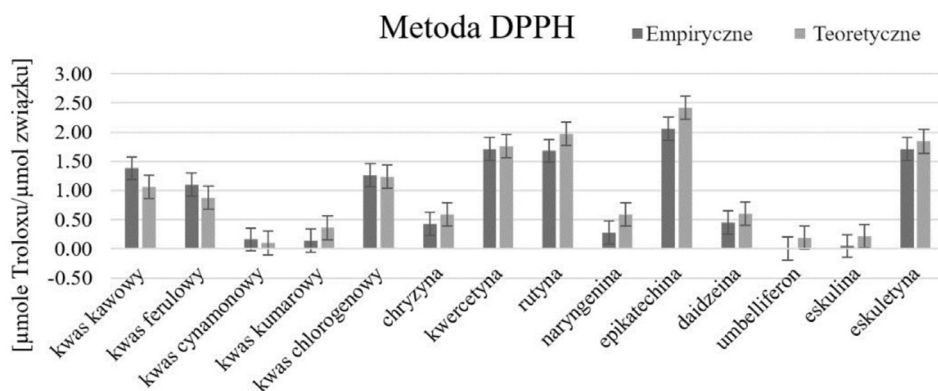
W przypadku pomiaru całkowitej zawartości polifenoli metodą Folin-Ciocalteu (która również należy do metod antyoksydacyjnych, wykorzystując mechanizm redoks, obu typów: HAT i SET [23]), istotne różnice między wartością empiryczną i teoretyczną, uznawane jako antagonistyczne stwierdzono dla mieszaniny kwasu L-askorbinowego z kwercetyną, naryngenią, daidzeiną i umbeliferonem. Natomiast efekt synergistyczny odnotowano w mieszaninach z kwasem kawowym, ferulowym, kumarowym i chlorogenowym. Pozostałe mieszaniny związków polifenolowych z kwasem L-askorbinowym nie wykazywały znaczących różnic wartości empirycznej i teoretycznej (Rysunek 4).



Rysunek 4. Wyniki oznaczania całkowitej zawartości polifenoli (metoda Folin-Ciocalteu) empiryczne i teoretyczne dwuskładnikowych mieszanin polifenoli z kwasem L-askorbinowym.

Figure 4. Results of the determination of total polyphenols (Folin-Ciocalteu method), measured and theoretical for binary mixtures of polyphenols with L-ascorbic acid.

Pomiary zdolności zmiatania rodnika DPPH wykazały efekt synergistyczny w mieszaninach z kwasem kawowym, ferulowym i cynamonowym, natomiast antagonistyczny w mieszaninach z kwasem kumarowym, chryzyną, rutyną, naryngenią, epikatechiną, daidzeiną, umbeliferonem, eskuliną i eskuletyną. Pozostałe mieszaniny związków polifenolowych z kwasem L-askorbinowym wykazywały efekt adytywny (Rysunek 5).



Rysunek 5. Zdolność zmiatania rodnika DPPH – wartości empiryczne i teoretyczne dwuskładnikowych mieszanin polifenoli z kwasem L-askorbinowym.

Figure 5. DPPH radical scavenging capacity – measured and theoretical values of two-component mixtures of polyphenols with L-ascorbic acid.

Porównanie wyników pomiarów metodą FRAP, ABTS, Folin-Ciocalteu i DPPH

Tabela 1. Porównanie wyników interakcji między wybranymi polifenolami i z kwasem L-askorbinowym.

Table 1. Comparison of the results of interactions between selected polyphenols and L-ascorbic acid.

| Mieszanka z kwasem L-askorbinowym | Wynik interakcji wybranych związków badanych metodami: | | | |
|-----------------------------------|--|-----------------|-----------------|-----------------|
| | DPPH | ABTS | FRAP | Folin-Ciocalteu |
| Kwas kawowy | Synergistyczne | Synergistyczne | Antagonistyczne | Synergistyczne |
| Kwas ferulowy | Synergistyczne | Synergistyczne | Antagonistyczne | Synergistyczne |
| Kwas cyjanonowy | Synergistyczne | Addytywne | Antagonistyczne | Addytywne |
| Kwas kumarowy | Antagonistyczne | Antagonistyczne | Antagonistyczne | Synergistyczne |
| Kwas chlorogenowy | Addytywne | Synergistyczne | Antagonistyczne | Synergistyczne |
| Chryzyna | Antagonistyczne | Synergistyczne | Synergistyczne | Addytywne |
| Kwercetyna | Addytywne | Addytywne | Antagonistyczne | Antagonistyczne |
| Rutyna | Antagonistyczne | Synergistyczne | Addytywne | Addytywne |
| Naryngenina | Antagonistyczne | Addytywne | Addytywne | Antagonistyczne |
| Epikatechina | Antagonistyczne | Addytywne | Addytywne | Addytywne |
| Daidzeina | Antagonistyczne | Synergistyczne | Antagonistyczne | Antagonistyczne |
| Umbelliferon | Antagonistyczne | Antagonistyczne | Antagonistyczne | Antagonistyczne |
| Eskulina | Antagonistyczne | Antagonistyczne | Antagonistyczne | Addytywne |
| Eskuletyna | Antagonistyczne | Antagonistyczne | Antagonistyczne | Addytywne |

Zarówno kwas kawowy jak i ferulowy w połączeniu z kwasem L-askorbinowym wykazywały efekt synergistyczny, badany za pomocą metod DPPH, ABTS oraz Folin-Ciocalteu. Jednak podczas badania tych mieszanin metodą FRAP, stwierdzono efekt antagonistyczny. Potencjał redukcyjny kwasu kawowego jest równy 0,54 V, a kwasu L-askorbinowego 0,28 V. Witamina C redukuje związek o wyższym potencjale redukcyjnym (rodnik kwasu kawowego do kwasu kawowego), co może wyjaśniać synergistyczny efekt badanej mieszaniny [27, 28]. Mieszaniny kwercetyny z kwasem L-askorbinowym badane przy pomocy metod DPPH oraz ABTS wskazują na addytywną zależność między podanymi związkami. Natomiast przy użyciu metody FRAP i Folin-Ciocalteu jest to ponownie efekt antagonistyczny. Wyniki oddziaływania kwercetyny i kwasu L-askorbinowego w mieszaninie są zgodne z przedstawionymi badaniami w literaturze [18]. Rutyna z kwasem L-askorbinowym w stosunku molowym 1:1 wykazywała addytywne oddziaływanie mierzone metodami FRAP oraz Folin-Ciocalteu. Jednak przy zastosowaniu rodnika DPPH był to efekt antagonistyczny, a z rodnikiem ABTS synergistyczny. Wyniki rodzaju interakcji z tych metod nie pokrywają się z wynikami przedstawionymi w literaturze (ABTS – efekt antagonistyczny, DPPH – efekt addytywny) [21]. W przedstawionych powyżej badaniach różnice w wynikach mogą być spowodowane zastosowaniem różnego środowiska reakcji. W pracy Gliszczyńskiej-Świągło [21] podczas badania właściwości przeciwutleniających metodą ABTS zastosowano bufor o pH 7,4. W powyższej pracy jako środowisko reakcji można uznać etanol. Natomiast efekt antagonistyczny przy metodzie DPPH może być spowodowany mniejszą dostępnością steryczną, ze względu na budowę rutyny, która składa się z rutynozy połączonej wiązaniem glikozydowym z kwercetyną [29].

Antagonistyczne oddziaływania kwercetyny i rutyny mogą być wytłumaczone poprzez tworzenie kompleksu z kwasem L-askorbinowym, blokującego grupę C4'-OH flawonoidów [17]. Powoduje to obniżenie ich możliwości oddawania elektronów, czyli mechanizmu SET, będącego mechanizmem, dzięki któremu zachodzą głównie metoda FRAP oraz Folin-Ciocalteu (efekt antagonistyczny w tych testach można stwierdzić dla kwercetyny i kwasu askorbinowego). Również zablokowana grupa C4'-OH będzie brała mniejszy udział w reakcjach rodnikowych (oddziaływanie antagonistyczne mieszaniny rutyny i witaminy C przy użyciu metody DPPH).

Największe różnice w wynikach oznaczeń odnotowano przy zastosowaniu metody FRAP. Prawdopodobnie jest to spowodowane charakterem reakcji, opierającym się na redukcji wybranych cząsteczek oraz wykryciu jedynie mechanizmu SET działania przeciwutleniającego. Metody DPPH i ABTS wykorzystują reakcje rodnikowe, przy zastosowaniu zarówno mechanizmu SET jak i HAT. Poza tym wartość pH reakcji FRAP równa 3,6 nie jest podobna do pH fizjologicznego i znacząco różni się od pozostałych metod.

Badanie kwasu p-kumarowego wraz z kwasem L-askorbinowym, za pomocą metody ABTS, DPPH oraz FRAP opisywane jest jako antagonistyczne. Może to być spowodowane utlenianiem kwasu askorbinowego [30]. Natomiast wyniki uzyskane metodą z odczynnikiem Folin-Ciocalteu sugerują efekt synergistyczny.

Kwas chlorogenowy w dwuskładnikowej mieszance z kwasem askorbinowym przy użyciu metod ABTS oraz Folin-Ciocalteu wykazuje działanie synergistyczne. Jednak, gdy zastosowano metodę z wykorzystaniem rodnika DPPH, to efekt był addytywny, a wyniki metody FRAP wskazują na działanie antagonistyczne podanych związków. Kwas chlorogenowy jest estrem kwasu (-) – chinowego i kawowego, do którego wykazuje podobieństwo w metodzie FRAP, Folin-Ciocalteu oraz ABTS. Możliwe, że ze względu na przeszkodę steryczną podczas badania DPPH, mieszanka wykazywała efekt addytywny.

Działanie mieszaniny epikatechiny i kwasu L-askorbinowego przy zastosowaniu metod ABTS, FRAP oraz Folin-Ciocalteu było addytywne, co jest zgodne z literaturą [28]. Jednak przy zastosowaniu metody DPPH występował efekt antagonistyczny. Eskuletyna z kwasem L-askorbinowym przy użyciu testów DPPH, ABTS oraz FRAP wskazywały na oddziaływanie antagonistyczne obu składników. Jednak w metodzie Folin-Ciocalteu był (stwierdzono) to efekt addytywny.

Podsumowanie

Interakcje między kwasem L-askorbinowym i wybranymi flawonoidami wpływają na ich właściwości antyoksydacyjne. W zależności od zastosowanej metody stwierdzono w niektórych przypadkach zarówno efekt synergistyczny jak i antagonistyczny. Różnice w wynikach pomiędzy podanymi testami mogą wynikać z niejednolitego środowiska (wodne, etanolowe), pH, rodzaju reakcji (rodnikowy – ABTS, DPPH lub redoks – FRAP oraz Folin-Ciocalteu) czy wykrywanego mechanizmu HAT lub SET. Dzięki wiedzy na temat możliwych interakcji pomiędzy związkami o działaniu antyoksydacyjnym można zoptymalizować produkcję kosmetyków, suplementów diety oraz produktów leczniczych. Jeśli składniki wykazują razem działanie synergistyczne, potrzebujemy mniejszej ich ilości, aby stworzyć produkt handlowy o bardzo dobrych właściwościach przeciwrodnikowych przy niskich kosztach produkcji. Na podstawie wyników powyższych badań, można stwierdzić wpływ środowiska czy charakteru reakcji na właściwości przeciwutleniające.

Literatura

- [1] Pappenberger G., Hohmann H.P., Industrial production of L-ascorbic acid (vitamin C) and D-isoascorbic acid, *Biotechnology of Food and Feed Additives*, 2013, s. 143-188.
- [2] Janda K., Kasprzak M., Wolska J., Witamina C–budowa, właściwości, funkcje i występowanie, *Pomeranian Journal of Life Sciences*, 2015, 61(4), s. 419-425.
- [3] Caritá A.C., Fonseca-Santos B., Jemima Daniela Shultz J.D., Michniak-Kohn B., Chorrilli M., Leonardi G.R., Vitamin C: One compound, several uses. Advances for delivery, efficiency and stability, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2020, 24, s. 102117.
- [4] Telang P.S., Vitamin C in dermatology, *Indian Dermatology Online Journal*, 2013, 4(2), s. 143.
- [5] Carr A.C., Maggini S., Vitamin C and immune function, *Nutrients*, 2017, 9(11), s. 1211.
- [6] Kumar N., Goel N., Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications, *Biotechnology Reports*, 2019, 24, s. e00370.
- [7] Parus A., Przeciwutleniające i farmakologiczne właściwości kwasów fenolowych, *Postępy Fitoterapii*, 2013, 1, s. 48-53.
- [8] Panch A.N., Diwan A.D., Chandra S.R., Flavonoids: an overview, *Journal of Nutritional Science*, 2016, 5, s. 1-15.
- [9] Borges Bubols G., da Rocha Vianna D., Medina-Remon A., Gilsane V.P., Lamuela-Raventos R.M., Eifler-Limab V.L., Garcia S.C., The antioxidant activity of coumarins and flavonoids, *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 2013, 13(3), s. 318-334.
- [10] Florkowska K., Duchnik W., Muzykiewicz A., Zielonka-Brzezicka J., Klimowicz A., Flawonoidy w profilaktyce i leczeniu miażdżycy, *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 2017, 98(3), s. 217-225.
- [11] Banjarnahor S.D., Artanti N., Antioxidant properties of flavonoids, *Medical Journal of Indonesia*, 2014, 23(4), s. 239-44.
- [12] Kostova, I., Bhatia S., Grigorov P., Balkansky S., Parmar V.S., Prasad A.K., Saso L. Coumarins as antioxidants, *Current Medicinal Chemistry*, 2011, 18(25), s. 3929-3951.
- [13] Pudo A., Kamińska I., Ortyl J., Pochodne kumaryny jako molekularne sensory fluorescencyjne stosowane do monitorowania procesów fotopolimeryzacji, *Technical Issues*, 2015, 1, s. 47-53.
- [14] Malinowska M., Bielawska K., Metabolizm i właściwości antyoksydacyjne kumaryn, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2013, 46(3), s. 393-403.
- [15] Olszowy-Tomczyk, M., Synergistic, antagonistic and additive antioxidant effects in the binary mixtures, *Phytochemistry Reviews*, 2020, 19(1), s. 63-103.
- [16] Tavadyan L.A., Minasyan S.H., Synergistic and antagonistic co-antioxidant effects of flavonoids with trolox or ascorbic acid in a binary mixture, *Journal of Chemical Sciences*, 2019, 131(5), s. 1-11.
- [17] Gliszczynska-Świgło A., Przeciwutleniające i proutleniające właściwości wybranych składników żywności jako wyróżniki jej jakości. Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu, Poznań, 2010, s. 17-20, 40-48, 133-153.
- [18] Gliszczynska-Świgło A., Szymusiak H., Interakcje między składnikami suplementów diety na przykładzie kwercetyny i witaminy C, *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 2009, 16(4), s. 17-20, 40-48, 133-153.

- [19] Hughes R., Wilson H., 6 Flavonoids: Some Physiological and Nutritional Consideration, *Progress in Medicinal Chemistry*, 1977, 14, s. 285-301.
- [20] Chen, H., Zhang Y., Lu X., Zhishuang Q, Comparative studies on the physicochemical and antioxidant properties of different tea extracts, *Journal of Food Science and Technology*, 2012, 49(3). s. 356-361.
- [21] Gliszczyńska-Świągło A., Wpływ kwasu askorbinowego na aktywność przeciwrodnikową wybranych flawonoidów, *Zeszyty Naukowe/Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu*, 2010, 162, s. 55-65.
- [22] Olszowy M., Dawidowicz A.L., Józwik-Dolęba M., Are mutual interactions between antioxidants the only factors responsible for antagonistic antioxidant effect of their mixtures? Additive and antagonistic antioxidant effects in mixtures of gallic, ferulic and caffeic acids, *European Food Research and Technology*, 2019, 245(7), s. 1473-1485.
- [23] Prior R.L., Wu X., Schaich K., Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(10), s. 4290-4302.
- [24] Tyrakowska B., Soffers A.E., Szymusiak H., Boeren S., Boersma M. G., Lemańska K., Vervoort J., Rietjens I.M., TEAC antioxidant activity of 4-hydroxybenzoates, *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, 27(11-12), s. 1427-1436.
- [25] Singleton V.L., Rossi J.A., Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 1965, 16(3), s. 144-158.
- [26] Brand-Williams W., Cuvelier M.-E., Berset C., Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT – Food Science and Technology*, 1995, 28(1), s. 25-30.
- [27] Laranjinha J., Cadenas E., Redox cycles of caffeic acid, alpha-tocopherol, and ascorbate: Implications for protection of low-density lipoproteins against oxidation, *IUBMB Life*, 1999, 48(1), s. 57-65.
- [28] Yeomans V.C., Linseisen J., Wolfram G., Interactive effects of polyphenols, tocopherol and ascorbic acid on the Cu²⁺-mediated oxidative modification of human low density lipoproteins, *European Journal of Nutrition*, 2005, 44(7), s. 422-428.
- [29] Samaszko-Fiertek J., Roguszczyk P., Dmochowska B., Ślusarz R., Madaj J., Rutyna: budowa, właściwości, *Wiadomości Chemiczne*, 2016, 7-8(70), s. 435-453.
- [30] Satô M., The conversion of phenolase of p-coumaric acid to caffeic acid with special reference to the role of ascorbic acid, *Phytochemistry*, 1969, 8(2), s. 353-362.

Do cytowania:

Głowacka M., Agnieszka Zielińska A Synergistyczne i antagonistyczne działanie przeciwutleniające w dwuskładnikowych mieszaninach wybranych polifenoli i kwasu L-askorbinowego, *Herbalism*, 2022 1(8), s. 45-58.

Porównanie zdolności chelatowania jonów żelaza (II) i zmiatania wolnego rodnika DPPH przez ekstrakty z mchów

Comparison of the capacity of moss extracts to chelate iron (II) ions and scavenge the free radical DPPH

Sara Janowska

Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Katedra i Zakład Chemii Organicznej, ul. Chodźki 4A, Lublin 20-093
e-mail: sara.janowska@wp.pl

Słowa kluczowe: mszaki, aktywność antyoksydacyjna, wolne rodniki

Key words: bryophytes, antioxidant, free radical

Streszczenie

W ostatnich latach związki o właściwościach antyoksydacyjnych występujące w roślinach – ze względu na ich zdolność neutralizacji wolnych rodników – cieszą się dużym zainteresowaniem naukowców. Zakłada się, że wolne rodniki mogą uczestniczyć w powstawaniu wielu chorób, zwłaszcza cywilizacyjnych, których liczba drastycznie rośnie. Mszaki stanowią wciąż słabo przebadaną grupę roślin, przez co są ciekawym obiektem badań fitochemicznych. Celem pracy było określenie potencjału antyoksydacyjnego ekstraktów z dwudziestu gatunków mchów. Badaniom poddano ekstrakty etanolowe z gametofitofitów dwudziestu gatunków mchów. W pracy wykorzystano następujące metody: metodę pomiaru zdolności zmiatania syntetycznego rodnika DPPH, metodę pomiaru zdolności chelatowania jonów żelaza (II). Na podstawie wyników uzyskanych z wykorzystaniem powyższych metod można stwierdzić, że ekstrakty ze wszystkich gatunków użytych w badaniach wykazują zdolność zmiatania wolnych rodników oraz zdolność do wiązania jonów żelaza (II). Najniższą aktywność antyoksydacyjną w próbach z wykorzystaniem metody zmiatania syntetycznego rodnika DPPH wykazały ekstrakty z gatunków: *Polustriella commutata* ($IC_{50} = 264,52$ mg/ml), *Spharium fibratum* ($IC_{50} = 154,66$ mg/ml) oraz *Pleurozium schreberi* ($IC_{50} = 126,81$ mg/ml). Najwyższą zdolność chelatacji jonów żelaza wykazują ekstrakty: *Hypnum cupressiforme* ($IC_{50} = 0,32$ mg/ml) oraz *Rhytidiadelphus triquetrus* ($IC_{50} = 0,50$ mg/ml). Przeprowadzone badania wykazały potencjał antyoksydacyjny 20 gatunków mchów. Najwyższy potencjał neutralizacji wolnego rodnika DPPH wykazały mchy z rodziny *Polytrichopsida*.

Summary

In recent years, compounds with antioxidant properties occurring in plants are very popular among scientists due to their ability to neutralize free radicals. It is assumed that free radicals may participate in the formation of many diseases, especially civilization diseases, the number of which is growing drastically. Bryophytes are still a poorly studied group of plants, which makes them an interesting object of phytochemical research. Determination of the antioxidative potential of extracts from twenty moss species. The ethanol extracts from gametophytophytes of twenty moss species were tested. The following methods were used in the work: method of measuring the scavenging ability of a synthetic DPPH radical, the method of measurement of iron (II) ions chelating ability. Based on the results obtained using the above methods, it can be concluded that the extracts of all species used in the studies show the ability to scavenge free radicals and the ability to bind iron (II) ions. Extracts from the following species showed the lowest antioxidant activity in the samples using the method of scavenging the synthetic DPPH radical: *Polustriella commutata* ($IC_{50} = 264.5$ mg/ml), *Sphanum fimbriatum* ($IC_{50} = 154.66$ mg/ml) and *Pleurozium schreberi* ($IC_{50} = 126.81$ mg/ml). The highest iron chelation capacity is presented by *Hypnum cupressiforme* ($IC_{50} = 0.32$ mg/ml.) and *Rhytidiadelphus triquetrus* ($IC_{50} = 0.50$ mg/ml) extracts. The studies have shown the antioxidant potential of 20 species of mosses. The highest potential for the free radical scavenging of DPPH has been demonstrated by mosses from the Polytrichopsida family.

Wprowadzenie

W ostatnich latach trwają intensywne naukowe poszukiwania roślinnych związków posiadających właściwości antyoksydacyjne. Kwestie związane z oksydacją i wolnymi rodnikami znajdują się w centrum uwagi dietetyków i farmaceutów. Zakłada się, że wolne rodniki odgrywają główną rolę w patogenezie wielu chorób. Istotny jest też fakt, że procesy oksydacyjne mogą zmniejszać stabilność chemiczną leków i pokarmów [1].

Działanie zarówno ksenobiotyków, promieniowania ultrafioletowego, jak również ultradźwięków, może prowadzić do powstawania wolnych rodników. Jeżeli związki te wejdą w oddziaływanie z makrocząsteczkami występującymi w komórkach, mogą wywoływać uszkodzenia o różnorodnym charakterze. Kontakt wolnych rodników z DNA w ludzkich komórkach prowadzi do: rozerwania nici, powstania mutacji punktowych oraz aberracji chromosomalnych. Konsekwencją takich uszkodzeń są między innymi choroby nowotworowe. Jeżeli w organizmie panuje homeostaza, wolne rodniki tlenowe są degradowane lub dezaktywowane w łańcuchu przemian biochemicznych [2]. Badania naukowe dowodzą, że wolne rodniki

mogą mieć znaczący wpływ na rozwój chorób cywilizacyjnych. Ich powszechna obecność prowadzi do stałego stresu oksydacyjnego w organizmie współczesnego człowieka, co prowadzi do spadku skuteczności naturalnych procesów odpornościowych. Uniknięcie kontaktu z wolnymi rodnikami jest niemożliwe, ponieważ są one dostarczane zarówno z zewnątrz, jak i w wyniku procesów komórkowych zachodzących w naszych ciałach. Potencjalnym wsparciem są rośliny zawierające metabolity wtórne o silnych właściwościach antyoksydacyjnych [3].

Podczas, gdy rośliny wyższe zostały dość dokładnie przebadane pod względem składu fitochemicznego, rośliny niższe stanowią nadal pewną tajemnicę dla naukowców. Należące do tej grupy mszaki występują powszechnie na całym świecie. Ze względu na łatwą dostępność mogą stanowić cenny przedmiot wielokierunkowych badań fitochemicznych i fitobiologicznych [4]. Celem niniejszej pracy było zbadanie, czy ekstrakty z mchów mają zdolność neutralizacji wolnego rodnika DPPH oraz chelatowania jonów żelaza II. W trakcie prac badawczych otrzymano ekstrakty z 20 gatunków mchów pochodzących z trzech różnych klas, a następnie określono ich potencjał pod względem aktywności antyoksydacyjnej.

Materiały i metody

Surowiec roślinny, będący materiałem do badań, stanowiły gametofity 20 gatunków mchów zebranych w lasach liściastych Wyżyny Śląskiej. Materiał został zebrany w 2015 roku w czasie lata i oznaczony przez prof. dr hab. Adama Szebla ze Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach.

Ekstrakty użyte w pracy doświadczalnej wykonano z suszonej w przepływie powietrza substancji roślinnej 20 różnych gatunków mchów występujących na terenie Polski. Na początku pracy wysuszone mchy rozdrobniono przy użyciu młynka elektrycznego. Następnie z każdego gatunku odważono naważki po ok. 30 g. Odważony, zmielony surowiec roślinny poddano 24-godzinnej maceracji w kolbach stożkowych przy użyciu 80% alkoholu etylowego w ilości 600 ml. Wyjątkiem był gatunek *Sphagnum palustre*, który – z uwagi na jego większą chłonność – poddany był maceracji w objętości 1050 ml. Następnie zawartość kolb poddano ekstrakcji wspomaganą przez 15 minut łaźnią ultradźwiękową w temperaturze pokojowej.

Ekstrakt przesączono przez karbowane sączki bibułowe. Substancję roślinną, która pozostała po pierwszej ekstrakcji zalano 300 ml (*Sphagnum palustre* – 200 ml) alkoholu etylowego 80%. Zawartość kolb poddano ponownej ekstrakcji z użyciem ultradźwięków trwającej 15 minut. Płyn z nad substancji roślinnej przesączono, używając tych samych sączków bibułowych, co przy pierwszej ekstrakcji. Do pozostałej w kolbach substancji roślinnej dodano kolejną porcję etanolu 80% o objętości 200 ml i przeprowadzono kolejną ekstrakcję w tych samych warunkach.

Ekstrakty przesączono przez sączi bibułowe. Z połączonych ekstraktów odmierzono 1/3 objętości odpowiadającej 10 gramom surowca roślinnego. Przy użyciu wyparki próżniowej w łaźni wodnej o temperaturze 40°C odparowano rozpuszczalnik. Kolbki wyparne z pozostałością z ekstraktów po odparowaniu rozpuszczalnika poddano liofilizacji. Następnie suche ekstrakty rozpuszczono w etanolu. Do każdej próbki użyto takiej ilości etanolu, aby uzyskać stężenie ekstraktu 40 mg/ml. Z tych roztworów bazowych przygotowano metodą rozcieńczeń roztwory etanolowe o stężeniu 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 1; 0,5 oraz 0,25 mg/ml. Otrzymane roztwory przechowywano w szczelnie zamkniętych plastikowych flakonach do dalszych oznaczeń. Ekstrakty zostały w trakcie przechowywania zabezpieczone przed promieniowaniem słonecznym.

Tabela 1. Gatunki mchów użyte w pracy badawczej.

Table 1. Moss species used in the research work.

| Lp. | Nazwa gatunkowa | Nazwa zwyczajowa |
|-----|-----------------------------------|------------------------|
| 1 | <i>Hypnum lindbergii</i> | Rokiet krzywolistny |
| 2 | <i>Sphanum teres</i> | Torfowiec obły |
| 3 | <i>Climacium dendroides</i> | Drabik drzewkowaty |
| 4 | <i>Orthodicranum montanum</i> | Prostożąbek górski |
| 5 | <i>Eurhynchium striatum</i> | Dzióbkowiec bruzdowany |
| 6 | <i>Sanionia uncinata</i> | Sanionia haczykowata |
| 7 | <i>Thuidium philibertii</i> | Tujowiec włoskolistny |
| 8 | <i>Politrichum juniperinum</i> | Płonnik jałowcowaty |
| 9 | <i>Polustriella commutata</i> | Źródlikowiec zmienny |
| 10 | <i>Politrichastum formosum</i> | Złotowłos strojny |
| 11 | <i>Polytrichum commune</i> | Płonnik pospolity |
| 12 | <i>Rhytidiadelphus triquetrus</i> | Fałdownik trzyrzędowy |
| 13 | <i>Pseudoscleropodium purum</i> | Brodawkowiec czysty |
| 14 | <i>Rhytidiadelphus squarrosus</i> | Fałdownik nastroszony |
| 15 | <i>Sphagnum fimbriatum</i> | Torfowiec frędzlowany |
| 16 | <i>Dicranum scoparium</i> | Widłoząb miotłowy |
| 17 | <i>Sphagnum palustre</i> | Torfowiec błotny |
| 18 | <i>Plagiommium undulatum</i> | Płożymeżyk falisty |
| 19 | <i>Pleurozium schreberi</i> | Rokietnik pospolity |
| 20 | <i>Hypnum cupressiforme</i> | Rokiet cyprysowy |

- 1. Badanie właściwości antyoksydacyjnych z użyciem rodnika DPPH:** metoda badawcza polega na szacowaniu zdolności przeciwutleniaczy zawartych w ekstraktach do zmiatania syntetycznego wolnego rodnika DPPH. W wyniku reakcji odczynnika z antyoksydantami następuje zmiana zabarwienia z purpurowo-fioletowego na żółte. Dochodzi do zmiany absorbancji badanych roztworów, co jest mierzone spektrofotometrycznie przy długości fali 515 nm. Metoda została opracowana przez Brand-Williamsa oraz jego współpracowników [5]. W badaniu jako substancję o charakterze wolnorodnikowym wykorzystano etanolowy roztwór DPPH o stężeniu 0,06 mM. Oznaczenie wykonywano dla rozcieńczeń 40, 20, 10, 5 i 1 mg/ml. Próbkę wykonywano w trzech powtórzeniach. Dla ekstraktów 10 i 11 wykonano dodatkową serię z użyciem rozcieńczeń: 0,5; 1; 2,5; 5 i 10 mg/ml. Do 40 μ l dodano 1,96 ml etanolowego roztworu DPPH. Po upływie 30 minut przy użyciu spektrofotometru UV-VIS NICOLET-EVOLUTION 3000 wykonano pomiar absorbancji przy długości fali 515 nm. Przed każdą serią wykonano próbkę kontrolną, mierząc absorbancję czystego odczynnika przy długości fal 515 nm. W celu porównania wyników wykonano pomiary dla kwasu askorbinowego w stężeniach: 0,6; 0,4; 0,2; 0,1 i 0,05 mg/ml. Zdolność antyoksydacyjną badanych ekstraktów obliczono, korzystając ze wzoru:

$$\text{Redukcja rodnika DPPH [\%]} = [(A_k - A_b) / A_k] * 100,$$

gdzie:

A_k – absorbancja próby kontrolnej,

A_b – absorbancja próby badanej po 30 minutach.

Na podstawie sporządzonych krzywych zależności % inhibicji rodnika DPPH od stężenia ekstraktu, oznaczono IC₅₀, który wyznacza takie stężenie antyoksydantu, dla którego stężenie początkowe wolnego rodnika spada o 50%.

- 2. Metoda pomiaru właściwości chelatowania jonów żelaza (II):** metoda wykorzystuje zdolność badanej próbki do chelatowania jonów żelaza (II). W trakcie wykonywania badania do próbki ekstraktu dodaje się roztwór chlorku żelaza, a następnie wytrząsa. W celu oznaczenia żelaza, które nie uległo chelatowaniu, dodaje się roztwór ferrozyny, która z nieprzereagowanymi jonami żelaza tworzy czerwony kompleks. Próbkę bada się metodą spektrofotometryczną przy długości 562 nm. Próbka wykazująca większe właściwości chelatujące, posiada mniej intensywnej barwę powstałego kompleksu, a mierzona absorbancja osiąga niskie wartości. Metoda została opracowana przez Decquera i Welcha [6]. Do badania przygotowano próbki ekstraktów o stężeniach: 0,25; 0,5; 1; 1,25 oraz 2,5 mg/ml. W celu przeprowadzenia oznaczenia do 0,2 ml

badanego ekstraktu dodano 0,1 ml 2 mM roztworu chlorku żelaza (II), po czym wytrząsano. Następnie do próbki dodano 0,4 ml 0,25 mM ferrozyny. Próbkę inkubowano w temperaturze pokojowej przez 10 minut. Po tym czasie zmierzono absorbancje przy długości fal 562 nm. Równolegle przeprowadzono próbę kontrolną, w której ekstrakt zastąpiono 0,2 ml wody destylowanej [7]. Do obliczeń mających na celu określenie zdolności chelatowania jonów żelaza (II) przez badane ekstrakty użyto wzoru:

$$\text{Zdolność chelatowania [\%]} = [1 - (A_p/A_k)] * 100$$

gdzie:

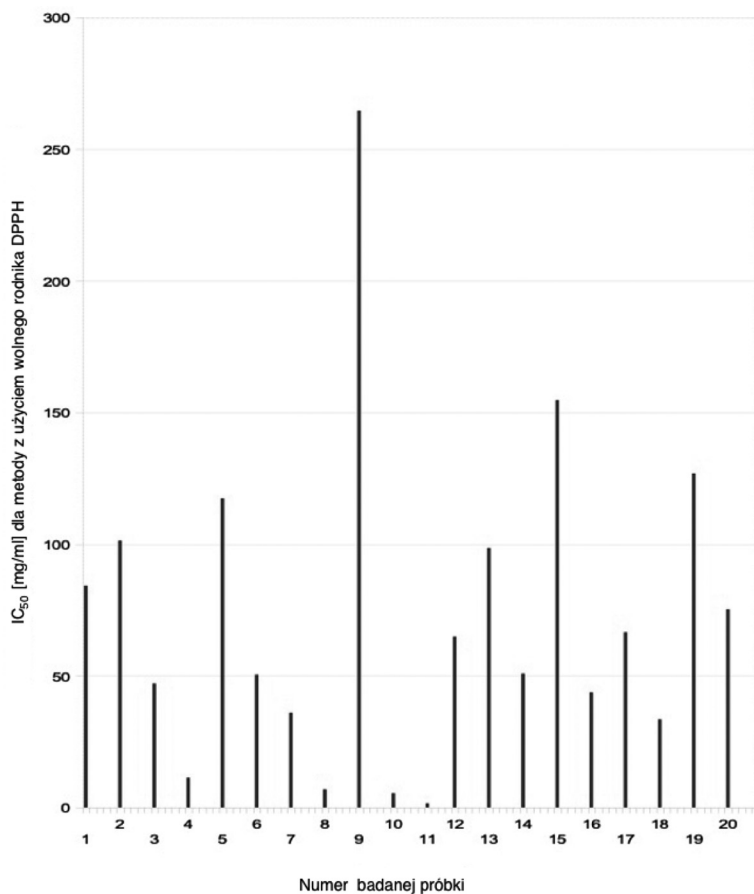
A_p – absorbancja próby badanej,

A_k – absorbancja próby kontrolnej.

Na podstawie sporządzonych krzywych zależności % zdolność badanego ekstraktu do chelatowania jonów żelaza (II) od stężenia, wyznaczono parametr IC_{50} , wyznaczający takie stężenie antyoksydantu, które wiąże 50% jonów Fe^{2+} .

Wyniki

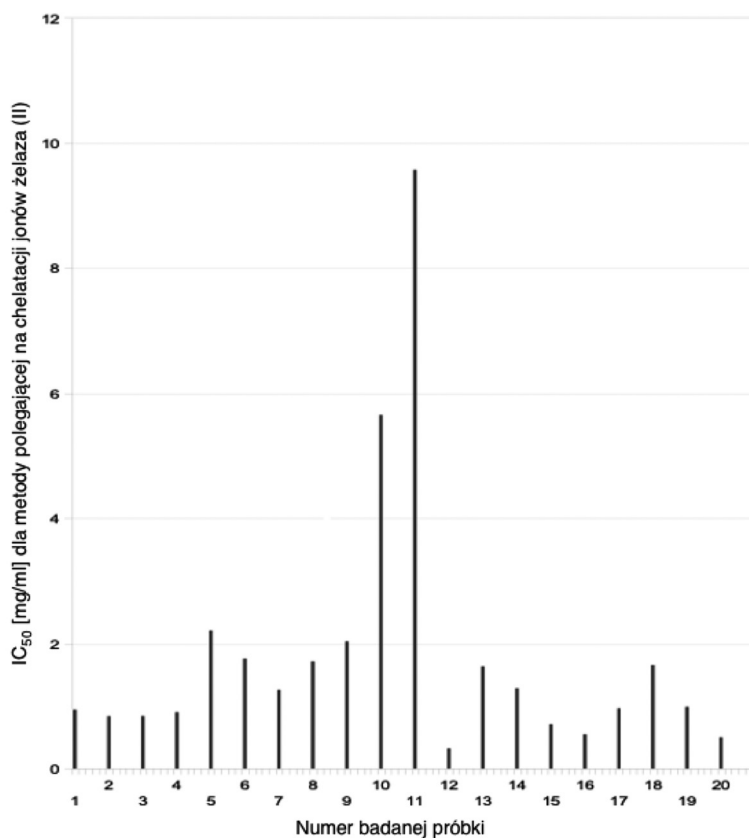
Na podstawie wyników uzyskanych z wykorzystaniem tej metody można stwierdzić, że ekstrakty ze wszystkich gatunków użytych w badaniach wykazują zdolność zmiatania wolnych rodników. Wartości IC_{50} liczone z krzywych liniowych zawierają się w zakresie: od 1,56 mg/ml do 264,52 mg/ml. Biorąc pod uwagę także obliczenia na podstawie z krzywych logarytmicznych wartości IC_{50} są zawarte w zakresie od 0,32 mg/ml do 954,43 mg/ml. Spośród przebadanych gatunków najlepszymi właściwościami do neutralizacji wolnego rodnika DPPH charakteryzują się mchy z rodziny *Polytrichopsida* (płonniki). Ekstrakty z gametofitów mchów pochodzących z tej rodziny uzyskały najniższe wyniki IC_{50} : *Politrichum juniperinum* 6,91 mg/ml, *Politrichastum formosum* 5,47 mg/ml, *Polytrichum commune* 1,56 mg/ml. Wyższą od pozostałych mchów aktywność wykazał również *Orthodicranum montanum* 11,27 mg/ml z rodziny *Dicranaceae*. Najniższą aktywność antyoksydacyjną wykazały ekstrakty z gatunków: *Polustriella commutata* (IC_{50} = 264,52 mg/ml), *Sphanum fimbriatum* (IC_{50} = 154,66 mg/ml) oraz *Pleurozium schreberi* (IC_{50} = 126,81 mg/ml). Dla porównania wartość IC_{50} dla kwasu askorbinowego wyliczona z krzywej logarytmicznej wynosi 0,1398 [mg/ml].



Wykres 1. Aktywność antyoksydacyjna wyrażona w IC_{50} [mg/ml] określona z wykorzystaniem metody z użyciem wolnego rodnika DPPH.

Figure 1. Antioxidant activity expressed in IC_{50} [mg/ml] determined using the DPPH free radical method.

Na podstawie wyników uzyskanych z wykorzystaniem tej metody można stwierdzić, że ekstrakty ze wszystkich gatunków użytych w badaniach zawierają związki chemiczne zdolne do wiązania jonów żelaza (II). Wartości IC_{50} liczone z krzywych liniowych są niskie i zawierają się w zakresie: od 0,32 mg/ml do 9,57 mg/ml. Najwyższy potencjał do chelatacji jonów żelaza wykazują ekstrakty: *Hypnum curpressiforme* oraz *Rhytidiadelphus triquetrus*, których IC_{50} wynoszą odpowiednio 0,50 mg/ml i 0,32 mg/ml. Ekstrakty z *Polustriella commutata* ($IC_{50} = 9,57$ mg/ml) oraz z *Politrichastum formosum* ($IC_{50} = 5,65$ mg/ml) wykazały najniższą aktywność ze wszystkich przebadanych ekstraktów.



Wykres 2. Zdolność wiązania jonów metali wyrażona w IC₅₀ [mg/ml] dla metody polegającej na chelatacji jonów żelaza (II).

Figure 2. Metal ion binding capacity expressed in IC₅₀ [mg/ml] for the method of chelation of iron (II) ions.

Dyskusja

W pracy badawczej wykorzystano mchy należące do trzech klas: torfowców, prątników oraz płonników. W testach przeprowadzonych z wykorzystaniem metody polegającej na zmiataniu wolnego rodnika DPPH, najniższe wyniki IC₅₀, tak więc najwyższą aktywność antyoksydacyjną, wykazały gatunki należące do klasy płonników. Ekstrakty etanolowe z gatunków należących do tej klasy przejawiały wyższą aktywność niż wszystkie pozostałe gatunki użyte w badaniach. Zakres IC₅₀ dla przedstawicieli tej klasy leży w przedziale od 1,56 mg/ml do 6,91 mg/ml. Spośród nich najwyższą aktywność wykazuje ekstrakt z *Polytrichum commune* (płonnik pospolity).

Wszystkie ekstrakty z mchów należących do klasy torfowców wykazują znacznie niższą aktywność neutralizacji wolnego rodnika DPPH. Wyniki IC_{50} dla tych gatunków mieszczą się w zakresie od 66,54 mg/ml do 154,66 mg/ml. Najwyższą aktywność w obrębie tej klasy przejawia ekstrakt z *Sphagnum palustre* (torfowiec błotny). Gatunki, które wykazały najwyższą aktywność w badaniach z wykorzystaniem metody polegającej na chelatowaniu jonów żelaza (II) należą do klasy prątników. Nie wszystkie mchy należące do tej klasy cechują się wysoką aktywnością. Niektóre z nich wykazują dość niski potencjał antyoksydacyjny na tle wszystkich przebadanych gatunków. Zakres wyników IC_{50} dla tej klasy w badaniach z wykorzystaniem metody z użyciem jonów żelaza (II) mieści się w przedziale od 0,32 mg/ml do 2,03 mg/ml. Najwyższą aktywność wśród prątników w testach za pomocą tej metody wykazał *Rhytidiadelphus triquetrus* (fałdownik szeleszczący).

Wszystkie gatunki należące do torfowców przejawiają dość wysoką aktywność antyoksydacyjną w testach z wykorzystaniem jonów żelaza (II) na tle wszystkich przebadanych gatunków, jednak niższą niż najbardziej aktywne mchy należące do prątników. Zakres wyników IC_{50} dla klasy torfowców w badaniach z wykorzystaniem tej metody mieści się w przedziale od 0,71 mg/ml do 0,96 mg/ml. Gatunkiem wykazującym najwyższą aktywność antyoksydacyjną wśród torfowców w testach polegających na chelatowaniu jonów żelaza jest *Sphagnum fimbriatum* (torfowiec frędzlowany). Najniższą aktywnością w testach z wykorzystaniem jonów żelaza (II) na tle innych mchów wykorzystanych w badaniach cechują się płonniki. Zakres wyników IC_{50} dla klasy płonników w badaniach z wykorzystaniem tej metody mieści się w przedziale od 1,71 mg/ml do 9,57 mg/ml. Gatunkiem wykazującym najwyższą aktywność antyoksydacyjną w tej klasie w testach polegających na chelatowaniu jonów żelaza jest *Polytrichum juniperinum* (płonnik jałowcowaty).

Zastanawiający jest fakt, że wyniki uzyskane z wykorzystaniem metody polegającej na zmiataniu wolnego rodnika DPPH nie przekładają się na wyniki otrzymane w testach z użyciem jonów żelaza (II). Gatunki należące do płonników cechowały się bardzo wysoką aktywnością w testach z wolnym rodnikiem DPPH, jednocześnie wykazując najniższe aktywności spośród przebadanych gatunków w testach polegających na chelatowaniu jonów żelaza (II). Torfowce natomiast przejawiały dość wysoką aktywność w testach z jonami żelaza, przy niskim potencjale w testach polegających na zmiataniu wolnego rodnika DPPH. Z otrzymanych danych wynika, że ekstrakty, które wykazują wybitny potencjał antyoksydacyjny w testach z użyciem DPPH w porównaniu z innymi, posiadają najniższą zdolność redukcji jonów żelaza (II). Przykładowo *Polytrichum commune* (płonnik pospolity) wykazał najwyższą aktywność spośród wszystkich 20 gatunków w badaniach zdolności zmiatania wolnego rodnika DPPH ($IC_{50} = 1,56$ mg/ml), jednocześnie cechując się najniższym potencjałem w pomiarach potencjału chelatowania jonów żelaza ($IC_{50} = 9,57$ mg/ml).

Badania przeprowadzone w 2008 r. na Uniwersytecie Wiedeńskim w Department of Chemical Ecology and Ecosystem Research wykazały aktywność antyoksydacyjną czterech gatunków mchów, w tym *Polytrichum formosum* oraz *Pleurozium schreberi*. Do określenia potencjału antyoksydacyjnego wykorzystano metody spektrofotometryczne: redukcję jonów żelaza (III) do żelaza (II), testy zdolności neutralizacji tlenku azotu (NO), NSSOH (Nonsite-specific Hydroxyl radical-mediated 2-deoxy-d-ribose Degradation) oraz SSOH (Site-specific Hydroxyl Radical-mediated 2-deoxy-d-ribose Degradation). Oprócz testów spektrofotometrycznych zastosowano cykliczną voltarometrię. Wyniki testów dotyczących *Polytrichum formosum* oraz *Pleurozium schreberi* prezentują się następująco:

Tabela 2. Porównanie wyników badań ekstraktów etanowych z *Polytrichum formosum* i *Pleurozium schreberi* przeprowadzonych pięcioma różnymi metodami w 2008 r. na Uniwersytecie Wiedeńskim w Department of Chemical Ecology and Ecosystem Research.

| | IRP [mg/g] | CV [mg/g] | NO [mg/ml] | NSSOH [mg/ml] | SSOH [mg/ml] |
|-----------------------------|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| <i>Polytrichum formosum</i> | 48,859 +/-12,086 | 7,553 +/-1,688 | 0,029 +/-0,001 | >2000 | 0,065 +/-0,006 |
| <i>Pleurozium schreberi</i> | 2,061 +/-0,352 | 6,808 +/-1,576 | 0,728 +/-0,158 | 0,845 +/-1,316 | 0,439 +/-0,203 |

Etanolewe ekstrakty z *Polytrichum formosum* wykazały wysoką aktywność na tle innych ekstraktów wykorzystanych w badaniach. *Pleurozium schreberi* cechował się niską aktywnością na tle pozostałych gatunków użytych w badaniach [1]. Wyniki przedstawione w niniejszej pracy potwierdzają potencjał antyoksydacyjny *Polytrichum formosum* oraz *Pleurozium schreberi* wykazany w badaniach z 2008 roku. Otrzymane wartości IC_{50} potwierdzają również wyższą aktywność antyoksydacyjną ekstraktów z *Polytrichum formosum* od ekstraktów z *Pleurozium schreberi*.

W roku 2014 w Katedrze i Zakładzie Botaniki na Uniwersytecie Medycznym w Lublinie przeprowadzono badania dotyczące właściwości antyoksydacyjnych mchów występujących w Polsce, w tym gatunków *Hypnum cupressiforme* oraz *Polytrichum formosum*. W pracach wykorzystano ekstrakty metanolewe, które poddano testom z wykorzystaniem wolnego rodnika DPPH oraz jonów żelaza (II). Do badań użyto surowiec pozyskany w okresie wiosennym, letnim i jesiennym. Wszystkie przeprowadzone badania potwierdziły właściwości antyoksydacyjne *Hypnum cupressiforme* oraz *Polytrichum formosum*. We wszystkich testach *Polytrichum formosum* wykazywał wyższy potencjał antyoksydacyjny niż *Hypnum cupressiforme* [8, 9]. Ponieważ testy zdolności neutralizacji wolnego rodnika DPPH w niniejszej pracy przeprowadzono metodą identyczną z wykorzystaną w 2014 roku, istnieje możliwość porównania otrzymanych wartości IC_{50} :

Tabela 3. Porównanie wartości IC_{50} uzyskanych w testach zdolności neutralizacji wolnego rodnika DPPH w 2014 roku w Katedrze i Zakładzie Botaniki Uniwersytetu Medycznego w Lublinie z wartościami IC_{50} przedstawionymi w niniejszej pracy.

| | Ekstrakt metanolowy z mchów wiosennych (2014) | Ekstrakt metanolowy z mchów letnich (2014) | Ekstrakt metanolowy z mchów jesiennych (2014) | Ekstrakt etanolowy z mchów letnich (2016) |
|-----------------------------|---|--|---|---|
| <i>Polytrichum formosum</i> | 12,82 mg/ml | 15,32 mg/ml | – | 5,47 mg/ml |
| <i>Hypnum cupressiforme</i> | 84,99 mg/ml | 169,12 mg/ml | 62,51 mg/ml | 75,27 mg/ml |

Warto zwrócić uwagę na fakt, że ekstrakty etanolowe użyte w tej pracy (2016), wykonane z surowca zebranego w okresie letnim, wykazują wyższy potencjał antyoksydacyjny niż ekstrakty metanolowe z tego samego okresu w badaniach przeprowadzonych w 2014 r. Może to świadczyć o tym, że użycie etanolu jako rozpuszczalnika w trakcie ekstrakcji zwiększa stężenie substancji o charakterze antyutleniającym w ekstrakcie, w stosunku do zastosowania metanolu. Istnieje możliwość, że różnice w aktywności ekstraktów wynikają z tego, że surowiec był pozyskany w różnych latach, różniących się, np. warunkami atmosferycznymi. Wyniki badań przeprowadzonych z wykorzystaniem metody polegającej na chelatowaniu jonów żelaza (II) są trudne do porównania, ponieważ w pracach z 2014 roku użyto innych proporcji odczynników i ekstraktu niż w tej pracy. Wartości IC_{50} otrzymane w badaniach z 2014 r. prezentują się następująco:

Tabela 4. Porównanie wartości IC_{50} uzyskanych w testach zdolności chelatowania jonów żelaza (II) w 2014 roku w Katedrze i Zakładzie Botaniki Uniwersytetu Medycznego w Lublinie.

| | Ekstrakt metanolowy z mchów wiosennych (2014) | Ekstrakt metanolowy z mchów letnich (2014) | Ekstrakt metanolowy z mchów jesiennych (2014) |
|-----------------------------|---|--|---|
| <i>Polytrichum formosum</i> | 6,70 mg/ml | 19,20 mg/ml | – |
| <i>Hypnum cupressiforme</i> | – | 106,51 mg/ml | 40,52 mg/ml |

Wartości IC_{50} przedstawione w niniejszej pracy dla testów z wykorzystaniem metody opartej na chelatowaniu jonów żelaza (II) wynoszą 5,65 mg/ml dla ekstraktu etanolowego *Polytrichum formosum* oraz 0,50 mg/ml dla ekstraktu etanolowego *Hypnum cupressiforme*. Mimo różnic w przeprowadzonych testach, analizując

procedurę przeprowadzonych badań oraz otrzymane wyniki, możemy stwierdzić, że ekstrakty etanolowe z *Polytrichum formosum* i *Hypnum cupressiforme* badane w 2016 roku wykazały wyższą aktywność od ekstraktów metanolowych z tych samych mchów badanych w 2014 roku. Wyniki testów chelatowania jonów żelaza (II) przez ekstrakty metanolowe z mchów przeprowadzonych w 2014 roku sugerują wyższą aktywność *Polytrichum formosum* od *Hypnum cupressiforme*. Wartości IC_{50} uzyskane przy użyciu tej metody, przedstawione w niniejszej pracy, nie potwierdzają tej zależności: ekstrakty etanolowe z *Hypnum cupressiforme* wykazały wyższą aktywność od ekstraktów z *Polytrichum formosum*. Wyniki przedstawione w tej pracy potwierdzają właściwości antyoksydacyjne wykazane w badaniach przeprowadzonych 2014 r. w Katedrze i Zakładzie Botaniki na Uniwersytecie Medycznym w Lublinie. Wartości IC_{50} przedstawione w tej pracy, zarówno dla metody z wykorzystaniem wolnego rodnika DPPH, jak i jonów żelaza (II), wskazują na wyższy potencjał antyoksydacyjny *Polytrichum formosum* i *Hypnum cupressiforme* niż wyniki z 2014 roku. Być może za różnice w wynikach odpowiada inna metoda ekstrakcji: w tej pracy wykorzystano ekstrakty etanolowe, w poprzednich zaś metanolowe.

W ostatnich latach w czasopiśmie naukowych opublikowano szereg badań dotyczących potencjału biologicznego ekstraktów z różnych gatunków mchów, w tym ich aktywności antyoksydacyjnej [10-15]. W 2018 roku zespół badawczy pod kierownictwem Mohandasa opublikował pracę badawczą opisującą wykazane właściwości mchu *Thuidium tamariscellum*. W celu określenia aktywności antyoksydacyjnej ekstraktów z tej rośliny, podobnie jak w przeprowadzonych przez autorkę tej pracy badaniach, wykorzystano test DPPH oraz określono ich zdolność do chelatowania metali. Potencjał antyoksydacyjny badanych próbek był porównywalny z syntetycznym askorbinianem zastosowanym jako próba kontrolna. Określono również poziom terpenoidów w *Thuidium tamariscellum*, który okazał się bardzo wysoki. Z tą właśnie grupą substancji fitochemicznych powiązano aktywność antyoksydacyjną ekstraktów [13]. Zespół pod kierownictwem Mandića w 2021 roku przeprowadził badania dotyczące składu fitochemicznego mchu *Hedwigia ciliata*. W trakcie testów został również określony ich potencjał przeciwutleniający. Ekstrakty z badanej rośliny przygotowano przy użyciu rozpuszczalników o różnej polarności. Charakterystyka chemiczna ekstraktów wykazała obecność związków fenolowych i flawonoidowych oraz triterpenoidowych. Znaczące właściwości przeciwutleniające wszystkich ekstraktów wykazano w teście z wykorzystaniem β -karotenu. Największą aktywność stwierdzono dla ekstraktu woda:etanol, ze współczynnikiem inhibicji na poziomie 96% [14]. W 2022 roku grupa badaczy pod kierownictwem Ondera przebadła skład fitochemiczny oraz aktywność przeciwutleniającą ekstraktów eterowych z mchów *Plagiomnium ellipticum* oraz *Antitrichia californica*. Ekstrakty z *P. ellipticum* zawierały najwyższą zawartość flawonoidów

($52,41 \pm 0,52$, ekwiwalent rutyny- mg RE/g ekstraktu), natomiast z *A. californica* cechowały się wyższą całkowitą zawartością fenoli ($25,84 \pm 0,23$, ekwiwalent kwasu galusowego- mg GAE/g ekstraktu). Próbkę z gatunku *A. californica* wykazały największą zdolność chelatowania metali z wartościami $51,46 \pm 0,26$ (mg EDTA/g ekstraktu) [15]. Zebrane dane literaturowe, w kontekście przeprowadzonych przez autorkę pracy badań, wskazują na duży, słabo obecnie poznany potencjał fitochemicznych mchów. Celowe jest przeprowadzenie badań dotyczących zależności pomiędzy rodzajem użytego do ekstrakcji rozpuszczalnika, a potencjałem antyoksydacyjnym ekstraktów z mchów.

Wnioski

Przeprowadzone badania wykazały potencjał antyoksydacyjny 20 gatunków mchów. Wszystkie ekstrakty odznaczały się zarówno zdolnością do neutralizacji wolnego rodnika DPPH, jak i wiązania jonów żelaza (II). Najwyższy potencjał neutralizacji wolnego rodnika DPPH wykazały mchy z rodziny *Polytrichopsida*: *Politrichum juniperinum*, *Politrichastum formosum*, *Polytrichum commune*. Najwyższą aktywnością pod względem chelatowania jonów żelaza cechowały się ekstrakty z *Hypnum cupressiforme* oraz *Rhytidiadelphus triquetrus*. W testach nie zaobserwowano zbieżności aktywności wolnego rodnika z aktywnością do chelatowania jonów żelaza (II) dla badanych gatunków.

Podziękowania

Chciałabym podziękować za wsparcie merytoryczne prof. Helenie Smolarz – promotorce pracy magisterskiej, na podstawie której powstał artykuł badawczy.

Literatura

- [1] Chobot V., Kubcova L., Nabbout S., Jahoda 'r L., Hadacek F., Evaluation of Antioxidant Activity of Some Common Mosses, *Z. Naturforsch*, 2008, 63, s. 476-482.
- [2] Wawrzyniak A., Krotki M., Stoparczyk B., Właściwości antyoksydacyjne owoców i warzyw, *Medycyna Rodzinna*, 2011, 1, s. 19-23.
- [3] Cybul M., Nowak R., Przegląd metod stosowanych w analizie właściwości antyoksydacyjnych wyciągów roślinnych, *Herba Polonica*, 2008, 54(1), s. 68-69.
- [4] Plášek V., Mszaki w lasach. Przewodnik terenowy dla leśników i taksatorów, Centrum Informacyjne Lasów Państwowych, Warszawa 2013.
- [5] Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C., *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 1995, 28, s. 25-30.
- [6] Decker E., Welch B., Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food, *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 1990, 38, s. 674.

- [7] Chai T., Mohan M., Ong H., Wong F., Antyoxidant, Iron-chelating and Anti-glucosidase Activities of *Typha domingensis* Pers (Typhaceae), *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2013, 13(1), s. 67-72.
- [8] Młynarska J., Właściwości antyoksydacyjne wybranych gatunków roślin niższych. Praca magisterska UM Lublin 2014.
- [9] Tryłowski M., Wpływ terminu zbioru na właściwości antyoksydacyjne mszaków. Praca magisterska UM Lublin 2014.
- [10] Hieu H.V., Tatipamula V.B., Killari K.N., Koneru S.T., Srilakshmi N., Ranajith S.K., HPTLC analysis, antioxidant and antidiabetic activities of ethanol extract of moss *Fissidens grandiflora*, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2020, 82(3), s. 449-455.
- [11] Valenzuela-Cobos J.D., Rodríguez-Grimón R.O., Zied D.C., Grijalva-Endara A., Garcés-Moncayo M.F., Garín-Aguilar M.E., Del Toro G.V., Chemical composition and biological properties of *Pleurotus spp.* cultivated on peat moss and wheat straw, *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 2019, s. 830-836.
- [12] Lunić T.M., Mandić M.R., Oalđe Pavlović M.M., Sabovljević A.D., Sabovljević M.S., Božić Nedeljković B.Đ., Božić B.Đ., The Influence of Seasonality on Secondary Metabolite Profiles and Neuroprotective Activities of Moss *Hypnum cupressiforme* Extracts: *In Vitro* and *In Silico* Study, *Plants*, 2022, 11(1), s. 123.
- [13] Mohandas G.G., Kumaraswamy, M., Antioxidant activities of terpenoids from *Thuidium tamariscellum* (C. Muell.) Bosch. and Sande-Lac. a Moss, *Pharmacognosy Journal*, 2018, 10(4), s. 645-649.
- [14] Mandić M.R., Oalđe M.M., Lunić T.M., Sabovljević A.D., Sabovljević M.S., Gašić U.M., Božić Nedeljković B.D., Chemical characterization and *in vitro* immunomodulatory effects of different extracts of moss *Hedwigia ciliata* (Hedw.) P. Beauv. from the Vršacke Planine Mts., Serbia, *PloS One*, 2021, 16(2), e0246810.
- [15] Onder A., Yıldız A., Cinar A.S., Zengin G., Ak G., Ozenoğlu H., The comparison of the phytochemical composition, antioxidant and enzyme inhibition activity of two moss species: *Plagiomnium ellipticum* (Brid.) T. Kop. and *Antitrichia californica* Sull., from south-west ecological region in Turkey, *Natural Product Research*, 2022, 36(10), s. 2660-2665.

Do cytowania:

Janowska S., Porównanie zdolności chelatowania jonów żelaza (II) i zmiatania wolnego rodnika DPPH przez ekstrakty z mchów, *Herbalism*, 2022 1(8), s. 59-72.

Radioprotekcyjne właściwości ekstraktów z kory sosny

Radioprotective effects of pine bark extracts

Marcin Goss^{1,2}, Iwona Wawer^{1,3}, Katarzyna Paradowska¹

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

² Komarko Sp. z o.o., 05-850 Ożarów Mazowiecki, ul. Kierbedzia 8;

³ Karpacka Państwowa Uczelnia w Krośnie, 38-400 Krosno, Rynek 1; e-mail: iwona.wawer@kpu.krosno.pl

Słowa kluczowe: radioprotekcja, technet, komórki GMK, *Pinus silvestris*, kora sosny zwyczajnej
Key words: radioprotection, technetium, GMK cells *Pinus silvestris*, pine bark

Streszczenie

Zbadano przeżywalność komórek nerek zielonej małpy (GMK) poddanych rosnącym dawkom promieniowania γ . Do hodowli komórek dodano kompleks $^{99m}\text{TcDMSA}$ (technetu ^{99m}Tc z kwasem merkaptobursztynowym, DMSA). Rozmiary zmian post-radiacyjnych oszacowano na podstawie liczenia komórek. Dodanie ekstraktów z kory zwiększyło przeżywalność komórek, w porównaniu do grupy bez dodatku radioizotopu, a zwłaszcza potraktowanej technetem bez środków ochronnych. Badania ekstraktów z sosny zwyczajnej *Pinus silvestris* i *Pinus maritima* (Pycnogenol) metodą EPR pokazały, że oba są efektywne w zmiataniu rodnika DPPH. Sugerowany mechanizm radioprotekcyjny obejmuje działanie antyoksydacyjne i przeciwrodnikowe.

Summary

Survival of GMK (green African monkey, kidney) cells exposed to increasing doses of ionising γ -radiation from $^{99m}\text{TcDMSA}$ (a complex of technetium ^{99m}Tc and dimercaptosuccinic acid) added to the culture medium) was evaluated. In order to determine the extent of post-radiation changes, the cell count was performed. Addition of bark extracts to the culture medium increased cell survival, when compared both to the group without the radioisotope and to the group treated with technetium in the absence of extract. EPR assay indicated that the extracts from *Pinus silvestris* and *Pinus maritima* (Pycnogenol) are effective DPPH radical scavengers. The suggested mechanism of radioprotection may involve antioxidant and antiradical activities.

Wstęp

Inspiracją do wykonania badań było pojawienie się na polskim rynku preparatu Pycnogenol, szeroko reklamowanego w krajach Europy Zachodniej i USA. Otrzymuje się go z kory sosny *Pinus maritima* rosnącej na wybrzeżach Zatoki Biskajskiej. Ekstrakt zawiera związki polifenolowe o silnych właściwościach antyutleniających. Jest polecany jako środek wspomagający organizm w walce ze stresem oksydacyjnym, a więc w chorobach przebiegających w stanach zapalnych. W Polsce rośnie sosna zwyczajna *Pinus silvestris* a jej kora jest traktowana jako materiał odpadowy. Istnieją jednak możliwości pozwalające na wykorzystanie jej jako materiału, np. do produkcji suplementów diety. Celem pracy było zbadanie właściwości antyoksydacyjnych i radioprotekcyjnych ekstraktów z kory sosny zwyczajnej.

Preparaty z wysoką zawartością związków polifenolowych mogą być cennym źródłem substancji, które zostały usunięte z żywności wskutek jej przemysłowego przetwarzania. Liczne publikacje dowodzą, że polifenole, np. katechiny i taniny mają szerokie spektrum działań biologicznych (wpływ na układ immunologiczny, układ krążenia krwi czy układ nerwowy). Ekstrakt z kory sosny zwyczajnej może być alternatywą dla takich preparatów, jak np. ekstrakt z pestek winogron.

W ekstraktach kory sosnowej stwierdzono występowanie wielu związków polifenolowych:

1. Flawon-3-ole (katechyna, epikatechyna i procyanidyny B1,B2,B3).
2. Flawonole (kwercetyna i jej glikozydy, taksyfolin).
3. Polimery katechin: B4-B12 i wyższe.
4. Taniny niehydrolizujące, katechinowe.
5. Taniny hydrolizujące, pochodne galoiloglukozy.
6. Kwasy fenolowe (galusowy, kawowy, chlorogenowy).

Obecność grup OH powoduje, że związki te mają właściwości redukujące. Pomiarzy względnej aktywności antyoksydacyjnej flawonoidów w stosunku do wolnych rodników, pokazały zależności od liczby i lokalizacji grup hydroksylowych w pierścieniu aromatycznym, działających jako donor jonów wodorowych lub elektronów.

Polifenole (taniny) występują we wszystkich roślinach lądowych, co pozwala przypuszczać, że ich główną rolą jest ochrona przed promieniowaniem UV; mają maksimum absorpcji przy 280 nm. Drugą prawdopodobną rolą jest ochrona rośliny przed grzybami, bakteriami i innymi patogenami.

Biologiczna aktywność garbników

Od dawna znane jest i szeroko wykorzystywane przeciwdrobnoustrojowe działanie prostych związków polifenolowych oraz polimerów (garbniki, taniny). Stwierdzono silniejsze działanie garbników hydrolizujących w porównaniu ze skondensowanymi, lecz wpływ wielkości masy cząsteczkowej związku na jego aktywność nie został opracowany.

Działanie przeciwbiegunkowe. Garbniki są stosowane w przypadkach lekkich, nieswoistych oraz ostrych biegunek. Mechanizm działania polega na powstawaniu błony koagulacyjnej, którą garbniki tworzą z białkami śluzówki uszczelniając powierzchniuo tkankę. Stwierdzono też hamowanie enzymu hialuronidazy. Działanie garbników jest specyficzne: hamujące wydzielanie i perystaltykę jelit, hamujące rozwój drobnoustrojów oraz przeciwwzapalne. Oficjalna medycyna proponuje leki typu: sallotannal lub białczan taniny (taninum albuminatum). Działanie ich polega na niszczeniu trzeciorzędowej struktury białka, efekt znany jest jako garbowanie skóry. Te same właściwości wykorzystano do ilościowego oznaczania tanin w reakcji z proszkiem skórzanym (FPV).

Działanie przeciwwirusowe. Wpływ garbników na żywotność drobnoustrojów i ich namnażanie również ma związek ze zdolnością do wiązania się z białkami. Wykazano osłabienie infekcyjności wirusów grypy działaniem polifenoli z herbaty zielonej i czarnej. Przeciwwirusowe działanie związków obecnych w herbatach wobec wirusów grypy typu A i B mają: teaflawina, procyjanidyna B2, galusan epigalokatechiny EGCG [1]. Interesujące, że molekuły dimerów (teaflawina, procyjanidyna B2) miały silniejsze działanie niż monomery katechin. Testowano liczne związki naturalne i wyciągi roślinne przeciw wirusowi HIV, m.in. te obecne w zielonej herbacie; EGCG hamuje rozwój wirusa HIV-1 [2].

Ostatnio największym problemem zdrowotnym stała się pandemia wywołana przez koronawirusy SARS-Co-V2. Ekstrakt z kory sosny śródziemnomorskiej (Pycnogenol) podawano pacjentom [3] zainfekowanym koronawirusem. Ekstrakt miał działanie przeciwwzapalne, ochronne na komórki śródbłonna w układzie oddechowym i naczyń krwionośnych. Można go polecać pacjentom do łagodzenia objawów post-COVID, ale również osobom z chorobami układu krążenia [4].

Działanie przeciwnowotworowe. W celu określenia aktywności poszczególnych związków przeprowadzono badania na kulturach linii komórkowych oraz na zwierzętach doświadczalnych, którym implantowano komórki nowotworowe. Działanie przeciwnowotworowe garbników może mieć różny mechanizm, w tym przeciwmutageny. Pokazano właściwości przeciwnowotworowe proantocyjanidyn z nasion winogron w przypadku nowotworów jelita grubego [5].

Preparaty o działaniu antyoksydacyjnym i radioprotekcyjnym

Silne właściwości antyoksydacyjne i zdolność wymiatania wolnych rodników przez związki polifenolowe spowodowały że poszukiwane są preparaty roślinne, które mogą dostarczać ich w większych ilościach.

Takim preparatem okazała się być kora sosny *Pinus maritima*, która rośnie na wybrzeżach zatoki Biskajskiej we Francji. Surowy klimat, silne wiatry, dużo słońca spowodowały, że gatunek ten nagromadza polifenole. Ekstrakt kory sosnowej (*Pinus maritima*) zawiera szereg związków polifenolowych, które można podzielić na monomery (katechina, epikatechina, taxifolin) i skondensowane flawonoidy (procyjanidyny B1, B2, B3, B7). Ekstrakt zawiera również kwasy fenolowe (kawowy, ferulowy i p-hydroksybenzoesowy). Jego skład, biodostępność i zdolności wymiatania rodników były intensywnie badane *in vitro* oraz *in vivo*. Badania kliniczne potwierdziły, że Pycnogenol ma pozytywne działanie we wspomaganiu terapii chorób o etiologii wolnorodnikowej [6].

Jednak, aby zrozumieć całość obserwowanych efektów, potrzebne są zarówno badania pojedynczych składników jak i badania całego zestawu związków polifenolowych obecnych w tym ekstrakcie. Badania składu ekstraktu metodą HPLC [7] wykazały obecność katechiny i epikatechiny, dihydrokwercetyny, a także procyjanidyn o różnym stopniu polimeryzacji, od 3 do 7, w zależności od metody ekstrakcyjnej.

Ochrona organizmu może być skuteczna, jeśli związki podane drogą pokarmową zostaną wchłonięte. Podano szczurom (+)-katechinę i (-)epikatechinę oznaczając poziom tych związków i ich metabolitów w surowicy krwi i w moczu za pomocą HPLC [8]. Okazało się, że w płynach ustrojowych są obecne głównie metabolity tych związków, w postaci glukuronianów, podczas gdy stężenie wyjściowych katechin w surowicy krwi i w moczu jest bardzo małe.

Pycnogenol o silnych właściwościach antyoksydacyjnych podano szczurom z wodą do picia przed naświetleniem ich dawką promieniowania X (154 Gy). Badania histologiczne przewodu pokarmowego pokazały, że zwierzęta dostające Pycnogenol zachowały w lepszym stanie kosmki jelitowe [9].

Działanie ochronne przed promieniowaniem jonizującym mają herbaty zielona i czarna. Skuteczne były zarówno ekstrakty, jak i poszczególne związki, np. galusan epigalokatechiny [10]. Przetestowano ochronne właściwości mieszaniny polifenoli z zielonej herbaty: EGCG, galusan epikatechiny, epigalokatechinę, i epikatechinę; podawano je myszom, które dostały dawkę promieniowania gamma [11].

Silne właściwości antyoksydacyjne ma mieszanina antocyjanin i polimerów katechinowych (tanin) obecna w owocach aronii, a także w ekstrakcie z owoców (Aronox). Badając wpływ antocyjanin aroniowych na przebieg doświadczalnej choroby popromiennej u królików, wywołanej znacznymi dawkami promieniowania jonizującego (4 Gy i 8 Gy) stwierdzono, że podanie ekstraktu zwiększało odsetek

przeżycia napromieniowanych zwierząt. Obserwowano zahamowanie nadmiernej generacji wolnych rodników, spadek liczby krwinek białych uległ zahamowaniu, co zmniejszyło objawy choroby popromiennej. Wyniki badań potwierdziły ochronne działanie antocyjanin w przypadku choroby popromiennej [12, 13] i łagodzenie jej przebiegu.

Interesujące było więc sprawdzenie, czy właściwości radioprotekcyjne wykażą też ekstrakty z kory sosny zwyczajnej zawierające monomery (katechina, epikatechina), dimery (procyjanidyny) oraz polimery katechinowe (taniny). Badanie właściwości radioprotekcyjnych związków polifenolowych może mieć duże znaczenie w ocenie ich przydatności jako fitoprotektorów.

Działanie promieniowania jonizującego na komórki

Działanie pośrednie promieniowania w środowisku wodnym polega na jonizacji wody i tworzeniu wolnych rodników. Jony i rodniki zapoczątkowują reakcje prowadzące do powstania zmian biologicznych (działanie bezpośrednie). Uważa się, że szkodenia popromienne przebiegają w kilku fazach [14]: (I) etap procesów fizycznych (ok. 10^{-16} s), w tym czasie wywoływana jest jonizacja wody, (II) etap procesów fizyko-chemicznych (ok. 10^{-6} s) – jony oddziałują z cząsteczkami wody tworząc sekwencję jonów i rodników: H^+ , OH^- , $H\bullet$ i $OH\bullet$. Wolne rodniki $H\bullet$ i $OH\bullet$ są bardzo reaktywne chemicznie, choć w większości ulegają rekombinacji w ciągu 10^{-5} - 10^{-11} sekundy, bez wywoływania skutków biologicznych.

Działanie bezpośrednie promieniowania polega na uszkodzeniu struktur komórkowych. Etap procesów chemicznych (III) trwa kilka sekund, w tym czasie produkty reakcji oddziałują z biomolekułami w komórce uszkodzając np. chromosomy lub powodując rozerwanie połączeń w biopolimerach. Utlenione produkty mogą hamować działanie niektórych mechanizmów enzymatycznych lub inicjować zmiany materiału genetycznego. Etap biologiczny (IV) – może trwać kilkadziesiąt minut, dni lub jeszcze dłużej.

Aby radioizotop emitujący promieniowanie mógł być użyty w badaniach hodowli komórek powinien łatwo wbudowywać się w badany typ komórek. Jego czas półtrwania powinien być na tyle długi, aby umożliwić podanie nuklidu i zarejestrowanie rozkładu aktywności w hodowli. Technet-99 spełnia te wymogi, jego fizyczny czas półtrwania ($T_{1/2}$) wynosi 6 godzin. Biologiczny okres półtrwania $T_{1/2b}$ (czyli naturalna prędkość eliminacji) to 1 dzień. Połączenie biologicznego i fizycznego okresu półtrwania, czyli efektywny okres półtrwania ($T_{1/2e}$) wynosi 4,8 godziny. Technet-99 jest stosowany w diagnostyce (w scyntygrafii mózgu, wątroby, nerek i tarczycy) oraz w badaniach na liniach komórkowych. Różne tkanki mają różną zdolność wychwytu związków znakowanych technetem. ^{99m}Tc -DMSA (związek kompleksowy technetu z kwasem dwumerkapto-bursztynowym) jest radiofarmaceutyką przeznaczoną głównie do diagnostyki zmian w nerkach.

Wbudowywanie się kompleksu ^{99m}Tc -DMSA w komórki pozwala zorientować się, jak przebiegają procesy metaboliczne. Stosując różne dawki promieniowania widać, jak szybko i na jaką skalę przebiega proces uszkodzenia komórek. Dodając substancje o przypuszczalnym działaniu ochronnym możemy ocenić czy mogą one zahamować rozpad komórek.

Materiał i metody

Materiał roślinny. Korę sosnową do otrzymywania ekstraktów pozyskano z różnych stanowisk w Polsce: puszcza Borecka, puszcza Piska, Pomorze i okolice Warszawy. Zebrano korę, zwaną lustrzanką z młodych gałęzi i pnia głównego. Do ekstrakcji rozdrobnionej kory wykorzystano zmodyfikowaną metodę opracowaną przez prof. Jana Oszmiańskiego z Zakładu Technologii Owoców i Warzyw Akademii Rolniczej we Wrocławiu [15].

Materiał został rozdrobniony, a następnie odważono 100 g rozdrobnionej kory, dodano do niej 50 g chlorku sodu i 500 g mieszaniny (1:4) aceton : octan etylu. Połączone składniki umieszczono w myjce ultradźwiękowej na czas 30 minut. Następnie tak uzyskany roztwór, został przesączony pod próżnią stosując lejek Buchnera (z podwójną bibułą filtracyjną średniej gęstości). W wyniku sączenia uzyskano klarowny płyn o oliwkowym zabarwieniu w ilości 306,4 g. Przesącz poddany został procesowi zagęszczania wykorzystując wyparkę próżniową, z temperaturą w łaźni do 45°C. W wyniku zagęszczania, otrzymano ciemno-oliwkowy roztwór o masie 63,1 g. Do roztworu dodano 63 g heksanu i zaobserwowano wypadanie jasnego osadu. Strącony osad odsączono próżniowo ponownie wykorzystując lejek Buchnera i podwójną bibułę filtracyjną. Odsączony osad poddany został suszeniu z wykorzystaniem wyparki próżniowej. Suszenie trwało około 20 minut, w wyniku czego otrzymano jasno kremową substancję w ilości 0,68 g. Do oznaczeń składu sporządzono naważki o gramaturze 100 mg i rozpuszczono w 50 mL metanolu.

Widma EPR rejestrowano na przyrządzie Radiopan SE/25X o częstotści 9,3 GHz, wyposażonym w komputer co umożliwiała akumulację widm i ich analizę. W testach pojemności antyoksydacyjnej zastosowano trwałe rodnik DPPH (difenyllo pikrylohydrazylu) zakupiony w firmie Aldrich. Sporządzone ekstrakty kory były odpowiednio rozcieńczane, a następnie dodawano do roztworu DPPH o stężeniu molowym $1,268 \times 10^{-3} \text{M}$ w określonej ilości. Próbkki zostały pozostawione w zaciemnionym miejscu. Dla wszystkich badanych ekstraktów czas reakcji z rodnikiem DPPH nie przekraczał 40 minut. Intensywność integralną sygnału oznaczano przez dwukrotne całkowanie. Wszystkie oznaczenia były wykonane przynajmniej 3 razy dla każdego ekstraktu.

Wytwarzanie radioizotopu. Z uwagi na krótki okres półtrwania, jego wytwarzanie na miejscu umożliwił generator radioizotopowy, czyli zestaw do sporządzania ^{99m}Tc -DMSA (produkcji amerykańskiej, Medi-Physics, Inc., Arlington Heights, Illinois).

Hodowla tkankowa. Komórki nerki doskonale wychwytyją kompleks ^{99m}Tc DMSA. Do badania została zastosowana hodowla tkankowa komórek nerki mały zielonej (*Aethiops sabei* z rodzaju *Cercopithecus*), wyprodukowana przez Wytwórnę Surowic i Szczepionek w Lublinie. Hodowle poddano inkubacji trwającej dwa dni, w temperaturze 37°C . Komórki GMK otrzymały czas na przyswojenie substancji, o potencjalnym działaniu ochronnym. Trzeciego dnia grupy hodowli podzielono na dwie podgrupy: poddane działaniu technetu (grupy T) i wzorcowe. Grupy T zostały przeniesione do pracowni radionuklidów, gdzie sporządzono roztwór ^{99m}Tc o określonej aktywności. Preparat z ^{99m}Tc -DMSA jest całkowicie jałowy i apirogenny. Do każdej próbówki z grupy T dodano ww. roztwór w ilości 1 ml. Grupy T zostały poddane inkubacji przez okres 4 dni w temperaturze 37°C . Pozostałe grupy przeniesiono do boksu jałowego i dodano po 1 ml roztworu soli fizjologicznej, a następnie również poddano inkubacji przez 4 dni. W tym czasie komórki zostały poddane działaniu promieniowania γ z technetu, a ewentualne działania ochronne dodanych do hodowli substancji mogły modyfikować wielkość zmian popromiennych w hodowli. Nie wykonywano pomiarów radioaktywności poszczególnych próbek w trakcie inkubacji, ani po zakończeniu eksperymentu, gdyż proces rozpadu radionuklidu przebiega identycznie (zależy tylko od rodzaju radionuklidu, a nie od składu próbki). Po upływie 4 dni we wszystkich hodowlach przeprowadzono liczenie komórek, z wykorzystaniem komory Bürker'a.

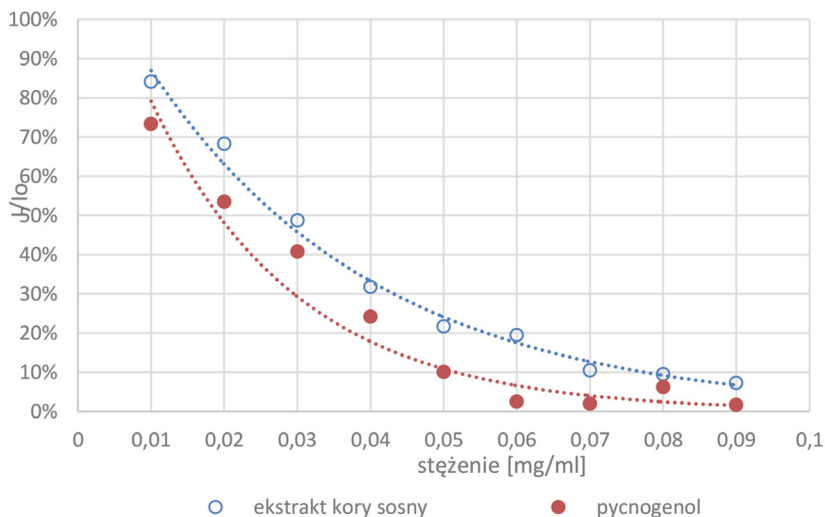
Wyniki i dyskusja

Antyoksydacyjne działanie ekstraktów z kory sosnowej

Trwały rodnik difenylopi krylohydrazylu (DPPH) wykorzystano w badaniach właściwości flawonoidów i tanin już w 1989 r. [16]. Testy właściwości antyrodnikowych ekstraktów z kory sosny z użyciem rodnika DPPH wykonano metodą EPR, rejestrując zmniejszenie intensywności sygnału pod wpływem dodatku badanych ekstraktów.

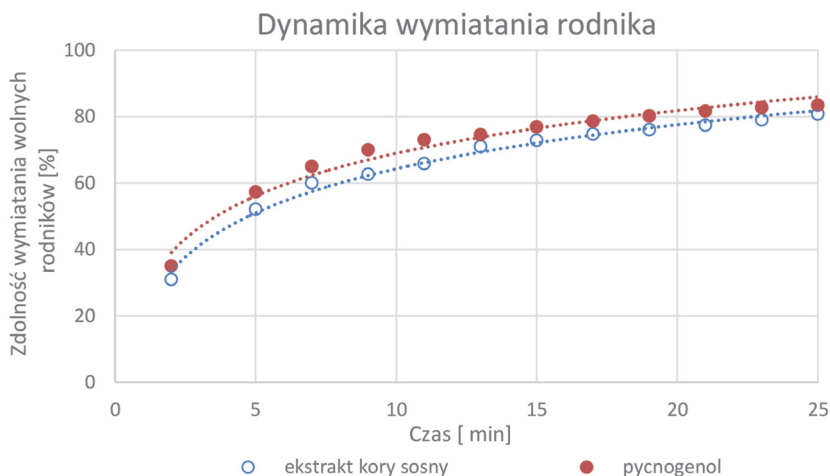
Rysunek 1 ilustruje efektywność wymiatania rodnika DPPH przez ekstrakt z kory sosny zwyczajnej oraz z sosny śródziemnomorskiej (preparat handlowy – Pycnogenol). Oba ekstrakty są podobnie skuteczne w wymiataniu rodnika, różnice są rzędu 10%. W celu szczegółowego porównania ich działania należałoby ustalić skład chemiczny obu preparatów, zarówno jakościowy jak i ilościowy.

Efektywność wymiatania rodnika w zależności od stężenia próbki [mg/ml]



Rysunek 1. Efektywność wymiatania rodnika DPPH w funkcji stężenia roztworu ekstraktu kory sosny (punkty bez wypełnienia) i Pycnogenolu (punkty z wypełnieniem).

Figure 1. The effectiveness of scavenging the DPPH radical as a function of pine bark extract solution concentration (points without filling) and Pycnogenol (points with filling).



Rysunek 2. Kinetyka reakcji rodnika DPPH ze związkami polifenolowymi w ekstrakcie kory sosny (punkty bez wypełnienia) oraz Pycnogenolu (punkty z wypełnieniem).

Figure 2. The kinetics of DPPH radical reaction with polyphenolic compounds in pine bark extract (points without filling) and Pycnogenol (points with filling).

Reakcja związków polifenolowych zawartych w ekstraktach z rodnikami DPPH trwa około 30 minut. Dynamikę wymiatania rodnika ilustruje Rysunek 2. Zarówno czas trwania reakcji, jak i efektywność wymiatania rodnika zależą od dostępności fenolowych grup OH dla rodnika. Należy spodziewać się, że wysoko molekularne katechiny będą reagować wolniej. Mechanizm reakcji spolimeryzowanych katechin z rodnikiem jest złożony i wymaga dalszych badań. Interesujące, że ekstrakt z kory sosny pospolitej okazał się prawie tak samo efektywny jak Pycnogenol – preparat opracowany przez duże zespoły naukowe z Francji i Szwajcarii.

Radioprotekcyjny efekt ekstraktów z kory sosnowej

Głównym celem badań było określenie zdolności radioprotekcyjnych ekstraktów z kory sosny *Pinus silvestris*, ale wykonano eksperymenty z dodatkiem pojedynczych związków katechiny i epikatechiny, a także katechiny z dodatkiem witaminy C. Dla porównania, oznaczono w identycznych warunkach właściwości radioprotekcyjne Pycnogenolu oraz ekstraktu z głogu i zielonej herbaty.

W badaniach zostało wykorzystane zjawisko wbudowywania się technetu w struktury komórek. Wykorzystano standaryzowane hodowle komórek GMK, które zostały odpowiednio przygotowane i potraktowane w procesie badawczym. Metoda zastosowana w pracy miała na celu ocenę przeżywalności komórek po działaniu określonej dawki promieniowania jonizującego w obecności substancji mającej charakter radioprotekcyjny. Ilościowe zobrazowanie stopnia przeżywalności komórek umożliwiło oznaczenie ich liczby w hodowli do której dodano niewielkie dawki kompleksu $^{99m}\text{TcDMSA}$. Tabela 1 zawiera liczby komórek zliczonych w kamerze (wartości średnie, wyliczone z 4 serii po 3 obliczenia na serię). Efekt radioprotekcyjny ilustruje Rysunek 3.

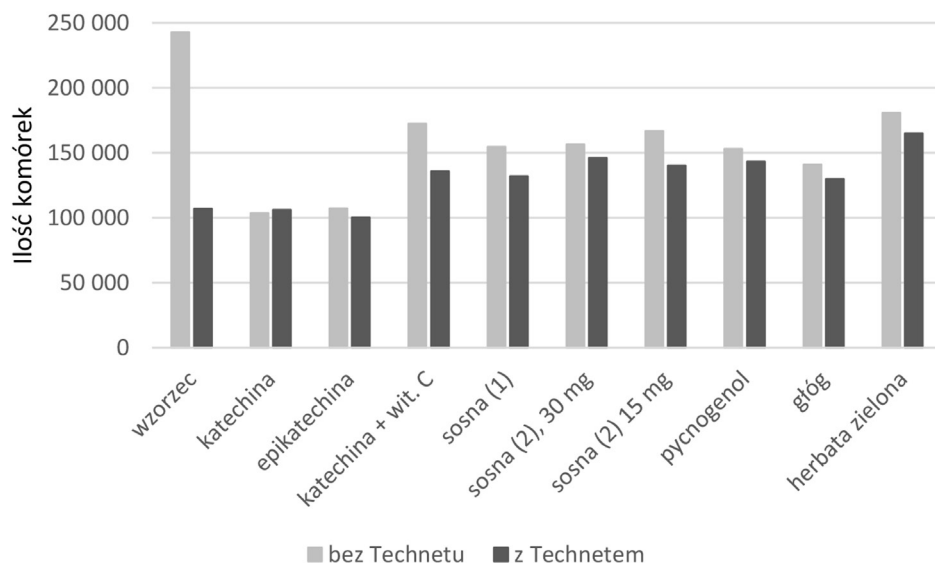
W hodowli wzorcowej z początkowej liczby prawie 250 tys. komórek po poddaniu jej promieniowaniu gamma z technetu zostało ok. 100 tys. (44%), a więc zginęła ponad połowa. Katechina ani epikatechina po podaniu ich do hodowli komórkowej nie zadziałały ochronnie, lepszy efekt obserwowano po dodaniu katechiny z witaminą C.

Warto zauważyć, że dodatek katechin i ekstraktów powoduje spadek przeżywalności komórek. Jest to naturalna odpowiedź na wprowadzenie do środowiska obcych związków, a w przypadku ekstraktów najprawdopodobniej związana z obecnością całego zestawu różnych związków. Niektóre z nich mogą być bardziej toksyczne (katechina i epikatechina) dla hodowli komórkowej, inne mniej, np. katechina z witaminą C.

Analiza danych pozwala stwierdzić, że przeżywalność komórek (wyrażona w procentach) jest zróżnicowana i zależna od zastosowanego radioprotektora. Interesujące, że naturalne ekstrakty z kory działają korzystniej niż pojedyncze związki.

Większą ochronę zapewniają ekstrakty, które w swym składzie zawierają cały zestaw przeciwutleniający, w tym także związki spolimeryzowane – procyjanidyny, taniny i wiele innych. Silniejszym właściwościom wymiatającym rodniki powinien towarzyszyć też lepszy efekt radioprotekcyjny.

Ekstrakty zawierające katechiny są w stanie chronić komórki przed reaktywnymi formami tlenu generowanymi na skutek ekspozycji na promieniowanie γ . Celowe byłoby powtórzenie eksperymentów z zastosowaniem innych metod oceny przeżywalności np. pomiarów aktywności dehydrogenazy mleczanowej lub poziomu ekspresji białka p53 i KI-67.



Rysunek 3. Ilości komórek zliczone w pomiarach właściwości ochronnych badanych ekstraktów.
Figure 3. The number of cells counted in the measurements of the protective properties of the tested extracts.

Radioprotekcyjne właściwości ekstraktów z kory sosny

Tabela 1. Liczba komórek zliczona w kamerze (wartości średnie, dla 4 serii po 3 obliczenia na serię) poddanych napromienieniu z dodatkiem ekstraktów i związków katechinowych oraz bez tych dodatków (wzorzec).

Table 1. Number of cells counted in the camera (average values, for 4 runs, 3 counts per series) exposed to irradiation with and without the addition of extracts and catechins (standard).

| Nr preparatu | badana próba | liczba komórek | badana próba + technet (Tc) | przeżywalność % |
|--------------|---------------------------|----------------|-----------------------------|-----------------|
| 1 | Wzorzec hodowla kontrolna | 242 650 | 106 758 | 44 |
| 2 | katechina | 103 500 | 105 992 | 43,6 |
| 3 | epikatechina | 107 046 | 100 242 | 41,3 |
| 4 | katechina + wit. C | 172 213 | 135 700 | 56 |
| 5 | sosna (1) | 154 579 | 131 771 | 54,3 |
| 6 | sosna (2), 30 mg | 156 304 | 145 954 | 60,1 |
| 7 | sosna (2) 15 mg | 166 558 | 140 013 | 57,7 |
| 8 | Pycnogenol | 153 046 | 143 271 | 63 |
| 9 | głóg | 140 875 | 129 854 | 53,5 |
| 10 | herbata zielona | 180 454 | 164 929 | 68 |

Podsumowanie

Ekstrakty z kory sosny zwyczajnej oraz z sosny śródziemnomorskiej (Pycnogenol) są skuteczne w wymiataniu rodnika DPPH, różnice w efektywności są rzędu 10%. Zbadano zdolności radioprotekcyjne serii surowców zielarskich zawierających związki katechinowe, w tym ekstrakty z kory sosny zwyczajnej, sosny śródziemnomorskiej, głogu i zielonej herbaty. Przeżywalność komórek poddanych działaniu $^{99m}\text{TcDMSA}$ w podobnym stopniu (do 54-68%) zwiększają ekstrakty z kory sosnowej i zielonej herbaty. Kora sosny zwyczajnej *Pinus silvestris* może być źródłem cennych związków o właściwościach antyoksydacyjnych i radioprotekcyjnych.

Literatura

- [1] Yang Z.-F., Bai L.-P., Huang W., Li X.-Z., Zhao S.-S., Zhong N.-S., Jiang Z.-H., Comparison of *in vitro* antiviral activity of tea polyphenols against influenza A and B viruses and structure-activity relationship analysis, *Fitoterapia*, 2014, 93, s. 47-53.
- [2] Yamaguchi K., Honda M., Ikigai H., Hara Y., Shimamura T., Inhibitory effects of (-)-epigallocatechin gallate on the life cycle of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1), *Antiviral Research*, 2002, 53, s. 19-34.
- [3] Weichmann F., Rohdewald P., Projected supportive effects of Pycnogenol® in patients suffering from multi-dimensional health impairments after a SARS-CoV2 infection, *International Journal Antimicrobial Agents*, 2020, 56(6), s. 106191-106200.

- [4] Enseleit F, Sudano I, Périat D, Winnik S, Wolfrum M, Flammer A.J., Fröhlich G. M., Kaiser P, Hirt A., Haile S. R., Krasniqi N., Matter C. M., Uhlenhut K., Högger P, Neidhart M., Lüscher T. F., Ruschitzka F., Noll G., Effects of Pycnogenol on endothelial function in patients with stable coronary artery disease: A double-blind, randomized, placebo-controlled, cross-over study, *European Heart Journal*, 2012, 33(13), s. 1589-1597.
- [5] Ravindranathan P, Pasham D, Balaji U., Cardenas J., Gu J., Toden S., Goel A., Mechanistic insights into anticancer properties of oligomeric proanthocyanidins from grape seeds in colorectal cancer, *Carcinogen*, 2018, 39, s. 767-777.
- [6] Rohdewald P, A review of the french maritime pine bark extract (Pycnogenol), an herbal medication with a diverse clinical pharmacology, *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2002, 40, s. 158-168.
- [7] Jerez M., Pinelo M., Sineiro J., Nunez M. J., Influence of extraction conditions on phenolic yields from pine bark: assessment of procyanidins polymerization degree by thiolysis, *Food Chemistry*, 2006, 94, s. 406-414.
- [8] Harada M., Kan Y., Naoki H., Fukui Y., Kageyama N., Nakai M., Miki W., Kiso Y., Identification of the major antioxidative metabolites in biological fluids of the rat with ingested catechin and epicatechin, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 1999, 63, s. 973-977.
- [9] de Moraes Ramos F.M., Schönlau F., Novaes P.D., Manzi F.R., Bóscolo F.N., de Almeida S.M., Pycnogenol protects against Ionizing radiation as shown in the intestinal mucosa of rats exposed to X-rays, *Phytotherapy Research*, 2006, 20(8), s. 676-679.
- [10] Uchida S., Ozaki M., Suzuki K., Mikio S., Radioprotective effects of (-)-epigallocatechin 3-O-gallate (green tea tannin) in mice, *Life Sciences*, 1992, 50, s. 147-152.
- [11] Lee H.J., Kim J.S., Moon C., Kim J.C., Lee Y.S., Jang J.S., Jo S.K., Kim S.H., Modification of gamma-radiation response in mice by green tea polyphenols, *Phytotherapy Research*, 2008, 22(10), s. 1380-1383.
- [12] Andrykowski G., Niedworok J., Maziarz Z., Małkowski B., Protective effect of natura anthocyanin dye on experimental radiation sickness, *Acta Poloniae Toxicologica*, 1998, 6, s. 155-162.
- [13] Andrykowski G., Niedworok J., Maziarz Z., Małkowski B., The effect of natura anthocyanin dye on superoxide radical generation and chemiluminescence In animal after absorber 4Gy dose of gamma radiation, *Polish Journal Environmental*, 1998, 7(6), s. 355-357.
- [14] O'Neill P, Al-Kazwini A.T., Fielden E.M., Adams G.E., Role of hydration in influencing radiation-induced damage of DNA at early times. *Radiation Research: A Twentieth Century Perspective Vol. II*, Academic Press, San Diego, 1992, s. 99-103.
- [15] Oszmiański J., Bourzeix M., Preparation of catechin and procyanidin standards from hawthorn (*Crataegus Azarolus L.*) and pine (*Pinus mesogeensis fiesch*) BARK, *Polish Journal Food and Nutrition Sciences*, 1995, 4/45(2), s. 89-96.
- [16] Yoshida T, Mori K., Hatano T., Okumura T., Ueuhara I., Komagoe K., Fujita Y., Okuda T., Studies on Inhibition Mechanism of Antioxidation by Tannins and Flavonoids. V. Radical-Scavenging Effects of Tannins and Related Polyphenols on 1.1-Diphenyl-picrylhydrazyl Radical, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1989, 3, s. 1919-1921.

Do cytowania:

Goss M., Wawer I., Paradowska K., Radioprotekcyjne właściwości ekstraktów z kory sosny, *Herbalism*, 2022 1(8), s. 73-84.

Wpływ terminu zakładania plantacji na plon i jakość nasion babki płesznik (*Plantago psyllium* L.)

Influence of the term of establishment of plantations on the yield and quality of psyllium seeds (*Plantago psyllium* L.)

Zuzanna Jakubowska, Anna Biernat, Ewa Osińska

Katedra Roślin Warzywnych i Leczniczych, Instytut Nauk Ogrodniczych, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, e-mail: zuzannalyszcz@sggw.edu.pl

Słowa kluczowe: babka płesznik, uprawa, jakość nasion, związki biologicznie aktywne

Keywords: *Plantago psyllium* L., cultivation, seed quality, biologically active compounds

Streszczenie

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu terminu zakładania plantacji na plon i jakość nasion babki płesznik. Zastosowano dwa terminy zakładania plantacji: siew wiosenny nasion (III dekada maja) oraz siew późnowiosenny (III dekada czerwca). Nasiona wysiewano w ilości $3 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$. Po zbiorze nasion określono: plon nasion z 1 m^{-2} , masę 1000 nasion i ich zdolność kiełkowania. W nasionach określono zawartość związków śluzowych, kwasów polifenolowych. Siew wiosenny nasion okazał się korzystniejszy pod względem uzyskanego plonu oraz wartości siewnej nasion. Późnowiosenny termin wysiewu nasion okazał się lepszy pod względem uzyskanej masy 1000 nasion. Zawartość kwasów polifenolowych oraz śluzów w nasionach nie zależała istotnie od terminu wysiewu nasion.

Summary

The aim of this study was to determine the effect of the plantation establishment date on the yield and quality of psyllium seeds. Used two terms of plantation establishment: planting spring seeds (third decade of May) and sowing late spring (third decade of June). Seeds were sown in an amount of $3 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$. After harvesting, the seed yield of 1 m^{-2} , weight of 1000 seeds and their germination were determined. In the seeds, contents of mucous, polyphenolic acids and were determined. Spring sowing seeds proved to be advantageous in terms of the resulting, yield of 1 m^{-2} and the value of seeds. The late spring sowing seeds date was better in terms of the resulting mass of 1000 seeds. The content of polyphenolic acids and mucilage in the seeds do not depend significantly on the date of seeds sowing.

Wprowadzenie

Psyllium jest wspólną nazwą dla kilku gatunków roślin z rodzaju *Plantago* L. Obok *Plantago psyllium* L. należy tu wspomnieć także o: *P. ovata* L., *P. asiatica* L., *P. arenaria* Waldst. i Kit. (syn. *P. indica* L.). Polska nazwa *Plantago psyllium* L. (syn. *Plantago afra*) to babka płesznik. Gatunek ten znany jest także pod innymi nazwami: pchlica, płesznik (na Lubelszczyźnie) czy pchle nasienie (na Mazowszu). Jest rośliną charakterystyczną dla flory zachodniego rejonu Morza Śródziemnego, północnej Afryki i zachodniej Azji. Znana jest od wieków na Bliskim Wschodzie. Komercyjnie uprawiana jest w południowej Francji, Hiszpanii [1], w państwach byłego Związku Radzieckiego oraz w Pakistanie i Indiach. Jednak to Indie dominują na światowym rynku w produkcji i eksporcie nasion *Psyllium* – około 39 tys. ton, co stanowi 85% udziału na rynku światowym [1, 2, 3]. W Polsce gatunek ten, pomimo iż pozyskiwany z niego surowiec (*Psylli semen*) wymieniony jest w większości dotychczas wydanych edycji Farmakopei Polskiej, jest mało popularny i uprawiany na małą skalę, ze względu na inny gatunek o podobnych właściwościach, a mianowicie len, z którego pozyskuje się siemię lniane [4].

Babka płesznik jest rośliną jednoroczną o wzniesionej, rozgałęzionej łodydze dorastającej do 40 cm wysokości, gęsto pokrytej równowąsko lancetowatymi, całobrzegimi liśćmi. Z kątów górnych liści wyrastają główkowate kwiatostany, które osadzone są na długich szypułkach. Kwiaty drobne, barwy jasnobrunatnej są wiatropylne. Owocem jest elipsoidalna torebka, z dwoma nasionami osadzonymi w jej wnętrzu. Nasiona te są jedwabiste w dotyku, jajowate lub jajowato wydłużone. Zamoczone w wodzie pęcznieją i pokrywają się śluzem [5].

Nasiona są podstawowym surowcem pozyskiwanym z babki płesznik (*P. psyllium*). Dominującym składnikiem nasion babki płesznik jest śluz (10-12%), zlokalizowany przede wszystkim w zewnętrznej błonie nasion (łupinie). Śluz ten zbudowany jest głównie z rozpuszczalnej frakcji polisacharydów, zawierającej kwaśne arabinoksylany (85%), kwas galakturonowy i ramnozę oraz palanteozę (trisacharyd zbudowany z glukozy, fruktozy i galaktozy). Obecne w nasionach polisacharydy [6] zalicza się do grupy heteroksylanów i ich struktura zbliżona jest do związków występujących w *P. ovata* i *P. asiatica*. Ponadto w surowcu tym znajduje się białko (15-20%) oraz olej tłusty (5-13%). Olej ten bogaty jest w kwasy tłuszczowe, takie jak: kwas palmitynowy, stearynowy, mirystycynowy, oleinowy, linolowy, linoleinowy, lignocerynowy, a przede wszystkim kwas arachidowy, którego nie stwierdzono w innych gatunkach z rodzaju *Plantago*. Poza tym w nasionach występują małe ilości fitosteroli (kampesterol, β -sitosterol, stigmasterol), triterpenów i aukubiny [7]. Nasiona i łuski są także naturalnym źródłem błonnika. W powłoce nasiennej znajdują się związki pęczniejące, dzięki czemu po spożyciu nasion i ich przetransportowaniu do jelita grubego zahamowana zostaje resorpcja zwrotna wody, zwiększa się objętość mas kałowych i perystaltyka jelita grubego oraz odruch defekacji [7].

Ze względu na powyższe właściwości babka płesznik znalazła zastosowanie jako środek regulujący wypróżnianie. Jako środek śluzowy i przeciwzapalny nasiona babki płesznik podaje się dla osłony w przebiegu choroby wrzodowej, w leczeniu podrażnień przewodu pokarmowego oraz w zespole jelita drażliwego. Przyjmowanie nasion wskazane jest także podczas przeprowadzania kuracji odchudzających, surowiec ten ogranicza wchłanianie tłuszczu, zmniejsza uczucie głodu oraz wpływa na przemianę materii [8]. Prowadzone pod tym kątem badania kliniczne wykazały, że wpływa on na poziom cholesterolu, znacząco obniża poziom LDL, tzw. złego cholesterolu w osoczu i zwiększa poziom HDL (dobrego cholesterolu) bez znaczących zmian stężenia triglicerydów [1, 9, 10, 11, 12]. Badania prowadzone w grupie osób z cukrzycą typu 2 wykazują z kolei, że nasiona *P. psyllium*, ze względu na dużą zawartość błonnika, efektywnie redukują poziom glukozy we krwi (o około 12%) oraz zmniejszają zawartość cukru w moczu. Ponieważ redukcja glukozy nie ma związku ze wzrostem poziomu insuliny, stosowanie babki płesznik nie powoduje wzrostu ryzyka wystąpienia chorób serca, wylewu krwi do mózgu lub nadwagi [12].

Istotną rolę nasiona babki płesznik odgrywają również jako preparaty dietetyczne. Dietetycy twierdzą, że dodawanie nasion do pożywienia może być przydatne dla osób, które borykają się z otyłością. Powodują zmniejszenie uczucia głodu oraz mniejsze wchłanianie tłuszczu. Dodatkowym plusem jest to, że uzupełniają błonnik w organizmie. Można również nasiona łączyć z produktami zbożowymi, przez co zwiększamy zawartość błonnika [13, 14, 15]. Nasiona babki płesznik są składnikiem niektórych komercyjnie przygotowanych leków przeczyszczających. Można również zakupić same nasiona do przygotowywania analogów takich leków we własnym zakresie. Preparaty z babki płesznik lub jej domieszek są także dostępne w postaci kapsułek oraz tabletek. W medycynie ludowej nasiona płesznika były i są do tej pory stosowane jako środek przeczyszczający. Działają zarówno osłaniająco, jak i powlekająco. Problemy z zaparciami likwidowane są na drodze mechanicznej i nie powodują uzależnienia. Popijane znaczną ilością płynów lub wymieszane z pożywieniem, zwiększają swoją objętość i wytwarzają śluz.

Cel i zakres pracy

Przeprowadzone badania miały na celu określenie wpływu terminu zakładania plantacji babki płesznik (dwa terminy wysiewu nasion, tj. wiosenny – maj i późnowiosenny – czerwiec) na plon oraz jakość nasion babki płesznik. Określono zarówno plon nasion oraz masę 1000 nasion, jak też zdolność ich kiełkowania. W przeprowadzonych analizach laboratoryjnych wskazano zawartość kwasów polifenolowych oraz związków śluzowych w nasionach.

Materiał i metody

Doświadczenie przeprowadzono w latach 2018-2019, w okresie od maja do września, na polu doświadczalnym Katedry Roślin Warzywnych i Leczniczych w Wilanowie, na glebie typu mada. Mada wilanowska odznacza się dużą miąższością poziomu orno-próchnicznego (do 32 cm) i wysoką zawartością próchnicy (2-2,5%). Jesienią – w roku 2017, w miejscu, gdzie zaplanowano założenie uprawy – wykonano głęboką orkę i zastosowano nawożenie potasowo-fosforowe w ilości 10,6 kg P w przeliczeniu na 1 ha, (w postaci superfosfatu potrójnego) oraz 40 kg K (w postaci soli potasowej), w przeliczeniu na 1 ha. Wiosną (połowa marca) przeprowadzono wiosenne uprawki polowe (kultywatorowanie, włókovanie) oraz zastosowano w każdym roku nawożenie azotowe w ilości 50 kg N·ha⁻¹. Materiał siewny stanowiły nasiona babki płesznik (*Plantago psyllium* L.), które zostały wysiane w ilości 3 kg·ha⁻¹. Pochodziły z Krakowskich Zakładów Zielarskich Herbapol. Plantacje zakładano poprzez wysiew nasion w dwóch terminach:

- I. siew wiosenny: 21 maja 2018 r. i 23 maja 2019 r.
- II. siew późnowiosenny: 20 czerwca 2018 r. i 24 czerwca 2019 r.

Doświadczenie zostało założone metodą bloków losowych w 3 powtórzeniach. Wielkość poletek wynosiła 3 m². Zbiór roślin przeprowadzono na przełomie sierpnia i września w fazie pełnej dojrzałości nasion. Po zbiorze rośliny zostały wysuszone w warunkach naturalnych. Następnie zostały wymłócone, a nasiona oczyszczono z resztek roślinnych.

Badane parametry:

1. Masa 1000 nasion

Z oczyszczonych nasion odliczono losowo 8 powtórzeń po 100 nasion, które były oddzielnie ważone. Masę 1000 nasion uzyskano, obliczając średnią wartość, którą pomnożono przez 10.

2. Plon nasion

Z obu terminów zakładania plantacji po zbiorze określono plon nasion z 1 m².

3. Zdolność kiełkowania nasion

Badania przeprowadzono w komorze klimatycznej firmy SANYO model MLR-350. Nasiona umieszczono na szalkach Petriego w liczbie 100 nasion na szalkę. Podłoże stanowiła podwójna bibuła filtracyjna umieszczona na szalkach. Liczba powtórzeń – 4. Kiełkowanie nasion odbywało się w kontrolowanych warunkach wilgotnościowych, świetlnych i temperaturowych. Temperatura stała (dobowa) 21°C, oświetlenie przez 24 godziny (natężenie światła: 150 μE/m²·s). Obserwacje dotyczące kiełkowania nasion przeprowadzono dwukrotnie, obserwując liczbę siewki nasion. Po dwóch tygodniach określono zdolność kiełkowania.

4. Oznaczanie zawartości śluzów

1 g nasion umieszczono w probówkach o pojemności 25 ml i zalano 1 ml etanolu i 25 ml wody. Kolejno probówki wstrząsano, każdą po 10 minut. Po 3 godzinach na skali odczytano objętość łącznie z przylegającym do probówek śluzem zgodnie z FP VI [16].

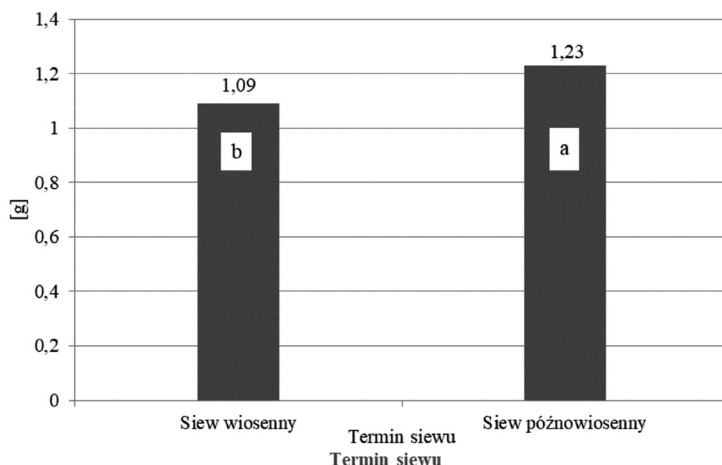
5. Oznaczanie zawartości kwasów polifenolowych wykonano zgodnie z FP VI [16], do wyciągu dodano odczynnik Arnova, po czym zawartość kwasów polifenolowych oznaczono spektrofotometrycznie.

Analiza statystyczna

Wszystkie wyniki wykonanych oznaczeń stanowią średnią z dwóch lat badań. Otrzymane wyniki opracowano statystycznie przy użyciu programu Statistica 4.1. W celu oceny różnic badanych parametrów przeprowadzono jednokierunkową analizę wariancji ANOVA. Istotność różnic między próbkami sprawdzono za pomocą poziomu HSD Tukeya (test istotności różnic) na poziomie $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Korzystniejszym terminem pod względem plonu nasion (129,3 g) okazał się termin wiosenny (maj) zakładania plantacji babki płesznik (Rysunek 1). Dane literaturowe [17] dotyczące babki jajowatej wskazują, że najwyższe plony nasion z 1 m² można także uzyskać z plantacji zakładanej w terminie majowym (91,04 ± 2,74 g).

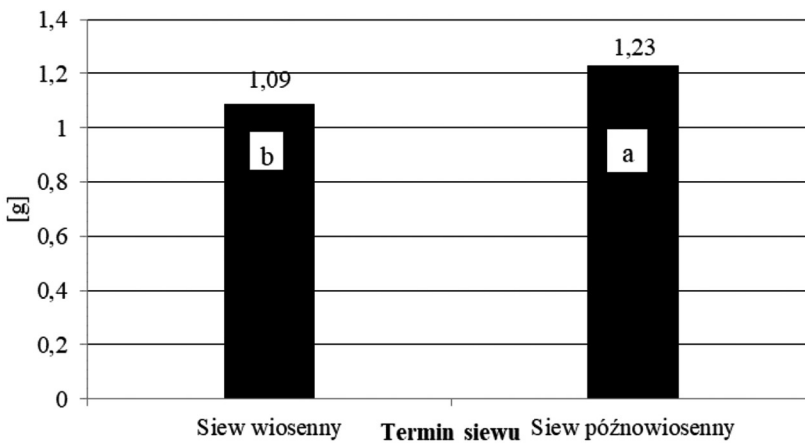


Średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się przy poziomie istotności 5%.

Rysunek 1. Plon nasion z 1 m² [g].

Figure 1. Seeds yield of 1 m² [g].

Z kolei wyższą masę 1000 nasion w tym eksperymencie określono w przypadku nasion pozyskanych z plantacji zakładanej późną wiosną – termin czerwcowy (1,23 g) (Rysunek 2). W wynikach podobnych badań dotyczących innego z gatunków z rodziny *Plantaginaceae* – *Plantago ovata* Forsk. zastosowano cztery terminy wysiewu nasion: 5 kwietnia, 20 kwietnia, 5 maja i 20 maja [17]. Autorzy tego doświadczenia stwierdzili, że niekorzystnym terminem wysiewu nasion tego gatunku jest pierwszy z nich. Zbyt wczesny wysiew nasion spowodował wystąpienie stresu w przypadku młodych roślin (zbyt niska temperatura). Najkorzystniejszym terminem w cytowanych badaniach okazał się termin trzeci, tj. 5 maja, gdyż zebrane nasiona charakteryzowały się najwyższą masą 1000 nasion ($6,20 \pm 0,04$ g).

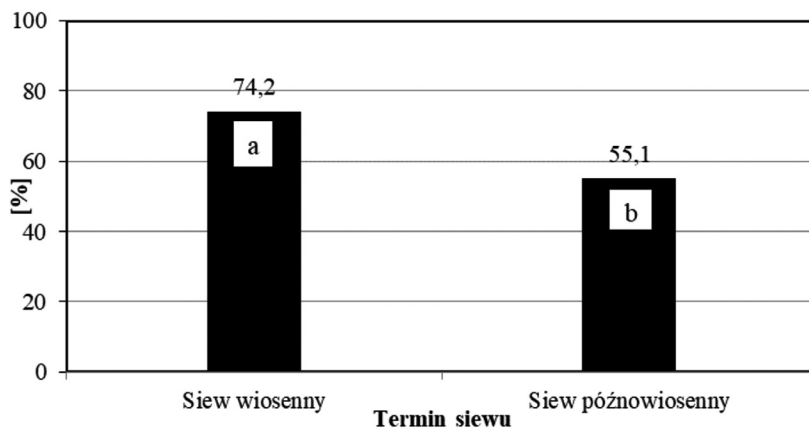


Średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się przy poziomie istotności 5%.

Rysunek 2. Masa 1000 nasion [g].

Figure 2. Weight of 1000 seeds [g].

Uzyskane wyniki wskazują, że zdolność kiełkowania nasion także istotnie zależała od terminu zakładania plantacji. Lepszą zdolnością kiełkowania charakteryzowały się nasiona z pierwszego terminu siewu (siew wiosenny) (74,2%) w porównaniu z drugim (55,0%) (Rysunek 3). W prezentowanej pracy ocenę zdolności kiełkowania nasion przeprowadzono w temperaturze 21°C. Wyniki innych badań [19] wskazują, że optymalna temperatura do kiełkowania nasion tego gatunku wynosi 19-28,8°C, natomiast inni autorzy stwierdzają wyższą zdolność kiełkowania nasiona babki płesznik w temperaturze 15-25°C (98-99%) [18].

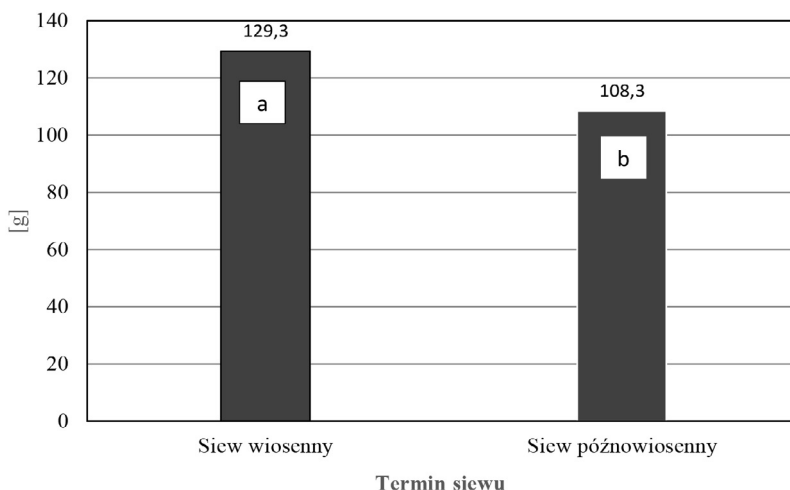


Średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się przy poziomie istotności 5%.

Rysunek 3. Zdolność kiełkowania nasion [%].

Figure 3. The ability of seeds germination [%].

Wyższą zawartością śluzów charakteryzowały się nasiona zebrane z uprawy, która zakładana była późną wiosną (9,3 wskaźnik pęcznienia) (Rysunek 4). Jednakże opracowanie statystyczne wyników nie wykazało istotnego wpływu tego czynnika doświadczenia na zawartość tych związków w nasionach. Dane literaturowe [20] pokazują, że wskaźnik pęcznienia w przypadku nasion *Plantago psyllium* wynosi powyżej 17. W badaniach przeprowadzonych przez Wyszogrodzką [21], termin wiosenny okazał się korzystniejszy pod względem zawartości śluzów.

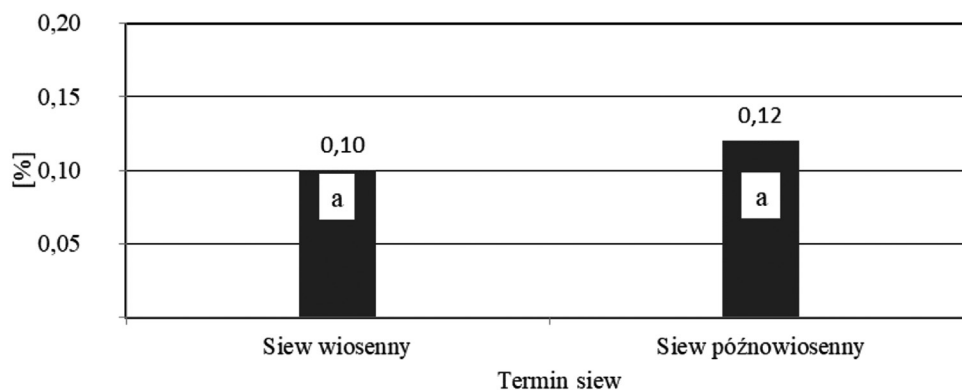


Średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się przy poziomie istotności 5%.

Rysunek 4. Zawartość śluzów w nasionach.

Figure 4. Mucilage content in seeds.

Przeprowadzone badania wskazują, iż zawartość kwasów polifenolowych w nasionach babki płesznik nie zależy od terminu zakładania plantacji. W obu przypadkach, zarówno dla terminu wiosennego, jak i późnowiosennego jest to ok. 0,1% (Rysunek 5).



Średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się przy poziomie istotności 5%.

Wykres 5. Zawartość kwasów polifenolowych w nasionach [%].

Figure 5. Polyphenolic acid content in seeds [%].

Wnioski

1. Plon nasion zależy od terminu zakładania plantacji babki płesznik. Termin wiosenny (druga dekada maja) jest korzystniejszy w porównaniu z późnowiosennym.
2. Termin zakładania plantacji ma istotny wpływ na masę 1000 nasion, odpowiedniejszym jest termin późnowiosenny (druga dekada czerwca).
3. Zdolność kiełkowania nasion zależy od terminu zakładania plantacji (korzystniejszy termin to wiosenny).
4. Zawartość związków śluzowych, kwasów polifenolowych w nasionach nie zależy istotnie od terminu zakładania plantacji babki płesznik.

Literatura

- [1] Sarihan E.O., Khwar K.M., Özcan S., Prolific adventitious shoot regeneration from black psyllium (*Plantago afra* L.) Gen. APPL, Plant Physiology, 2005, 3(1), s. 81-87.
- [2] Das M., Growth, photosynthetic efficiency, yield and swelling factor in *Plantago indica* under semi-arid condition of Gujarat, India, International Journal of Plant Physiology and Biochemistry, 2011, 3(12), s. 205-214.
- [3] Ahmadi R., Kalabasi-Ashtari S.M.T., Gharibzahedi, Physical properties of psyllium seed, Agrophysica, 2012, 26, s. 91-93.
- [4] Król D., Babka płesznik (*Plantago psyllium* L.) – wartościowa roślina lecznicza, Postępy Fitoterapii, 2009, 4, s. 256-259.
- [5] Kołodziej B., Uprawa ziół poradnik dla plantatorów, Wyd. PWRiL, 2010, s. 116-119.
- [6] Samuelsen A.B., The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review, Journal of Ethnopharmacology, 2000, 71(1-2), s. 1-21.
- [7] Lamer-Zarawska E., Kowal-Gierczak B., Niedworok J., Fitoterapia i leki roślinne, Warszawa, 2007, s. 339.
- [8] Salwen W.A., Basson M.D., Effect of four-day psyllium supplementation on bowel preparation for colonoscopy: A prospective double blind randomized trial, BMC Gastroenterology, 2004, s. 4-2.
- [9] Abraham Z.D., Metha T., Three-week psyllium husk supplementation: Effect on plasma cholesterol concentration, fecal steroid excretion, and carbohydrate absorption in men, The American Journal of Clinical Nutrition, 1988, 47, s. 67-74.
- [10] Rodriguez-Mora M., Guerrero-Romero F., Lazcano-Burciaga G., Lipid- and Glucose-Lowering Efficacy of *Plantago psyllium* in Type II Diabetes, Journal of Diabetes and its Complications, 1998, 12, s. 273-278.
- [11] Craig Winston J., Health-promoting properties of common herbs, The American Society for Clinical Nutrition, 1999, 70 (suppl), s. 491-495.
- [12] Ahmed I., Naeem M., Shakoor A., Ahmed Z., Investigation of Anti-diabetic and Hypocholesterolemic Potential of Psyllium Husk Fiber (*Plantago psyllium*) in Diabetic and Hypercholesterolemic Albino Rats, International Journal of Biological and Life Sciences, 2010, 6, s. 3.
- [13] Anonim, *Plantago ovata* (*Psyllium*), Alternative Medicine Review, 2002, 7(2), s. 155-159.
- [14] Róžański H., Nasiona płeszniaka – *Semen Psyllii* jako surowiec słuźowy, 2009, www.rozanski.cal.pl.
- [15] Aliabadi F.H., Behzad S., Kasra M., The Germination Variations in Fleawort (*Plantago psyllium* L.) by Nano-Particle, International Conference on Biotechnology, Nanotechnology and its applications, 2012, s. 17-18.
- [16] Farmakopea Polska VI, (red. Wieniawski W.), Polskie Wydawnictwo Farmaceutyczne, Warszawa, 2002, s. 886, 896.

- [17] Karimzadeh G., Omidbaigi R., Growth and Seed Characteristics of Isabgol (*Plantago ovata* Forsk) as influenced by some Environmental Factors, Journal Agriculture Science Technology, 2004, 6, s. 103-110.
- [18] Koocheki A., Tabrizi L., Nassiri Mahallati M., The effects of irrigation intervals and manure on quantitative and qualitative characteristics of *Plantago ovata* and *Plantago psyllium*, Asian Journal of Plants Sciences, 2007, 6(8), s. 1229-1234.
- [19] McNeil D.L., Duran R.S., Effect of pre-germination treatments on seedling establishment and development of *Plantago ovata* Forsk., Tropical Agriculture, 1992, 69, s. 229-234.
- [20] Sharma P.K., Koul A.K., Mucilage in seeds of *Plantago ovata* and its wild allies, Journal Ethnopharmacol, 1986, 17, s. 289-295.
- [21] Wyszogrodzka A., Charakterystyka chemiczna babki płesznik (*Plantago psyllium* L.) w warunkach uprawy. Praca magisterska. Wydz. Ogrodnictwa, Biotechnologii i Architektury Krajobrazu, SGGW w Warszawie, 2012, s. 59-62.

Do cytowania:

Jakubowska Z., Biernat A., Osińska E., Wpływ terminu zakładania plantacji na plon i jakość nasion babki płesznik (*Plantago psyllium* L.), Herbalism, 2022 1(8), s. 85-94.

Karbieńiec pospolity (*Lycopus europeus* L.) roślina o cennych walorach prozdrowotnych

***Lycopus europeus* L., a plant with valuable health-promoting qualities**

Ewa Osińska¹, Daniel Zauski², Piotr Barczak³, Wiesława Rosłon¹,
Zuzanna Jakubowska¹

¹ Katedra Roślin Warzywnych i Leczniczych, Instytut Nauk Ogrodniczych, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, e-mail: ewa_osinska@sggw.edu.pl,

² Katedra i Zakład Farmakognozji, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu,

³ Firma P.H. Royal Sp. z o.o.

Słowa kluczowe: karbieńiec pospolity, związki biologicznie aktywne, działanie i zastosowanie
Key words: common carbuncle, biologically active compounds, action and application

Streszczenie

Dzięki rozwojowi technik analitycznych i szerokiemu zaangażowaniu naukowców całego świata wzrosły znacząco możliwości efektywnego wykorzystania otaczającej nas szaty roślinnej jako źródła surowca oraz bezpiecznych, stabilnych i efektywnych leków naturalnych, w tym substancji aktywnych, stanowiących nierzadko alternatywę dla leków syntetycznych. Gatunkiem, który znajduje coraz szersze zastosowanie we współczesnej medycynie jest karbieńiec pospolity (*Lycopus europaeus* L.). Liczne badania prowadzone nad właściwościami tej rośliny na przestrzeni ostatnich lat dostarczają wciąż nowych danych, a jej surowiec (ziele) wykorzystywany w naparach jest elementem kuracji przy nadczynności tarczycy. Praca ma na celu przedstawienie informacji dotyczących składu chemicznego, działania, zastosowania oraz uprawy mało znanego gatunku zielarskiego – karbieńca pospolitego.

Summary

Thanks to the development of analytical techniques and the wide involvement of scientists from all over the world, the possibilities of effective use of the surrounding plant cover as a source of raw material and safe, stable and effective natural drugs including active substances often constituting an alternative to synthetic drugs significantly increased. A species that is increasingly used in modern medicine is common carbuncle (*Lycopus europaeus* L.). Numerous studies conducted on the properties

of this plant over the past years provide new data, and its herb used in infusions is an element of treatment for hyperthyroidism. The aim of the work is to present information on the chemical composition, operation, use and cultivation of a little-known herbal species – the common carbuncle.

Charakterystyka *Lycopus europaeus* L.

Karbieńiec pospolity (*Lycopus europaeus* L.) jest jednym z dwóch gatunków należących do rodzaju *Lycopus* (rodzina *Lamiaceae*) występujących w Polsce. Poza ww. spotkać można także karbieńca wyniosłego. Do reprezentantów rodzaju *Lycopus* zalicza się także: *Lycopus americanus* Muhl. ex W. Bart., *Lycopus amplexans* Raf., *Lycopus asper* Greene, *Lycopus cokeri* Ahles ex Sorrie, *Lycopus laurentianus* Rolland-Germain, *Lycopus rubellus* Moench, *Lycopus uniflorus* Michx., *Lycopus virginiana* L., *Lycopus* × *sherardii* Steele (pro sp.). Rośliny z tego rodzaju można rozmnażać zarówno przez wysiew nasion, jak i dzięki zakorzeniającym się płożącym pędom. Ich małe, białe kwiaty – umieszczone zazwyczaj na liściach osiowych – kwitną późnym latem. Liście są jasnozielone, spiczaste, klapowane i występują w przeciwległych parach. U części gatunków młode liście są purpurowe i zwinięte, a z czasem nabierają jasnozielonego zabarwienia. Wśród gatunków należących do rodzaju *Lycopus* występuje zróżnicowanie morfologiczne dotyczące głównie wielkości roślin, choć zwykle osiągają one nieco ponad metr wysokości [1]. *Lycopus europaeus* L. występuje na terenie niemal całej Europy oraz dużej części Azji. Jest to endemiczna roślina lecznicza porastająca brzegi wód, szuwały i inne miejsca zabagnione lub błotniste, szczególnie obszary o dużej zawartości azotu (Rysunek 1). W klasyfikacji zbiorowisk roślinnych gatunek ten charakterystyczny jest dla Cl/O/All. *Alnetea glutinosae* (olsy i zarośla łożowe) [2].

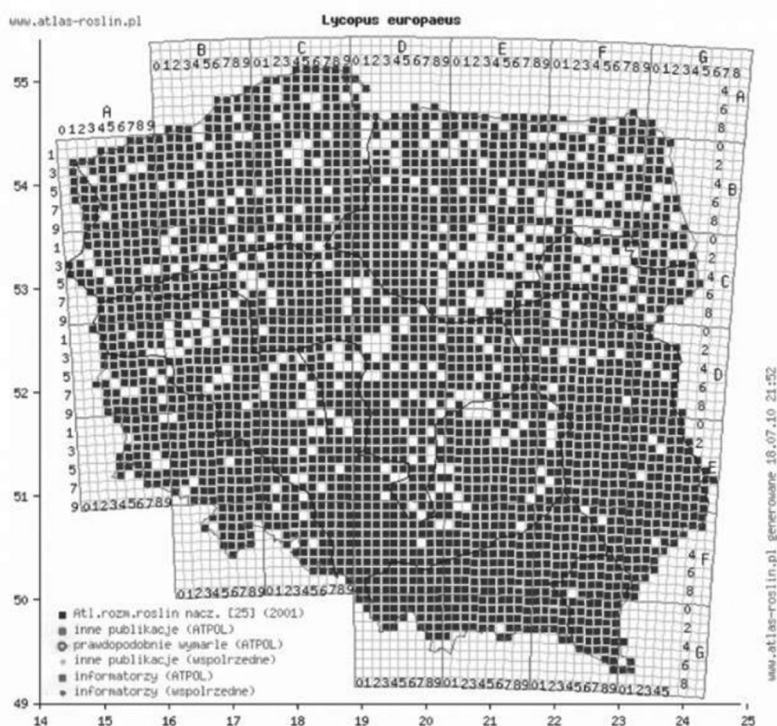


Rysunek 1. Karbieńiec pospolity rosnący nad brzegiem zbiornika wodnego [3].

Figure 1. Common carbuncle, growing on the shore of a water reservoir [3].

Karbieńiec pospolity (*Lycopus europaeus* L.) roślina o cennych walorach..

W Polsce karbieńca pospolitego można spotkać na terenach nizinnych, pogórz, w górach (Rysunek 2). Rośnie na wilgotnych łąkach, na skrajach lasów, na bagnistych nabrzeżach zbiorników wodnych itp. Najbujniej rośnie w olsach, czyli w wilgotnych lasach olszynowych, które uważane są za optymalne siedliska dla tej rośliny [4].



Rysunek 2. Mapa występowania karbieńca pospolitego w Polsce [5].

Figure 2. Map of the occurrence of the common carbuncle in Poland [5].

Karbieńiec pospolity dorasta do wysokości 120 cm. Posiada wzniesioną, gałęziastą, czworokątną łodygę i nakrzyżległe ulistnienie. Liście są szerokolancetowate do eliptrycznych, u nasady pierzastoklapowanych. Osiągają do 4 cm szerokości i 10 cm długości. W budowie są brzeźnie piłkowane lub głęboko ząbkowane (Rysunek 3). Kwitnie od czerwca do września, a od sierpnia do października owocuje. Kwiaty w gęstych nibykółkach tworzą się w kątach górnych liści. Ich korony, o długości 4-5 mm, białe i czerwoneakrapiane, podzielone są na 4-5 prawie jednakowych łatek bez wyraźnych warg. Obecne są dwa widoczne pręciki i dwa przekształcone w nitkowate pręciczki. Kielich ma 5 sztylistych ząbków, rurka gardzieli jest owłosiona. Organem podziemnym karbieńca są rozłogi i kłącza.



Rysunek 3. *Lycopus europaeus* L. – przedstawiciel rodziny *Lamiaceae* [6].

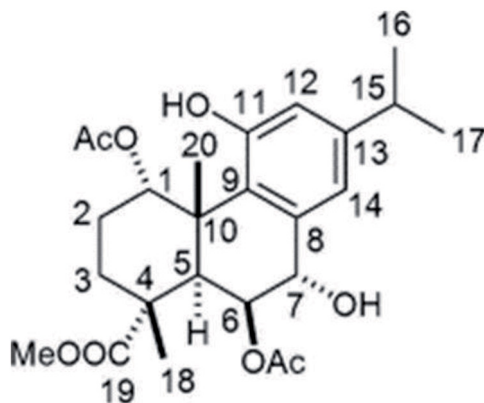
Figure 3. *Lycopus europaeus* L. – a representative of the family *Lamiaceae* [6].

Surowiec i jego skład chemiczny

Podstawowym surowcem zielarskim pozyskiwanym z karbieńca pospolitego jest ziele. Rozwinięte, ulistnione, niezdrewniałe górne części pędów zbierane są od lipca do września, a następnie suszone w miejscach zacienionych i przewiewnych. Surowiec ten jest naturalnym źródłem związków fitochemicznych, w tym wielu tanin czy lykopyny. Występują w nim również glikozydy flawonoidowe oraz kwasy fenolowe, takie jak: kwas kawowy, kwas chlorogenowy, kwas elagowy i rozmarynowy. Poza wyżej wymienionymi w wyciągach z zieleńca zidentyfikowano takie kwasy jak: 2,4-dwuhydroksybenzoesowy, gentyzowy, protokatechowy oraz 3,5-dwuhydroksybenzoesowy [7]. Kwasy polifenolowe to jedna z ważniejszych grup związków czynnych obecnych w zieleńcu. Najistotniejszym z kwasów, jakie występują w tej roślinie, jest kwas litospermowy, który spokrewniony jest z kwasem rozmarynowym (charakterystycznym dla rodziny jasnotowatych) [7]. Kwas litospermowy odpowiedzialny jest za właściwości antygonadotropowe, właściwości hepatoprotekcyjne oraz za hamowanie wytwarzania hormonu tyreotropowego, który stymuluje wydzielanie tyroksyny (hormon tarczycy).

W przypadku związków flawonoidowych – występują tu pochodne luteoliny i apigeniny, w tym 7-O- β glukozyd apigeniny, 7-O- β glukozyd luteoliny i 7-O- β -glukuronid luteoliny. Badania wykazały obecność ośmiu innych flawonoidów z grupy flawonów, flawanonów i flawanoli, tj.: 7-O- β glukozydu eriodicytolu, 7-O- β ramnozydu eriodicytolu, 7-O-neoksyperydozydu akacetyny, 7-O- β -acetylo-2-O-allonylo- β -glukozydu izoskutelareiny, 3-O-ramnozydu kwercetyny, hiperozydu, izokwercytryny i rutyny [8].

Inną grupą związków występujących w tej roślinie są diterpeny, w przypadku których ustalono strukturę 9 diterpenów izopimaranych [9, 10], w tym metylo-1 α -acetoksy-7 α 14 α -dihydrokso-8,15-izopimaradien-18-oleinian i metylo-1 α , 14 α -diacetoksy-7 α -hydrokso-8,15-izopimaradien-18-oleinian. W badaniach nad ww. grupą związków zaobserwowano, że modyfikują one oporność bakterii na wiele leków. Oprócz tego stwierdzono obecność związku dwuterpenowego, który należy do grupy abietanu [11] (Rysunek 4).



Rysunek 4. Struktura związku dwuterpenowego z grupy abietanu, występującego w *Lycopus europaeus* L. [11].

Figure 4. The structure of the diterpene compound from the abietan group, in *Lycopus europaeus* L. [11].

Badania przeprowadzone w 2020 roku w Katedrze Roślin Warzywnych i Leczniczych SGGW w ramach projektu finansowanego przez NCBiR [12] wykazały obecność w ziele karbieńca jodu, pierwiastka śladowego, który uczestniczy w procesie wytwarzania hormonów tarczycy wpływających, m.in. na rozwój i funkcjonowanie mózgu, układu nerwowego czy układu kostnego. Jego zawartość w analizowanych surowcach wynosiła od 0,41 mg/kg abs.sm do 0,53 mg/kg abs.sm. Ziele karbieńca (*Lycopiherba*) zawiera także olejek eteryczny (do 0,2%). Charakteryzuje się barwą różową i specyficznym zapachem, a jego głównymi składnikami są: limonen, γ -terpinen, p-cymen, terpinolen, octan linalilu, linalol, kamfora, octan bornylu, octan geranyru, nerol i geraniol [13]. Węglarz i Rosłon [14] podają, że olejek eteryczny występuje również w organach podziemnych tej rośliny (Tabela 1). W badaniach wykazano, że związek ten posiada zarówno umiarkowaną aktywność przeciwdrobnoustrojową, jak i antyutleniającą oraz może indukować apoptozę linii komórkowej raka wątroby i zmniejszać wewnątrzkomórkowy poziom GSH [15]. Ponadto stwierdzono, że olejek z karbieńca pospolitego wykazuje selektywność wobec dwóch szczepów bakterii Gram-ujemnych: *E. coli* i *K. pneumoniae* [11].

Tabela 1. Skład chemiczny olejku eterycznego z ziela i organów podziemnych karbieńca pospolitego [%] [14].

Table 1. Chemical composition of essential oil of herb and underground organs common caruncle [%] [14].

| Związki Compounds | Ziele Herb | Organy podziemne Underground organs |
|---|---------------|--|
| Limonen | 2,36 | - |
| Cyneol | 9,69 | 1,59 |
| γ -Terpinen | 3,23 | - |
| p-Cymen | 0,38 | - |
| Menton | 0,64 | - |
| Linalol | 0,70 | - |
| Terpinol - 4 | 1,07 | 2,38 |
| β -Kariofilen | 8,65 | 2,89 |
| α -Terpineol | 0,62 | 1,72 |
| Mentol | 0,46 | - |
| Pulegon | 0,59 | - |
| Estragol | 2,19 | - |
| Borneol | 8,16 | 2,63 |
| Piperiton | 0,88 | - |
| α -Humulen | 9,03 | 2,87 |
| Bicyclo [4,4,0] Dec-1-en, 2-isopropyl-5- methyl -9- methylene | 19,87 | 7,66 |

Działanie i zastosowanie

Tradycyjne zastosowanie ziela karbieńca obejmowało leczenie kaszlu i zaburzeń oddechowych [16]. Współcześnie ziele uważane jest za naturalne lekarstwo na bezsenność [17], stwierdzono także leczniczy wpływ wyciągów z karbieńca na zespół przedmiesiączkowy. Mają one również właściwości metaboliczne, pobudzające czynności gruczołów płciowych, przeciwbólowe, przeciwbiegunkowe, przeciwkrwotoczne i tonizujące. Właściwości lecznicze tej rośliny są związane z obecnością kwasu litospermowego oraz innych kwasów fenolowych. Wyciągi z ziela karbieńca stosowane są między innymi w leczeniu choroby Gravesa-Basedowa [18]. Aktywność ww. wyciągów zaobserwowano również w profilaktyce początkowego stadium występowania wola, w zaburzeniach przemiany materii, otyłości i zaburzeniach układu krążenia. Obecnie uważa się, że świeże i suszone ziele karbieńca hamuje przemianę jodu w tarczycy i może być stosowane w leczeniu

nadczynności tego gruczołu oraz związanych z tym zaburzeń. Za działanie takie odpowiedzialne są między innymi olejek eteryczny oraz związki fenolowe, w tym kwasy polifenolowe i flawonoidy [19].

Obecnie najbardziej cenionym działaniem wyciągów z ziele karbieńca pospolitego jest ich wpływ na hamowanie wytwarzania hormonu tyreotropowego stymulującego wydzielanie tyroksyny (hormon tarczycy), która reguluje obieg jodu w organizmie. Kwasy fenolowe występujące w ziele karbieńca odpowiedzialne są także za działanie antygonadotropowe, tj. unieczynnijające hormony przysadki mózgowej – gonadotropinę, tyreotropinę i prolaktynę, a także hormon trzustkowy – glukagon [20, 21, 22, 23].

Wyciągi z karbieńca wykazują zróżnicowane działanie na tarczycowy układ przysadkowy, a także na układ przysadkowy gonad. Etanolowy ekstrakt z karbieńca podany doustnie szczurom powodował długotrwałe (przez okres dłuższy niż 24 godziny) obniżenie poziomu FT3, przypuszczalnie w następstwie zmniejszonej obwodowej deaktywacji FT4. Wyraźną redukcję stężenia FT4 i hormonu tyreotropowego (TSH) obserwowano 24 godziny po podaniu badanego roztworu. Zmniejszenie poziomu hormonu luteinizującego (LH), jak również obniżenie TSH, które było wyraźne pomimo obniżonego poziomu FT4 i FT3. Ponadto karbieńiec pospolity wykazuje działanie normujące nadczynność hormonalną narządów płciowych. Cała roślina może być stosowana jako środek hipoglikemiczny. Liście karbieńca stosowane są jako okład oczyszczający rany [7, 24, 25].

Ze względu na wpływ na gospodarkę hormonalną, stosowanie ziele powinno odbywać się w konsultacji z lekarzem kontrolującym poziom hormonów. Leczenia nie wolno przerywać nagle, lecz przy obniżanych stopniowo dawkach, aby nie wywołać gwałtownego wyrzutu hormonów tropowych, a potem właściwych hormonów tarczycy. Nie zaleca się stosowania tego zioła kobietom w ciąży ani pacjentom z niedoczynnością tarczycy.

Uprawa karbieńca pospolitego

Obecnie ziele karbieńca pozyskiwane jest głównie ze stanowisk naturalnych, co sprawia, że zebrany surowiec jest niejednorodny i trudny do standaryzacji. Dlatego celowe wydaje się wprowadzenie tego gatunku do uprawy.

Karbieńiec pospolity ma małe wymagania termiczne, a duże wymagania wodne. Doskonale przystosowuje się do różnych warunków, ale najlepiej uprawiać go w rejonach o dużej ilości opadów. Największe zapotrzebowanie na wodę ma w okresie od maja do września.

W zimie wytrzymuje temperaturę do -20°C , ale w bezśnieżne zimy kłącza mogą wymarzać, natomiast dość dobrze znosi wiosenne przymrozki.

Pod uprawę karbieńca nadają się gleby zasobne w składniki pokarmowe. Najbardziej odpowiednie są gleby biellicowe, wytworzone z piasków gliniastych oraz z okresowo wysokim poziomem wody gruntowej. Uprawia się go na stanowisku w drugim roku lub trzecim roku po oborniku, po przedplonach pozostawiających glebę wolną od chwastów, np. okopowych, warzywach, rzepaku.

Plantację karbieńca najczęściej zakłada się przez wysiew nasion bezpośrednio do gruntu.

Nasiona wysiewa się w połowie kwietnia, w rzędy co 40 cm, na głębokość 0,5-1,0 cm, w ilości 5-7 kg/ha. Po 3-4 tygodniach ukazują się wschody.

Plantacje można też zakładać poprzez wcześniej przygotowaną rozsadę, gdy rośliny mają dobrze rozwinięty system korzeniowy i kilka par liści, w rozstawie 40 x 40 cm. Na założenie 1 ha plantacji potrzeba 62,5 tys. sztuk rozsady [26].

Z prac przeprowadzonych w Katedrze Roślin Warzywnych i Leczniczych SGGW [12] wynika, że do założenia plantacji bardzo dobrym materiałem rozmnożeniowym są również sadzonki rozłogowo-pędowe posadzone w rozstawie 40 x 60 cm. Zapewnia to optymalne warunki dla wzrostu i rozwoju roślin karbieńca pospolitego, ponieważ umożliwia silne rozrastanie się roślin. Większa rozstawa pozwala na wytworzenie większej liczby pędów wyrastających z szyjki korzeniowej, więcej pędów bocznych i wykształcenie się dużej liczby liści, co korzystnie wpływa na plonowanie.

Nawożenie plantacji

W zależności od aktualnej zasobności stanowiska, dawki nawozów mineralnych powinny wynosić: 90-120 kg N/ha (w trzech równych częściach: pierwszą – wiosną przed założeniem plantacji, drugą – po wschodach lub przyjęciu się rozsady, a trzecią po pierwszym zbiorze ziela), nawozy fosforowe (60-80 kg P_2O_5 /ha) i potasowe (80-100 kg K_2O /ha) wysiewa się jesienią a w następnych latach wczesną wiosną przed ruszeniem wegetacji.

Niezwykle ważne, zwłaszcza na glebach kwaśnych, jest wapnowanie plantacji. Wapnowanie, zgodnie za wskazówkami stacji chemiczno-rolniczej, powinno się przeprowadzić pod przedplon lub jesienią przed założeniem plantacji.

Zbiór ziela karbieńca przeprowadza się w okresie kwitnienia roślin. Pierwszy raz zbiera się pod koniec lipca, a drugi raz we wrześniu. Na plantacjach zakładanych z siewu nasion ziele zbiera się raz we wrześniu.

Surowiec suszy się w suszarniach termicznych, w temperaturze do 35°C, bądź w warunkach naturalnych [26].

Kołodziej [26] oraz Czapska i Kozłowski [4] podają, że średni plon suchego surowca z 1 hektara wynosi około 3 tony, ale w uprawie produkcyjnej – zwłaszcza przy zmiennych warunkach pogodowych (np. w okresach suszy) – plon surowca może być niższy i wynosić 1-2 tony.

Literatura

- [1] Mirek Z., Piękoś-Mirkowa H., Zając A., Zając M., Flowering plants and pteridophytes of Poland: a checklist. Krytyczna lista roślin naczyniowych Polski, Instytut Botaniki PAN im. Władysława Szafera w Krakowie, Kraków 2002.
- [2] Matuszkiewicz W., Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych Polski, Wyd. Naukowe PWN, Warszawa 2001.
- [3] Karbieńiec evropský, wikipedia, https://cs.wikipedia.org/wiki/Karbieńiec_evropský
- [4] *Lycopus europeus*, atlas-roslin.pl, https://atlas-roslin.pl/gatunki/Lycopus_europeus.htm
- [5] *Lycopus europeus* L, Flickr.com, <https://www.flickr.com/photos/agaat26/36123977394/>
- [6] Czapska A., Kozłowski J., Karbieńiec pospolity – wartościowa roślina lecznicza wprowadzona do uprawy, Wiadomości Zielarskie, 1994, 1, s. 6-7.
- [7] Fecka I., Cisowski W., Multiple gradient development TLC in analysis of complex phenolic acids from *Lycopuseuropeus* L., Chromatographia, 1999, 49(5–6), s. 256-260.
- [8] Bucar F., Kartnig T., Paschek G., Winker E., Schubert-Zsilavec M., Flavonoid glycosides from *Lycopus europeus*, Planta Medica, 1995, 61, s. 489.
- [9] Hussein A.A., Rodriguez B., de la Paz Marti 'nez-Alca 'zar M., Cano F.H., Diterpenoids from *Lycopus europeus* and *Nepeta septemcrenata*: revised structures and new isopimarane derivatives, Tetrahedron, 1999, 55, s. 7375-7388.
- [10] Gibbons S., Oluwatuyi M., Veitch N.C., Gray A.I., Bacterial resistance modifying agents from *Lycopus europeus*, Phytochemistry, 2003, 62(1), s. 83-87.
- [11] Radulovic ' N., Denic ' M., Stojanovic '-Radic ' Z., Antimicrobial phenolic abietane diterpene from *Lycopus europeus* L. (*Lamiaceae*), Bioorganic Medicinal Chemistry Letters, 2010, 20, s. 4988-4991.
- [12] Projekt „Opracowanie innowacyjnych bio-nutraceutyków na bazie karbieńca pospolitego i naturalnych źródeł jodu”, NCBiR, 2018-2021, POIR.01.01.01-00-1334/17'.
- [13] Sharipov S.N., Goryaev M.I., Khazanovich R.L., Pulatova T.P., Sharipova F.S., Essential oil from *Lycopus europeus*, Chemistry of Natural Compoundus, 1969, 5, s. 316.
- [14] Węglarz Z., Roslon W., Zmiany zawartości oraz składu chemicznego olejku eterycznego i polifenolokwasów w nadziemnych i podziemnych organach karbieńca pospolitego (*Lycopuseuropeus* L.), Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej w Krakowie, Sesja Naukowa, 1998, 57(1), s. 319-323.
- [15] Jian-Qing Y., Jia-Chuan L., Xiu-Qiao Z., Huai-Dong Y., Dai-Zhi T., Zhi-Xiong L., Guo-lin Z., Anticancer, antioxidant and antimicrobialactivities of the essentialoil of *Lycopuslucidus* Turcz. var. *hirtus*Regel., Food Chemistry, 2011, 126(4), s. 1593-1598.
- [16] Howard M., Traditional Folk Remedies, Century, 1987, s. 151.

- [17] Romero K., Goparaju B., Russo K., Westover M.B., Bianchi M.T., Alternative remedies for insomnia: a proposed method for personalized therapeutic trials, *Nature and Science Sleep*, 2017, 9, s. 97-108.
- [18] Yarnell E., Abascal K., *Botanical Medicine for Thyroid Regulation*, *Alternative and Complementary Therapies*, 2006, 12(3), s. 107-112.
- [19] Fialová, S., Slobodníková L., Veizerová L., GranČai D., *Lycopus europaeus*: Phenolic fingerprint, antioxidant activity and antimicrobial effect on clinical *Staphylococcus aureus* strains, *Natural Product Research*, 2015, 29(24), s. 2271-2274.
- [20] Auf'Molk M., Ingbar J.C., Amir S.M., Winterhoff H., Sourgens H., Hesch R.D., Ingbar S.H., Inhibition by certain plant extracts of binding and denylate cyclase stimulatory effect of bovine thyrotropin in human thyroid membranes, *Endocrinol*, 1984, 115, s. 527-534.
- [21] Auf'Molk M., Amir S.M., Kubota K., Ingbar S.H., The active principles of plant extracts with antithyrotropic activity: oxidation products of derivatives of 3,4-dihydroxycinnamic acid, *Endocrinol*, 1985, 116, s. 1677-1686.
- [22] Winterhoff H., Gumbinger H.G., Vahlensieck U., Kemper F.H., Schmitz H., Behnke B., Endocrine effects of *Lycopus europaeus* L. following oral application, *Arzneimittel-Forschung*, 1994, 44(1), s. 41-45.
- [23] Stevenson P., *Lycopusspecies and their use in thyroid dysfunction*, *Australian Journal of Medical Herbalism*, 1999, 11(1), s. 22-23, s. 26-27.
- [24] Vonhoff C., Baumgartner A., Hegger M., Korte B., Biller A., Winterhoff H., Extract of *Lycopus europaeus* L. reduces cardiac signs of hyperthyroidism in rats, *Life Sciences*, 2006, 78(10), s. 1063-1070.
- [25] Beer A.-M., Wiebelitz K.R., Schmidt-Gayk H., *Lycopus europaeus* (Gypsywort): Effects on the thyroidal parameters and symptoms associated with thyroid function, *Phyto-medicine*, 2008, 15, s. 16-22.
- [26] Kołodziej B. (red), *Uprawa ziół poradnik dla plantatorów*, Wyd. PWRiL, 2018, s. 215-218.

Do cytowania:

Osińska E., Zauski D., Barczak P., Rosłon W., Jakubowska Z., Karbieniec pospolity (*Lycopus europeus* L.) roślina o cennych walorach prozdrowotnych, *Herbalism*, 2022 1(8), s. 95-104.

Preferencje kulinarne wykorzystania roślin strączkowych w aspekcie ich właściwości prozdrowotnych

Preferences for the culinary use of legumes in terms of their health-promoting properties

Bernadetta Bienia, Anna Bogacz, Magdalena Dykiel, Barbara Krochmal-Marczak

Karpacka Państwowa Uczelnia w Krośnie, Rynek 1, 38-400 Krosno, e-mail: bernadetta.bienia@kpu.krosno.pl

Słowa kluczowe: rośliny strączkowe, wykorzystanie, właściwości prozdrowotne
Key words: legumes, utilization, health promoting properties

Streszczenie

Celem pracy było przeprowadzenie pilotażowego badania preferencji ankietowanych w zakresie kulinarne wykorzystania roślin strączkowych (bobowatych grubonasiennych) w aspekcie ich właściwości prozdrowotnych. Badania ankietowe zostały przeprowadzone wśród 120 osób, w 2021 roku na obszarze całego kraju, w formie elektronicznej z wykorzystaniem formularza Google. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że badani rzadko spożywają rośliny strączkowe, ale mają świadomość ich wysokiej wartości odżywczej i prozdrowotnej. Główną motywacją do ich spożywania jest akceptacja sensoryczna (smak) oraz możliwość przygotowywania różnorodnych dań. Najczęściej przygotowywanymi potrawami z nasion roślin strączkowych były fasola po bretońsku, zupa fasolowa lub stosowanie ugotowanych nasion jako dodatek do sałatek warzywnych. Spośród właściwości prozdrowotnych roślin strączkowych, respondenci najczęściej wskazywali na regulację pracy jelit, niski indeks glikemiczny, profilaktykę chorób serca i miażdżycy.

Summary

The purpose of the study was to conduct a pilot survey of respondents' preferences for the culinary use of legumes (broad bean crops) in terms of their health-promoting properties. The survey was conducted among 120 people, 2021 nationwide, electronically using a Google form. Based on the survey, it was found that respondents rarely consume legumes, but are aware of their high nutritional and health-promoting value. The main motive for eating them is sensory acceptance (taste) and the possibility of preparing a variety of dishes. The most common dish

prepared from legume seeds was baked beans, bean soup or the use of cooked seeds as an addition to vegetable salads. Among the health-promoting properties of legumes, respondents most often cited intestinal regulation, low glycemic index, prevention of heart disease and atherosclerosis.

Wstęp

Jednym z najstarszych produktów żywnościowych wykorzystywanych przez człowieka są nasiona roślin strączkowych. Wyróżniają się one relatywnie dużą popularnością pod względem kulinarnym w wielu krajach. Wysoka wartość odżywcza nasion roślin strączkowych jest związana z wysoką zawartością białka i węglowodanów (zwłaszcza skrobi i błonnika), a także z występowaniem zarówno składników mineralnych, m.in. cynku, potasu, magnezu, wapnia i witamin z grupy B, błonnika, jak również związków o dużej zdolności antyoksydacyjnej [1, 2, 3, 4]. Oprócz wysokiej wartości odżywczej są także oryginalne pod względem smakowym. W większości są tanie i łatwo się je uprawia [5].

Coraz częściej można spotkać się z zaleceniami, by ograniczyć ilość mięsa w diecie i zwiększyć spożycie nasion roślin strączkowych. Jest to niezwykle ważne z punktu widzenia zmniejszenia ilości nasyconych kwasów tłuszczowych, które spożywane w nadmiarze mogą być przyczyną wielu poważnych chorób. Wykorzystanie roślin strączkowych w żywieniu jest więc zgodne z modelem zrównoważonej konsumpcji. Obecnie około 42% białka spożywanego w Unii Europejskiej pochodzi z roślin, a pozostałe 58% od zwierząt (mięso, ryby, jaja i produkty mleczne). Model żywienia z niską zawartością mięsa, oparty na produktach pochodzenia roślinnego, ma mniejszy negatywny wpływ na środowisko [6, 7].

Zwiększenie spożycia roślin strączkowych jest uzasadnione nie tylko względami żywieniowymi, ale także względami społeczno-ekonomicznymi i środowiskowymi. Uprawa tych roślin jest znacznie tańsza niż produkcja mięsa, zwłaszcza jeśli chodzi o oszczędność wody i gleby, a także przyczynia się do zmniejszenia emisji gazów cieplarnianych [8]. Uprawa roślin strączkowych, ze względu na swoje właściwości, sprzyja również rolnictwu zrównoważonemu. Rośliny te są jednym z najlepszych przedplonów dla innych roślin uprawnych, ponieważ znacznie poprawiają właściwości fizyczne i żyzność gleby oraz wzbogacają ją w składniki pokarmowe, głównie w azot [9, 10].

Uprawa roślin strączkowych wspiera bioróżnorodność i tworzy bardziej zróżnicowany krajobraz dla zwierząt i owadów. Zmniejsza również ryzyko związane z wahaniami klimatycznymi i rynkowymi, na które narażeni są rolnicy. Zauważono także, że ma ona strategiczne znaczenie dla gospodarki światowej, ponieważ korzyści ekonomiczne prowadzą do bardziej zrównoważonych systemów rolniczych i poprawy bezpieczeństwa żywnościowego [11].

Strączkowe mają także właściwości prozdrowotne: wpływają na stabilizację poziomu cukru we krwi, obniżają poziom cholesterolu LDL, są jednym z podstawowych elementów diety wegetariańskiej i wegańskiej. Regularne spożywanie tych roślin ma korzystny wpływ na cały organizm [12, 5, 13].

Celem pracy było przeprowadzenie pilotażowego badania preferencji wykorzystania roślin strączkowych w aspekcie ich właściwości prozdrowotnych.

Materiał i metody badań

W badaniu zastosowano sondaż diagnostyczny z autorskim kwestionariuszem ankiety, który zawierał metryczkę uwzględniającą wiek, płeć, miejsce zamieszkania, wykształcenie oraz pytania merytoryczne związane z celem i zakresem pracy.

Badania pilotażowe zostały przeprowadzone wśród 120 osób, w 2021 roku na obszarze całego kraju, w formie elektronicznej z wykorzystaniem formularza Google.

Na podstawie odpowiedzi udzielanych przez respondentów dokonano analizy i interpretacji wyników, celem wysunięcia wniosków dotyczących preferencji, częstotliwości i form spożywania roślin strączkowych, znajomości ich właściwości prozdrowotnych czy barier ograniczających ich spożycie. Zgromadzony materiał empiryczny zebrano i przeanalizowano za pomocą arkusza kalkulacyjnego programu Microsoft Excel z pakietu Office 2010. Obliczono statystyki podstawowe (% wskazań, liczebność). Zgromadzony i przeanalizowany materiał zaprezentowano, stosując formę opisową, tabelaryczną i graficzną.

Wyniki i ich omówienie

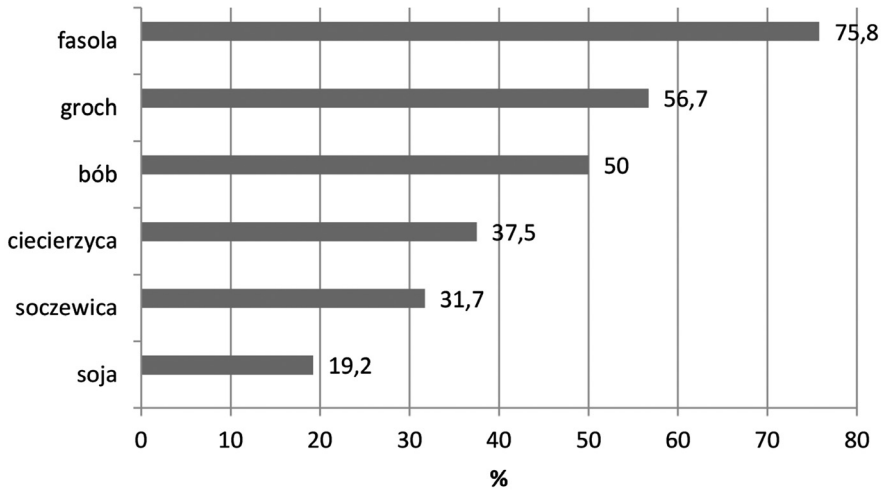
Spośród badanych respondentów 15,8% stanowili mężczyźni, a 84,2% kobiety. Pod względem wieku, najbardziej liczną grupę stanowiły osoby w wieku 18-29 lat (85%). Najmniejszy udział stanowili respondenci w wieku poniżej 18 lat (0,8%). Badani w wieku 30-39 lat stanowili 8,3%, w wieku 40-49 lat – 4,2%, zaś respondenci z przedziału wiekowego 50-59 lat stanowili 1,7%. Ponadto w badaniu nie uczestniczyły osoby w wieku powyżej 60 lat.

Zdecydowana większość badanych mieszkała w miastach powyżej 200 tys. mieszkańców (39,2%), następnymi co do liczebności byli mieszkańcy wsi (29,2%), mieszkańcy miast od 20 do 100 tys. mieszkańców (15,8%) oraz od 100 do 200 tys. (10,8%). Najmniej odpowiedzi udzielonych było przez osoby zamieszkałe w mieście poniżej 20 tys. mieszkańców (5%).

Ponad połowa badanych miała wykształcenie średnie (56,7%) lub wyższe (42,5%). Zaledwie 0,8% respondentów miało wykształcenie podstawowe. W badaniu nie uczestniczyły osoby z wykształceniem zawodowym.

56,6% respondentów mieszkało w gospodarstwie domowym 3- lub 4-osobowym. 15,8% badanych prowadziło jednoosobowe gospodarstwo domowe, zaś 27,5% gospodarstwo dwuosobowe.

Do najczęściej spożywanym roślin strączkowych należały: fasola (75,8%), następnie groch (56,7%), bób (50,0%). Ponadto badani deklarowali spożycie ciecierzycy (37,5%) oraz soczewicy (31,7%). Najrzadziej spożywanym gatunkiem była soja (19,2%) – Rysunek 1.



Rysunek 1. Rośliny strączkowe najczęściej spożywane przez respondentów.

Źródło: badania własne

Figure 1. Legumes most commonly consumed by respondents.

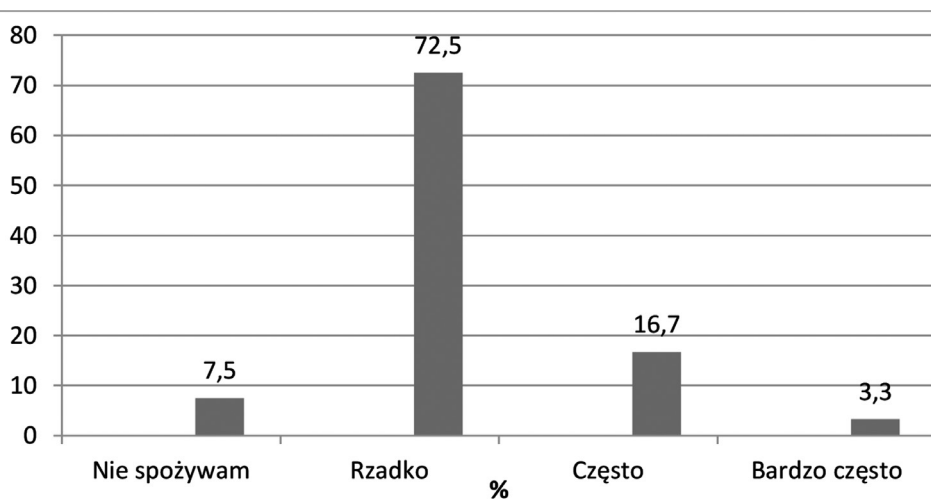
Source: own research

W badaniach Śmiślak-Krajewskiej i Wojciechowskiej-Solis [14] oraz Duarte i wsp. [15] badani najczęściej wymieniali również groch i fasolę. Soja i soczewica w badaniach auterek [14] były najbardziej popularne wśród konsumentów stosujących dietę ograniczającą produkty pochodzenia zwierzęcego oraz diety specjalne stosowane w jednostkach chorobowych. Bób był najmniej popularną rośliną wśród większości konsumentów, z wyjątkiem osób stosujących określone schematy żywieniowe. Jak dowodzą badania Śmiślak-Krajewskiej i wsp. [16] dla mieszkańców wsi, w rankingu produktów strączkowych na pierwszych czterech miejscach znalazły się groch, fasola, soczewica i soja; dla mieszkańców miast do 30 tys. mieszkańców były to odpowiednio: fasola, soja, ciecierzycza i bób; dla mieszkańców miast powyżej 30 tys. mieszkańców ranking pierwszych czterech miejsc był zupełnie odwrotny: soczewica, groch, soja i fasola. Należy zaznaczyć, że wśród mieszkańców wsi i miast powyżej 30 tys. zestaw roślin strączkowych był taki sam. Różnica dotyczyła pozycji w rankingu. Przyczyną tego może być to, że wszystkie wymienione rośliny

strączkowe są uprawiane w Polsce i są łatwo dostępne dla mieszkańców wsi, a także mieszkańców miast powyżej 30 tys. mieszkańców, gdzie większość sklepów w ofercie posiada konserwowe, suszone lub mrożone produkty strączkowe. Malczyk i Kosmaty [17] w swoich badaniach przeprowadzonych wśród młodych konsumentów z małych miast i wsi, dowodzą, że największą popularnością cieszyła się fasola, groch, a także soja.

Analizując wyniki badań Śmiglak-Krajewskiej i Wojciechowskiej-Solis [14], najczęściej wybierane produkty to produkty sojowe (np. mleko sojowe, ziarna, twaróg tofu, półprodukty, np. kotlety sojowe), następnie produkty zawierające groch (różne mrożonki i warzywa konserwowe) oraz fasolę (dania gotowe w słoikach, np. fasolka po bretońsku, produkty mrożone i suche). Najrzadziej wybieranym produktem była ciecierzycza, tj. 10% (hummus) oraz bób, ze względu na sezonowość tej rośliny w kuchni polskiej. Zgodnie z literaturą, fasola jest najczęściej spożywanym gatunkiem na świecie, stanowiącym 75% wszystkich suszonych nasion roślin strączkowych [18, 19, 20].

Większość badanych (72,5%) deklaruowała, że rzadko spożywa rośliny strączkowe. Co piąty badany jada te rośliny często lub bardzo często (Rysunek 2).



Rysunek 2. Ilość osób deklarujących spożywanie roślin strączkowych.

Źródło: badania własne

Figure 2. The number of people declaring the consumption of legumes.

Source: own research

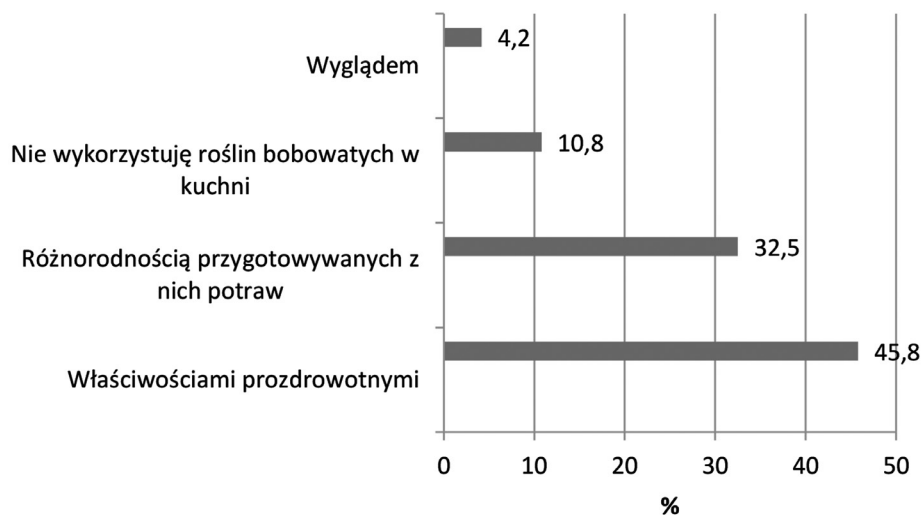
Znacznie wyższe spożycie tej grupy roślin stwierdzono w badaniach przeprowadzonych we Włoszech, gdzie 42,4% ankietowanych, w tym 38,5% studentów, spożywało rośliny strączkowe przynajmniej raz w tygodniu [21]. W badaniach wśród

polskich studentów, większość respondentów deklarowała, że spożywa nasiona roślin strączkowych rzadziej niż raz w miesiącu (44,8%) lub kilka razy w miesiącu (43,8%). Jedyne 10,5% studentów spożywało strączkowe kilka razy w tygodniu [6].

Zgodnie z Raportem World Wide Fund for Nature (WWF) [22] dotyczącym zaleceń żywieniowych czterech grup populacyjnych (dorośli, osoby starsze, dzieci, weganie) ilość spożywanych roślin strączkowych, nasion i orzechów powinna zwiększyć się z 11 do 28 g/osobę/dzień do roku 2030, co daje wzrost o 154%. Ma to na celu realizację modelu zrównoważonej konsumpcji. Badania Śmiślak-Krajewskiej i Wojciechowskiej-Solis [16] dowodzą, że średnie spożycie nasion roślin strączkowych w populacji polskiej jest stosunkowo niskie. Średnie spożycie nasion roślin strączkowych wynosiło od 1-2 razy w tygodniu do 3-4 razy w tygodniu. Z kolei w Portugalii najczęściej wykorzystywanymi nasionami roślin strączkowych były fasola i groch, spożywane co najmniej raz w tygodniu [15].

W pytaniu o wykorzystanie roślin bobowatych grubonasiennych (strączkowych) w kuchni dominowała odpowiedź twierdząca – 75% ankietowanych.

Wykorzystując rośliny strączkowe w kuchni, badani kierowali się ich smakiem (70,0%), właściwościami prozdrowotnymi (45,8%) oraz możliwością przygotowywania różnorodnych potraw (32,5%). Dla 4,2% badanych ważny był wygląd tej grupy roślin. Co dziesiąty badany odpowiedział, że nie wykorzystuje ich w kuchni (Rysunek 3).



Rysunek 3. Cechy roślin strączkowych, którymi kierują się respondenci przy ich wykorzystaniu w kuchni.

Źródło: badania własne

Figure 3. Features of legumes that respondents are guided by when using them in use in the kitchen.
Source: own research

Badania Szczybyło i wsp. [6] przeprowadzone wśród studentów wykazały, że 82% z nich spożywało nasiona roślin strączkowych ze względu na ich smak, zawarte w nich białko (31%), niską cenę (24%), łatwą dostępność (15%) i przyzwyczajenie (15%). Z kolei w badaniach Śmiglak-Krajewskiej i wsp. [16] najważniejszymi motywami zakupu i spożywania strączkowych były: smak, cena oraz fakt, że produkty te mogą stanowić alternatywę dla produktów mięsnych i zawierają dużo białka i błonnika. W badaniach wykonanych w Kanadzie, 36% respondentów wskazało na smak, a ponad połowa badanych (57%) zwracała uwagę na korzyści zdrowotne, w tym zawartość białka i błonnika, związane ze spożywaniem tych roślin [23].

Biorąc pod uwagę aspekty prozdrowotne, ze względu na które badani wykorzystują rośliny strączkowe w kuchni, spośród 14 możliwych odpowiedzi respondenci najczęściej wskazywali na: wysoką zawartość białka (42,5%) i wysoką wartość odżywczą (41,7%). Najmniej badanych wskazało na zawartość węglowodanów, wpływ na zdrowie układu sercowo-naczyniowego oraz wspomaganie odchudzania (Tabela 1).

Tabela 1. Aspekty, dla których respondenci wykorzystują rośliny strączkowe w kuchni.

Table 1. Aspects for which respondents use legumes in cooking.

| Wyszczególnienie | [%] |
|--|------|
| Mają wysoką zawartość białka | 42,5 |
| Mają wysoką wartość odżywczą | 41,7 |
| Urozmaicają dietę | 38,3 |
| Można z nich przygotować proste, sycące potrawy | 35,0 |
| Stanowią zamiennik dla mięsa | 29,2 |
| Dostarczają błonnika, który usprawnia trawienie | 20,8 |
| Zawierają sporą zawartość składników mineralnych, np. wapń, magnez, żelazo | 18,3 |
| Mają wysoką wartość energetyczną | 13,3 |
| Mają wysoki indeks sytości | 13,3 |
| Są bogate w witaminy z grupy B | 12,5 |
| Są bogate w wielonienasycone kwasy tłuszczowe | 6,7 |
| Mają wysoką zawartość węglowodanów | 5,0 |
| Nasiona roślin bobowatych korzystnie wpływają na zdrowie układu sercowo-naczyniowego | 5,0 |
| Wspomagają odchudzanie | 3,3 |

Źródło: badania własne

Najczęściej przygotowywaną przez badanych potrawą z nasion roślin bobowatych grubonasiennych jest fasola po bretońsku (48,3%). Co piąty badany gotuje zupę fasolową lub ugotowane nasiona dodaje do sałatek. Popularne wśród respondentów były także zupa grochowa, zupa krem z zielonego groszku, z soczewicy oraz kotlety z soi. Pojedyncze osoby deklarowały przygotowywanie pierogów z bobem, soczewicą oraz przygotowywanie innych potraw. Respondenci mieli możliwość wskazania kilku odpowiedzi spośród 22 możliwych (Tabela 2).

Tabela 2. Potrawy z roślin strączkowych przygotowywane przez respondentów.

Table 2. Legume dishes prepared by respondents.

| Wyszczególnienie | [%] |
|---|------|
| Fasola po bretońsku | 48,3 |
| Zupa fasolowa | 21,7 |
| Gotowane dodają do sałatek | 21,7 |
| Zupa grochowa | 15,8 |
| Kotlety z soi | 15,0 |
| Zupa krem z zielonego groszku | 12,5 |
| Pasta z czerwonej soczewicy | 11,7 |
| Zupa z soczewicy | 11,7 |
| Pierogi z soczewicą | 4,2 |
| Pierogi z bobem | 3,3 |
| Hummus, serki | 3,2 |
| Dodatek do dania obiadowego | 1,6 |
| Sałatki, kotlety z fasoli, ciasto z fasoli | 1,6 |
| Kotlety z ciecierzycy | 1,6 |
| Chilli, curry, różne gulasze, pasty na kanapki | 0,8 |
| Bób gotowany | 0,8 |
| Zupa z ciecierzycy | 0,8 |
| Raczej są to potrawy w restauracji, kupowany hummus | 0,8 |
| Zupa meksykańska | 0,8 |
| Hummus, pasta z fasoli, dahl z soczewicy | 0,8 |
| Buraczki z fasolą w sosie pomidorowym z papryką | 0,8 |
| Curry z ciecierzycą | 0,8 |

Źródło: badania własne

Ponad połowa ankietowanych uważała, że rośliny strączkowe są coraz częściej wykorzystywane w kuchni. Prawie 1/3 badanych nie miała zdania na ten temat. Według Śmiglak-Krajewskiej i Wojciechowskiej-Solis [14] w ostatnich latach obserwuje się wyraźnie większe zainteresowanie spożyciem nasion roślin strączkowych

oraz dietami roślinnymi, co jest niewątpliwie wynikiem z jednej strony rosnącej świadomości żywieniowej konsumentów, a z drugiej szerokiego dostępu do wiedzy na temat prawidłowego odżywiania (internet, książki, programy telewizyjne). Rosnące zainteresowanie roślinami strączkowymi wynika z propagowania kuchni: arabskiej, indyjskiej, pakistańskiej, tureckiej, w której tego typu rośliny są szeroko stosowane.

W badaniach Szczybyło i wsp. [6] aż 72% badanych wskazało, że zdobycie umiejętności przygotowania potraw z nasion roślin strączkowych może przyczynić się do zwiększenia przez nich spożycia tej grupy produktów. Ponadto badani wskazali, że czynnikiem, który może przyczynić się do zwiększenia spożycia roślin strączkowych może być zdobycie większej wiedzy na temat ich wartości odżywczej. 12% badanych wskazało, że czynnikiem motywującym do większego spożycia nasion strączkowych jest przekonanie, że taką konsumpcją wspiera się środowisko naturalne. Badani w Portugalii wskazywali, że aby zwiększyć wykorzystanie roślin strączkowych w kuchni, należy rozpowszechniać informacje o ich zaletach, edukować społeczeństwo, przygotować książkę z nowymi przepisami kulinarnymi [15].

Śród 12 wymienionych w badaniu właściwości prozdrowotnych roślin strączkowych, respondenci najczęściej wybierali odpowiedzi: regulują pracę jelit (47,5%), mają niski indeks glikemiczny (32,5%), zapobiegają miażdżycy i chorobom serca (29,2%), obniżają poziom złego cholesterolu (25,8%). Najmniej badanych wskazywało na zapobieganie stanom lękowym i depresji (4,2%) (Tabela 3).

Tabela 3. Właściwości prozdrowotne roślin strączkowych wskazywane przez respondentów.

Table 3. Health-promoting properties of legumes indicated by respondents.

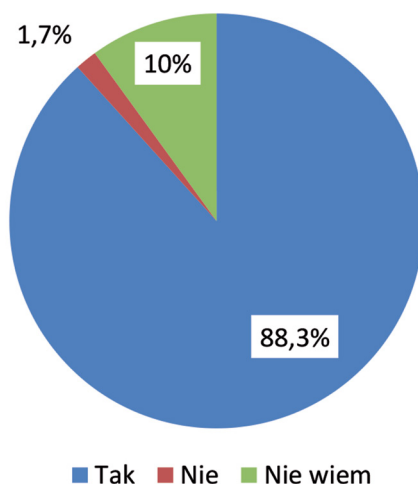
| Wyszczególnienie | [%] |
|---|------|
| Regulują pracę jelit | 47,5 |
| Mają niski indeks glikemiczny | 32,5 |
| Zapobiegają miażdżycy i chorobom serca | 29,2 |
| Obniżają poziom złego cholesterolu LDL | 25,8 |
| Mają działanie antyoksydacyjne | 25,0 |
| Mają działanie przeciwcukrzycowe | 16,7 |
| Poprawiają koncentrację i pamięć | 16,7 |
| Odkwaszają organizm | 15,0 |
| Poprawiają koncentrację i pracę mózgu | 15,0 |
| Obniżają wartość ciśnienia we krwi | 11,7 |
| Łagodzą skutki stresu | 7,5 |
| Pomagają zapobiegać stanom lękowym i depresji | 4,2 |

Źródło: badania własne

* Respondenci mieli możliwość udzielenia kilku odpowiedzi.

W badaniu przeprowadzonym przez Figueira i wsp. [24] wskazano na pozytywne postawy konsumentów wobec produktów z roślin strączkowych. Zdaniem australijskich konsumentów produkty strączkowe mają korzystny wpływ na zdrowie, zmniejszając ryzyko wystąpienia chorób serca [25]. Również badania Malczyk i Kosmatego [17] przeprowadzone wśród młodych konsumentów z małych miast i wsi dowodzą, że są oni świadomi korzyści zdrowotnych, jakie oferują posiłki przygotowane z roślin strączkowych.

Prawie 90% badanych stwierdziło, że rośliny bobowate to dobre rozwiązanie dla wegetarian (Rysunek 4).



Rysunek 4. Czy rośliny bobowate to dobre rozwiązanie dla wegetarian.

Źródło: badania własne

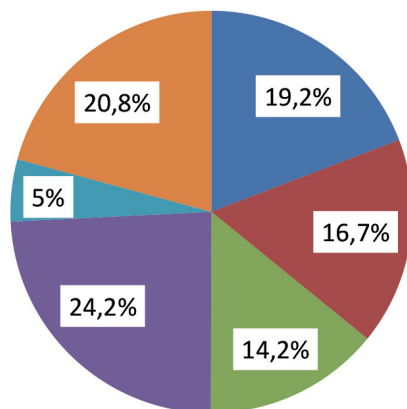
Figure 4. Are bean crops a good option for vegetarians.

Source: own research

Większość respondentów (96,7%) uważała, że rośliny strączkowe są bogatym źródłem białka roślinnego, a jedynie 3,3% było przeciwnego zdania. Również w badaniach Śmiglak-Krajewskiej i wsp. [16] badani wskazywali na ten aspekt zdrowotny roślin strączkowych.

Ponad połowa respondentów (56,7%) nie spożywa roślin bobowatych ze względu na niską zawartość tłuszczu, zaś 43,3% ankietowanych ze względu na tę cechę spożywa te rośliny. Według respondentów, spośród roślin strączkowych, najwięcej składników odżywczych ma ciecierzycza (24,2%), soczewica (20,8%), fasola (19,2%). Za najmniej odżywczy respondenci uznali groch (5%) – Rysunek 5.

Preferencje kulinarnego wykorzystania roślin strączkowych...



■ Fasola ■ Soja ■ Bób ■ Ciecierzycza ■ Groch ■ Soczewica

Rysunek 5. Gatunki roślin bobowatych, które według badanych mają najczęściej składników odżywczych.

Źródło: badania własne

Figure 5. Species of bean plants that respondents think have the most nutrients.

Source: own research.

W pytaniu odnoszącym się do powodów niskiego spożycia roślin strączkowych – 64,5% badanych wskazało na właściwości wzdymające powodujące dyskomfort po spożyciu, 42,5% na brak umiejętności ich przygotowania, zaś 38,3% na pracochłonność związaną z przygotowaniem. 35% badanych wskazało na ciężkostrawność tej grupy roślin. Niewielki odsetek respondentów wskazał na powodowanie alergii oraz obecność substancji szkodliwych (7,5%) – Tabela 4.

Tabela 4. Powody niskiego spożycia roślin strączkowych.

Table 4. Reasons for low consumption of legumes.

| Wyszczególnienie | [%] |
|--|------|
| Właściwości wzdymające powodujące dyskomfort po spożyciu | 64,2 |
| Brak umiejętności ich przygotowania | 42,5 |
| Pracochłonność związana z przygotowaniem | 38,3 |
| Są ciężkostrawne | 35,0 |
| Rzadko kupują, bo są zbyt drogie | 12,5 |
| Nie lubią tych warzyw | 10,8 |
| Zawierają substancje szkodliwe, np. kwas fitynowy, lektyny, saponiny | 7,5 |
| Powodują alergie pokarmowe | 7,5 |

Źródło: badania własne

* Respondenci mieli możliwość udzielenia kilku odpowiedzi

Szczebyło i wsp [6] uzyskały wyniki, które dowodzą, że badani nie spożywali nasion roślin strączkowych ze względu na smak (61%), brak umiejętności przygotowania dań z użyciem roślin strączkowych (35%) oraz pojawianie się wzdęć po ich spożyciu (18%). W badaniach przeprowadzonych w Kanadzie ponad połowa badanych, którzy nie jedli nasion roślin strączkowych, wskazało na smak jako barierę, a tylko 7% badanych wymieniło brak umiejętności ich przygotowania [23]. Śmiglak-Krajewska i Wojciechowska-Solis [14] uzyskały wyniki potwierdzające, że brak wiedzy i umiejętności przygotowania smacznych posiłków z nasion roślin strączkowych jest jedną z najważniejszych barier uniemożliwiających konsumentom częstsze spożywanie nasion roślin strączkowych. Ponadto respondenci wskazywali na smak tej grupy warzyw i strukturę produktu oraz brak nawyków żywieniowych. Portugalczycy jako bariery w spożyciu roślin strączkowych wskazywali brak uznania ich wartości odżywczej, długi czas gotowania i efekt wzdymający [15].

Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań można sformułować następujące wnioski:

1. Zdecydowana większość badanych rzadko spożywa rośliny strączkowe.
2. Istnieje świadomość wysokiej wartości prozdrowotnej roślin strączkowych, a głównym motywem do ich spożywania jest akceptacja sensoryczna (smak) oraz możliwość przygotowywania różnorodnych dań.
3. Najczęściej przygotowywaną potrawą z nasion roślin strączkowych była fasola po bretońsku, zupa fasolowa lub stosowanie ugotowanych nasion jako dodatek do sałatek warzywnych.
4. Spośród właściwości prozdrowotnych roślin strączkowych, respondenci najczęściej wskazywali na regulację pracy jelit, niski indeks glikemiczny, profilaktykę chorób serca i miażdżycy.
5. Czynnikiemami mogącymi zwiększyć konsumpcję strączkowych jest pozyskanie umiejętności przygotowania potraw oraz zdobycie większej wiedzy na temat wartości prozdrowotnych tej grupy roślin.
6. Aby zwiększyć spożycie roślin strączkowych, należy prowadzić edukację społeczeństwa w każdej grupie wiekowej, wykorzystując do tego różne źródła informacji, np. programy kulinarne, zdrowotne i informacyjne. Ponadto należy wprowadzać potrawy z roślin strączkowych do jadłospisów szkolnych stołówek i innych obiektów gastronomicznych.
7. Biorąc pod uwagę niską cenę tego surowca i brak barier ekonomicznych, spożycie nasion roślin strączkowych może być większe, co może przyczynić się do zmniejszenia spożycia mięsa, przy jednoczesnym zachowaniu prawidłowej wartości odżywczej diety.

Literatura

- [1] Górnicka M., Pierzynowska J., Wiśniewska M., Frąckiewicz J., Analiza spożycia suchych nasion roślin strączkowych w latach 1999-2008, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2011, 44(4), s. 1034-1038.
- [2] Cieślak E., Prozdrowotne właściwości warzyw, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2009, 539(1), s. 87-97.
- [3] Saha S., Singh G., Mahajan V., Gupta H.S., Variability of nutritional and cooking quality in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as a function of genotype, *Plant Food Human Nutrition*, 2009, 64(2), s. 174-180.
- [4] Venter C.S., Vorster H.H., Ochse R., Swart R., Eat dry beans, split peas, lentils and soya regularly: a food-based dietary guideline, *South African Journal of Clinical Nutrition*, 2013, 26(3) Supplement, s. 36-45.
- [5] Wawryka J., Zdrojewicz Z., Fasola – ważny składnik zdrowej diety. Analiza wartości odżywczych, *Pediatrics i Medycyna Rodzinna*, 2016, 12(4), s. 394-403.
- [6] Szczybyło A., Rejman K., Halicka E., Laskowski W., Towards More Sustainable Diets – Attitudes, Opportunities and Barriers to Fostering Pulse Consumption in Polish Cities, *Nutrients*, 2016, 12(6): 1589.
- [7] Hedenus F., Wirsenius S., Johansson D.J.A., The importance of reduced meat and dairy consumption for meeting stringent climate change targets, *Climatic Change*, 2014, 124, s. 79-91.
- [8] McDermott J., Wyatt A.J., The Role of Pulses in Sustainable and Healthy Food Systems, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2017, 1392, s. 30-42.
- [9] Pocijowska M., Natywa M., Selwet M., Praktyczne aspekty biologicznego wiązania azotu atmosferycznego, *Więś Jutra*, 2013, 1(174), s. 55-56.
- [10] Śmiglak-Krajewska M., Cultivation of legume crops in the context of sustainable agriculture, *Roczniki Naukowe Stowarzyszenia Ekonomistów Rolnictwa i Agrobiznesu*, 2018, 20(6), s. 255-261.
- [11] Bahl P.N., Climate Change and Pulses: Approaches to Combat Its Impact, *Agricultural Research*, 2015, 4(2), s. 103-108.
- [12] Kim S.J., Souza R.J., Choo V.L., Ha V., Cozma A.I., Chiavaroli L., Mirrahimi A., Blanco-Mejia S., Di Buono M., Bernstein A.M., Leiter L.A., Kris-Etherton P.M., Vuksan V., Beyene J., Kendall C.W.C., Jenkins D.J., Sievenpiper J.L., Effects of dietary pulse consumption on body weight: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2016, 103(5), s. 1213-1223.
- [13] Becerra-Tomas N., Diaz-Lopez A., Rosique-Estaban N., Ros E., Buil-Cosiales P., Corella D., Estruch R., Fito M., Serra-Majem L., Aros F., Lamuela-Raventos R.S., Fiol M., Santos Lozano J.M., Diez-Espino J., Portoles O., Salas-Salvado J., Legume consumption is inversely associated with type 2 diabetes incidence in adults: A prospective assessment from the PREDIMED study, *Clinical Nutrition*, 2018, 37(3), s. 906-913.
- [14] Śmiglak-Krajewska M., Wojciechowska-Solis J., Consumption Preferences of Pulses in the Diet of Polish People: Motives and Barriers to Replace Animal Protein with Vegetable Protein, *Nutrients*, 2021, s. 13(2), s. 454.
- [15] Duarte M., Vasconcelos M., Pinto E., Pulse Consumption among Portuguese Adults: Potential Drivers and Barriers towards a Sustainable Diet, *Nutrients*, 2020, 12(11), s. 3336.

- [16] Śmiglak-Krajewska M., Wojciechowska-Solis J., Viti D., Consumers' Purchasing Intentions on the Legume Market as Evidence of Sustainable Behaviour, *Agriculture*, 2020, 10(10), s. 424-464.
- [17] Malczyk E., Kosmaty I., Preferencje i częstotliwość spożycia potraw z suchych nasion roślin strączkowych wśród wybranej grupy młodzieży, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2013, 4(46), s. 455-461.
- [18] Petry N., Boy E., Wirth J., Hurrell R., The potential of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) as a vehicle for iron biofortification, *Nutrients*, 2015, 7(2), s. 11173-11441.
- [19] Zander P., Amjath-Babu T., Preissel S., Reckling M., Bues A., Schläfke N., Kuhlman T., Bachinger, J., Uthes S., Stoddard F., Grain legume decline and potential recovery in european agriculture: a review, *Agronomy for Sustainable Development*, 2016, 36, 22.
- [20] Leitão, S., Dinis, M., Veloso, M., Šatovi ´c Z., Vaz Patto M., Establishing the bases for introducing the unexplored Portuguese common bean germplasm into the breeding world, *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8, s. 8-15.
- [21] Fiore M., Castiglione D., Ferrante M., Legumes consumption among young and adult residents in Sicily (South Italy): evidence and predictive factors, *Journal of Nutritional Health & Food Science*, 2017, 5(1), s. 1-4.
- [22] WWF-UK, Eating for 2 degrees new and updated Livewell Plates. Summary Report, 2017, https://www.wwf.org.uk/sites/default/files/2017-09/WWF_Livewell_Plates_Summary_Report_Sept2017_Web.pdf, (dostęp: 5.07.2022).
- [23] PULSES, <https://pulses.org> (dostęp: 20.11.2021).
- [24] Figueira N., Curtain F., Beck E., Grafenauer S., Consumer Understanding and Culinary Use of Legumes in Australia, *Nutrients*, 2019, 11(7), 1575.
- [25] Crosland P., Ananthapavan J., Davison J., Lambert M., Carter R., The health burden of preventable disease in Australia: A systematic review, *Australian and New Zealand Journal of Public Health*, 2019, 43(2), s. 163-170.

Do cytowania:

Bienia B., Bogacz A., Dykiel M., Krochmal-Marczak B., Preferencje kulinarne wykorzystania roślin strączkowych w aspekcie ich właściwości prozdrowotnych, *Herbalism*, 2022, 1(8), s. 105-118.

Substancje antyżywniowe w wybranych roślinach rolniczych

Anti-nutritional substances in selected agricultural plants

Anna Sikorska¹, Marek Gugala², Krystyna Zarzecka², Łukasz Domański²

¹ Państwowa Uczelnia Zawodowa im. Ignacego Mościckiego w Ciechanowie, Wydział Inżynierii i Ekonomii, Zakład Rolnictwa, ul. Narutowicza 9, 06-400 Ciechanów, e-mail: anna.sikorska@puzim.edu.pl

² Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, Wydział Agrobiotechnologii i Nauk o Zwierzętach, Instytut Rolnictwa i Ogrodnictwa, ul. Prusa 14, 08-110 Siedlce, e-mail: marek.gugala@uph.edu.pl; krystyna.zarzecka@uph.edu.pl; ld36@stud.uph.edu.pl

Słowa kluczowe: substancje antyodżywcze, *Brassicaceae*, *Solanaceae*, *Fabaceae*, *Poaceae*

Key words: antinutritional substances, *Brassicaceae*, *Solanaceae*, *Fabaceae*, *Poaceae*

Streszczenie

Substancje antyodżywcze (*antinutritional substances*, nieodżywcze, antyżywniowe, przeciwżywniowe) są to związki naturalnie występujące w roślinach, które mogą ograniczać lub uniemożliwiać wykorzystanie składników odżywczych lub szkodliwie wpływać na organizm człowieka. Substancje pierwotne, takie jak: białka, węglowodany (polisacharydy nieskrobiowe) oraz tłuszcze roślinne stanowią materiał zapasowy, budulcowy oraz energetyczny dla roślin. Wtórne substancje antyżywniowe to związki o charakterze białkowym, do których zaliczane są produkty przemian biochemicznych. Związki te nie pełnią żadnych funkcji o charakterze odżywczym. Ich rolą jest ochrona roślin przed szkodnikami, drapieżnikami, drobnoustrojami, grzybami i pleśniami oraz niekorzystnymi warunkami hamującymi ich wzrost i rozwój. Niniejszy artykuł stanowi przegląd dostępnej literatury, dotyczący naturalnie występujących wtórnych substancji antyżywniowych, takich jak: glikozynolany, glikoalkaloidy, inhibitory tripsyny i chymotrypsyny, taniny, saponiny sterolowe, lektyny, glikozydy cyjanogenne alkilorezorcynole. Substancje te występują w wybranych roślinach rolniczych należących do rodzin: *Brassicaceae* (*Cruciferae*), *Solanaceae*, *Fabaceae*, *Poaceae*. Pokarmy pochodzenia roślinnego charakteryzują się wysokim potencjałem zdrowotnym, dlatego nie należy wykluczać ich z diety mimo obecności substancji antyodżywczych.

Summary

Antinutritional substances (non-nutritional substances) are compounds naturally occurring in plants that can limit or prevent the use of nutrients or have a harmful effect on the human body. Primary substances such as proteins, carbohydrates (non-starch polysaccharides) and vegetable fats are reserve, building and energy material for plants. Secondary anti-nutritional substances are protein compounds, which include products of biochemical changes. These compounds do not perform any nutritional functions. Their role is to protect plants against pests, predators, microorganisms, fungi and moulds as well as unfavourable conditions that inhibit their growth and development. This article is a review of the available literature on naturally occurring secondary anti-nutritional substances such as: glucosinolates, glycoalkaloids, trypsin and chymotrypsin inhibitors, tannins, sterol saponins, lectins, cyanogenic glycosides, alkylresorcinols occurring in selected agricultural plants belonging to the families: *Brassicaceae* (*Cruciferae*), *Solanaceae*, *Fabaceae*, *Poaceae*. Plant-based foods have a high health potential, so they should not be excluded from the diet despite the presence of anti-nutritional substances.

Wstęp

Substancje antyodżywcze (*antinutritional substances*, nieodżywcze, antyżywniowe, przeciwżywniowe) są to związki naturalnie występujące w roślinach, które mogą ograniczać lub uniemożliwiać wykorzystanie składników odżywczych albo szkodliwie wpływać na organizm człowieka [1]. Substancje te wzajemnie współdziałając z procesem trawienia, wchłaniania oraz innymi etapami metabolizmu substancji odżywczych, obniżają ich wykorzystanie jako składników energetycznych i budulcowych. Szkodliwe substancje pochodzenia roślinnego wpływają również na żywienie zwierząt. Toksyczne związki występują w trawach, roślinach strączkowych oraz pastewnych, a te z kolei wchodzi w skład wielu pasz, wpływając na ogólne zdrowie zwierząt.

Substancje o działaniu antyżywniowym to grupa związków o zróżnicowanej budowie chemicznej, spełniająca wiele ważnych funkcji w roślinie. Związki te można sklasyfikować pod względem sposobu powstania w roślinie: na pierwotne oraz wtórne. Substancje pierwotne, takie jak: białka, węglowodany (polisacharydy nieskrobiowe) oraz tłuszcze roślinne stanowiące materiał zapasowy, budulcowy oraz energetyczny dla roślin. Wtórne substancje antyżywniowe to związki o charakterze białkowym, do których zaliczane są produkty przemian biochemicznych, takie jak: związki fenolowe, glukozynolany, glikozydy, związki fitynowe, alkaloidy i inne. Hanczakowski i wsp. [2] podkreślają, że substancje wtórne nie pełnią żadnych funkcji o charakterze odżywczym. Ich rolą jest ochrona roślin przed szkodnikami, drapieżnikami, drobnoustrojami, grzybami i pleśniami oraz niekorzystnymi czynnikami hamującymi ich wzrost i rozwój [3].

Artykuł stanowi przegląd dostępnej literatury, dotyczącej naturalnie występujących wtórnych substancji antyżywniowych, takich jak: glukozynolany, glikoalkaloidy, inhibitory trypsyny i chymotrypsyny, taniny, saponiny sterolowe, lektyny, glikozydy cyjanogenne alkilorezorcynole występujące w wybranych roślinach rolniczych należących do rodzin: *Brassicaceae* (*Cruciferae*), *Solanaceae*, *Fabaceae*, *Poaceae*.

***Brassicaceae* (*Cruciferae*)**

Warzywa kapustowate stanowią źródło wielu składników odżywczych, w tym składników mineralnych, witamin rozpuszczalnych w wodzie oraz naturalnych przeciwutleniaczy. Spośród substancji biologicznie czynnych występujących w roślinach z rodziny *Brassicaceae* dominują glukozynolany (GLS). Są to wtórne metabolity roślin występujące m.in. w kapuście białej, kapuście czerwonej, kapuście włoskiej, kapuście pekińskiej, brukselce, kalafiorze, brokułach, rzodkwi, rzodkiewce, kalarepie, jarmużu, rzeżusze, rukoli, chrzanie oraz gorczycy, rzepiku i rzepaku [4, 5]. Związki te są rozpuszczalne w wodzie i występują w formie siarkowych tioglikozydów, zawierających cząsteczkę β -D-glukozy, siarkę oraz łańcuch boczny o strukturze alifatycznej lub aromatycznej [6]. W roślinach występuje kilkanaście rodzajów glukozynolanów. Zukałova i Vasak [7] podają, że glukozynolany syntetyzowane są z aminokwasów, takich jak: metionina, alanina, walina, leucyna, izoleucyna, tyrozyna, fenyloalanina i tryptofan [6]. Stężenie i skład tych związków różni się w zależności od morfotypu, organu, fazy rozwojowej, zasobności gleby w azot i siarkę oraz warunków środowiskowych [8] i wynosi średnio od kilku do nawet kilkuset mikromoli substancji na 100 gram świeżego produktu.

Wzrost stężenia glukozynolanów, szczególnie u roślin krzyżowych, determinowany jest dostępnością wody [9]. Badania McNaughton i Marks [10] wykazały, że największą zawartość glukozynolanów zawierały świeże warzywa. Autorzy stwierdzili, że ich stężenie zmniejsza się wraz z czasem przechowywania, pod wpływem rozdrabniania oraz gotowania.

Największą różnorodnością pod względem składu glukozynolanów wyróżnia się kapusta biała, która zawiera osiem różnych glukozynolanów. W dojrzałych nasionach rzepaku w największych stężeniach występują glukozynolany alkenowe: progoitryna, glukonapina, glukobrassikanapina, napoleiferyna oraz glukozynolany indolowe: 4-hydroksy glukobrassicyna i glukobrassicyna. Natomiast w gorczycy w największym stężeniu jest obecna sinalbina, która stanowi ponad 70% całkowitej ilości tych związków. Najmniejsze stężenie glukozynolanów posiada kalafior, w którym całkowita zawartość tych związków wynosi średnio 13 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ świeżej masy.

Rask i wsp. [11] podają, że glukozynolany występują łącznie z rozkładającym je enzymem zwanym mirozynazą, tworząc fizjologiczny system obrony roślin. W nienaruszonej komórce tkanki roślinnej glukozynolany są oddzielone od enzymu znajdującego się w komórkach mirozynowych. Gdy komórka roślinna zostanie uszkodzona

w sposób mechaniczny (krojenie, żucie) lub w wyniku ataku roślinożerców, dochodzi do kontaktu enzymu z glukozynolanami. Wówczas uwalniane zostają produkty hydrolizy glukozynolanów o właściwościach toksycznych, takie jak: izotiocyjaniany, winylooksazolidynetyony i nityle [12]. Należy podkreślić, że w żywcu krów i innych zwierząt przeżuwających następuje proces ich neutralizacji, co powoduje, że nie stanowią zagrożenia dla zdrowia [13].

Glukozynolany ogólnie nazywane są składnikami antyżywniowymi pasz. Ich obecność w wyłokach i śrucie rzepakowej, szczególnie u odmian tradycyjnych, ogranicza wykorzystanie tych produktów poolejarskich w żywieniu zwierząt i jest jednym z kluczowych kryteriów przy rejestracji i uprawie odmian podwójnie ulepszonych w Unii Europejskiej. W Polsce norma dla zawartości glukozynolanów jest najniższa na świecie i wynosi 15 mikromoli na gram nasion. Norma ta obejmuje sumę glukozynolanów alkenowych i indolowych.

Nadmierna konsumpcja glukozynolanów powoduje działania niepożądane, tj. wolotwórcze i mutagenne, prowadzące do niekontrolowanego wzrostu komórek nowotworowych. Spożywanie dużych ilości roślin kapustnych wiąże się z hamowaniem produkcji tyroksyny, powodując spadek aktywności tarczycy i prowadząc do jej przerostu. Należy podkreślić, że stosowanie zróżnicowanej diety wyklucza występowanie takiego zjawiska i może nastąpić tylko przy poważnych niedoborach jodu. Według Śmiechowskiej i wsp. [14] istotne jest, aby spożywanie warzyw kapustowatych wiązało się z obecnością jodu w pożywieniu.

Glukozynolany występujące w roślinach kapustnych wykazują również prozdrowotne właściwości. He i wsp. [15] wykazali, że największe znaczenie przeciwnowotworowe mają indolowe pochodne glukozynolanów zwane izotiocyjanianami. Związki te hamują kancerogenezę na wczesnych jej etapach [16, 17]. Kusznierecz i wsp. [18] dowiedli, że związki te przyczyniają się do aktywacji białek działających przeciwutleniająco, chroniąc komórki przed stresem oksydacyjnym. Wielu autorów [19, 20] podkreśla, że obecnie produkowane są suplementy diety oraz leki stosowane w walce z nowotworami zawierające wyizolowane pochodne glukozynolanów.

Solanaceae

Składnikami decydującymi o wartości odżywczej ziemniaka są węglowodany, białko, witaminy oraz mikro- i makroelementy. Naturalnymi substancjami antyodżywczymi występującymi w bulwach ziemniaka, które stanowią potencjalne zagrożenie dla konsumentów są toksyczne glikozydy steroidowe zwane glikoalkaloidami (TGA – *Total Glyco Alkaloids*). Związki te występują w liściach, łodygach, kwiatach, bulwach i kiełkach. Głównymi alkaloidami występującymi w ziemniaku są: α -, β -, γ -solanina oraz α -, β - i γ -chakonina [21]. Sotelo i Serrano

[22] podają, że związki te stanowią aż 95% glikoalkaloidów, a przeciętne proporcje zawartości tych dwóch związków to 3:2. Jednak autorzy podkreślają, że nie jest to wartość stała.

Mitchen i wsp. [23] wskazują, że biologiczną funkcją tych związków w tkance ziemniaka jest rola ochronna, o czym świadczą ich wzmożona synteza w pobliżu uszkodzonej czy zakażonej tkanki. Potwierdzają to badania Zgórskiej i wsp. [24], które wykazały, że uszkodzenia mechaniczne i ekspozycja bulw na światło podczas zbioru, transportu, sortowania wpłynęły na istotny wzrost zawartości glikoalkaloidów w bulwach wszystkich badanych odmian. Zgórska i wsp. [24] po zbiorze otrzymali $48 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ świeżej masy glikoalkaloidów, a w uszkodzonych, po przechowywaniu średnio $80 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ św.m.

Wroniak i Mazurczyk [25] oraz Hase [26] stwierdzili, że zawartość substancji antyodżywczych w bulwach ziemniaka determinowana jest również przez czynniki genetyczne i środowiskowe, tj. warunki pogodowe w trakcie wegetacji, dojrzałość bulw oraz warunki przechowywania. Haddadin i wsp. [27], na podstawie przeprowadzonych badań, doszli do wniosków, że w bulwach przechowywanych w ciemności średnia zawartość solaniny wynosiła ok. $195 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ św.m, zaś po wystawieniu ich na działanie światła słonecznego, zawartość TGA w skórce zwiększyła się 10-krotnie. Hase [26] wykazał, że większe stężenie glikoalkaloidów występuje w małych bulwach ziemniaka. Tajner-Czopek i wsp. [28] otrzymali większą koncentrację tych związków w bulwach o niepełnej dojrzałości w porównaniu do bulw zebranych w późniejszym terminie. Według wielu autorów [25, 26, 29] najwięcej glikoalkaloidów znajduje się w zewnętrznej warstwie skórki ziemniaka. Lachman i wsp. [30] podają, że w skórce występuje od 83% do 96% glikoalkaloidów. Proces obierania ziemniaków zmniejsza ich stężenie średnio od 60 do 90%, zaś gotowania średnio o 20% [30]. Mięsz bulwy nie stanowi zagrożenia dla zdrowia człowieka, ponieważ zawiera od 1 do 3% TGA [30]. Maksymalne dopuszczalne stężenie glikoalkaloidów w świeżych bulwach ziemniaka nie powinno być większe niż $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ świeżej masy, ale zawartość TGA powyżej $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ w świeżej masie bulw może już pogarszać ich smak [31].

Wysoka kumulacja tych związków w bulwach ziemniaka obniża ich wartość pokarmową, dlatego glikoalkaloidy określane są jako substancje antyżywniowe mogące mieć niekorzystny wpływ na zdrowie ludzkie. Spożycie ziemniaków z nadmierną zawartością tych związków powoduje uszkodzenia przewodu pokarmowego i układu nerwowego [32]. Barceloux [33] podaje, że objawy zatrucia u ludzi występują najczęściej po 7-19 godzinach od momentu spożycia, zaś Hellenäs i wsp. [34] twierdzą, że pierwsze symptomy, takie jak: wymioty, bóle głowy, gorączka, zaburzenia świadomości i halucynacje mogą wystąpić po 30 minutach. Dłuższe utrzymywanie się stężenia we krwi prowadzi do tachykardii, sztywnienia

karku, częściowego paraliżu lub śpiączki [33]. Według Lachmana i wsp. [30] nadmiar związków, których organizm nie jest w stanie wydaląć, gromadzi się w wątrobie, nerkach lub sercu.

Ze względu na toksyczność glikoalkaloidów, zalecane jest dokładne analizowanie zawartości glikoalkaloidów w odmianach ziemniaka, wpisywanych do Krajowego Rejestru Odmian Roślin Rolniczych [35].

Fabaceae

Rośliny bobowate należą do rodziny *Fabaceae*, obok składników zdrowotnych, zawierają substancje antyodżywcze charakteryzujące się wysoką aktywnością biologiczną [36].

Taniny ze względu na budowę i właściwości dzielą się na: hydrolizujące (poliestry kwasu galusowego i jego pochodne z monosacharydami) oraz niehydrolizujące – skondensowane (proantocyjanidyny), zbudowane z cząsteczek katechin połączonych wiązaniami węgla, nie ulegają rozerwaniu w procesie hydrolizy. Są to rozpuszczalne w wodzie związki fenolowe. GoluchKoniuszy i Salmanowicz [37] podają, że w grochu średnia zawartość tych związków wynosi od 0,43-0,47%, bobiku od 0,75 do 1,92%, ciecierzycy – od 0,03 do 0,22%, soi – 0,045%, zaś w fasoli średnio 0,77%. Taniny pełnią funkcję ochronną przed patogenami, roślinożercami i niekorzystnymi warunkami środowiska. Związki te wchodzą w reakcje z białkami, tworząc ciężkostrawne kompleksy, oraz upośledzają działanie enzymów trawiennych. Wpływa to ujemnie na wykorzystanie składników pokarmowych, głównie białka. Związki te również powodują cierpki smak paszy oraz pogorszenie jej strawności.

Inhibitory trypsyny i chymotrypsyny występują głównie w fasoli, bobiku, bobie, grochu, ciecierzycy. Związki te ograniczają wykorzystanie białek w paszach dla zwierząt poprzez blokowanie enzymów proteolitycznych (trypsyny, chymotrypsyny i elastazy, trombiny), tworząc nieaktywne kompleksy [38].

Lektyny (hemaglutyniny) są to glikoproteidy o specyficznym powinowactwie do niektórych cukrów, tj. reagują one z błonami komórkowymi zbudowanymi z charakterystycznych kompleksów węglowodanowych. Mają zdolność aglutynacji erytrocytów zarówno u ludzi, jak i u zwierząt. Związki te występują w bobiku, soczewicy i grochu. Ich rolą jest magazynowanie cukrów oraz ochrona roślin przed fitopatogenami i roślinożercami. Ponadto wykazują działanie grzybobójcze, owadobójcze i pasożytnicze.

Saponiny sterolowe lub terpenowe glukozydy występują w formie glikozydów. Są to związki o charakterze triterpenoidów lub steroli, tworzące wielopierścieniowy aglikon, określane mianem sapogeniny [37]. Stężenie saponin waha się średnio od 2,3 do 60 g·kg⁻¹ w ciecierzycy, od 1,1 do 1,8 g·kg⁻¹ w grochu, od 1,1 do 5,1 g·kg⁻¹

soczewicy oraz $3,5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ w bobie. Związki te charakteryzują się gorzkim smakiem. Po przedostaniu się do krwioobiegu powodują hemolizę krwinek czerwonych oraz wywierają niekorzystny wpływ na ośrodkowy układ nerwowy [13]. Saponiny na skutek antagonizmu z witaminą D mogą być przyczyną osteomalacji (rozmiękczenie kości). Pod wpływem obróbki technologicznej stężenie saponin w żywności ulega częściowemu zmniejszeniu [37].

Fityniany są to sole kwasu fitynowego, związki cykliczne zawierające 6 reszt fosforanowych. Wykazują one zdolność do chelatowania grup elektrono-dodatnich. Najczęściej chelatowane są dwu- i trójwartościowe metale, takie jak: Cu (miedź), Zn (cynk), Mg (magnez), Ca (wapń), Mn (mangan), Fe (żelazo), Co (kobalt) [39, 40]. Fityniany mogą także chelatować białka, inaktywując enzymy trawienne, tj: pepsynę, trypsynę, chymotrypsynę czy α -amylazę. Zawartość kwasu fitynowego waha się od 0,3 do 2%, a największe stężenie wykazano w bobiku i soi. Fityniany mogą mieć wpływ na ograniczenie procesów nowotworowych, co związane jest z ich właściwościami antyoksydacyjnymi [41].

Glikozydy cyjanogenne występują w nasionach bobu, bobiku oraz w niektórych gatunkach fasoli. U ludzi z genetycznie uwarunkowanym niedoborem enzymu dehydrogenazy-6-fosforanowej związki te wywołują tzw. fawizm, czyli chorobę „fasolową” objawiającą się zawrotami głowy, zaburzeniami ze strony przewodu pokarmowego, prowadzącą do niedokrwistości hemolitycznej. Choroba ta występuje najczęściej po spożyciu niedogotowanego lub surowego bobu.

Poaceae

Ziarna zbóż zawierają niewielkie ilości substancji antyżywniowych, jednak nie stwarzają one poważnego zagrożenia.

Alkilorezorcynole (AR) są pochodnymi fenolu. Cechą charakterystyczną tych związków jest występowanie w aromatycznym pierścieniu bocznego łańcucha alkilowego o nieparzystej liczbie atomów węgla, którego długość jest zróżnicowana w zależności od gatunku [42]. Evans i wsp. [43] wykazali, że największą zawartość tych związków stwierdza się w ziarnie żyta – średnio od $360 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ do nawet $2180 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ według Sałek [44], pszenżyta od $294 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ [45] do $950 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ [46], ziarnie pszenicy od $268 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ [47] do $943 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ [48] oraz jęczmienia od $32 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ [49] do $119 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ [50]. Związki te pełnią funkcję ochronną oraz mają działanie bakteriobójcze i grzybobójcze. Wpływają na zmniejszenie pobrania paszy i pogorszenie jej strawności. Ross [51] stwierdził, że alkilorezorcynole, z uwagi na dużą ich zawartość w otrębach i całym ziarnie pszenicy, żyta i innych zbóż wykorzystywanych najczęściej do produkcji żywności oraz ze względu na ich brak w innych produktach roślinnych, zostały wskazane jako biomarker ilości spożycia produktów zbożowych.

Inhibitory proteaz (trypsyny i chymotrypsyny) występują głównie w życie i pszenzycie. Zboża zawierają niwielkie ilości **tanin**. Największą zawartość wykazano w pszenicy, zaś w mniejszym stopniu w pozostałych zbożach. Ich negatywne działanie polega na pogorszeniu walorów smakowych paszy. W większości uprawianych obecnie odmian ich zawartość jest niska, nie pogarszająca wartości odżywczej zbóż.

Podsumowanie

Naturalne substancje nieodżywcze o charakterze wtórnym występują w roślinach w niewielkich stężeniach i zaliczane są do substancji, które nie dostarczają organizmowi składników odżywczych. Ich główną rolą jest ochrona roślin przed szkodnikami, drapieżnikami, drobnoustrojami, grzybami i pleśniami oraz niekorzystnymi czynnikami hamującymi ich wzrost i rozwój. Substancje te tworzą mechanizm obronny skierowany przeciw czynnikom zagrażającym przetrwaniu gatunku w niesprzyjających dla niego warunkach zewnętrznych. Zwykle ilość tych związków jest większa na skutek wzmożonej syntezy w wyniku mechanicznego uszkodzenia lub obrony przed nadmiernym napromieniowaniem.

Pokarmy pochodzenia roślinnego charakteryzują się wysokim potencjałem zdrowotnym, dlatego nie należy wykluczać ich z diety mimo obecności substancji antyodżywczych. W zależności od ilości spożycia substancji antyżywniowych mogą one niekorzystnie wpływać na stan zdrowotny i produktywność zwierząt. Zawartość tych związków, a tym samym ich niekorzystny wpływ na stan odżywienia i zdrowie można ograniczyć, stosując takie techniki jak: moczenie, gotowanie w wodzie czy obróbka termiczna.

Literatura

- [1] Czerwińska D., Bezpieczne i niebezpieczne związki, Przegląd Gastronomiczny, 2006, 11, s. 10-11.
- [2] Hanczakowski P., Koreleski J., Wolski T., Składniki pokarmowe i antyodżywcze występujące w roślinach, Instytut Zootechniki, Kraków 2001.
- [3] Schuhmayer R., Odżywianie bioaktywne, Jedzenie może leczyć, Wydawnictwo Biblioteka zdrowego życia, Warszawa 2003.
- [4] Fahey J.W., Zalcman A.T., Talalay P., The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants, *Phytochemistry*, 2001, 56, s. 5-51.
- [5] Sawicka B., Kotiuk E., Gorczyce jako rośliny wielofunkcyjne, *Acta Scientiarum Polonorum, Agricultura*, 2007, 6(2), s. 17-27.
- [6] Troczyńska J., System mirozynaza – glukozynolany – charakterystyka i funkcje w roślinie, *Rośliny oleiste – Oilseed Crops*, 2005, 26, s. 51-64.

- [7] Zukalová H., Vašák J., The role and effects of glucosinolates of *Brassica* species – a review, *Plant Soil and Environment*, 2002, 48, s. 175-180.
- [8] Patyra E., Kwiatek K., Glukozynolany – składniki antyżywniowe pasz, *Życie Weterynaryjne*, 2015, 90(10), s. 674-677.
- [9] Bouchereau A., Clossais-Besnard N., Bensaoud A., Leport L., Renard M., Water stress effects on rapeseed quality, *European Journal of Agronomy*, 1996, 5(1), s. 19-30.
- [10] McNaughton S.A., Marks G.C., Development of a food composition database for the estimation of dietary intakes of glucosinolates, the biologically active constituents of cruciferous vegetables, *British Journal of Nutrition*, 2003, 90, s. 687-697.
- [11] Rask L., Andréasson E., Ekblom B., Eriksson S., Pontoppidan B., Meijer J., Myrosinase: gene family evolution and herbivore defense in *Brassicaceae*, *Plant Molecular Biology*, 2000, 42(1), s. 93-113.
- [12] Kissen R., Rossiter J., Bones A., The 'mustard oil bomb': not so easy to assemble?! Localization, expression and distribution of the components of the myrosinase enzyme system, *Phytochemistry Reviews*, 2009, 8, s. 69-86.
- [13] Czerwiecki L., Rośliny jako źródło naturalnych substancji szkodliwych dla zdrowia, *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 2005, 3, s. 215-227.
- [14] Śmiechowska A., Bartoszek A., Namieśnik J., Przeciwrakotwórcze właściwości glukozyolanów zawartych w kapuście (*Brassica oleracea var. capitata*) oraz produktów ich rozpadu, *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 2008, 62, s. 125-140.
- [15] He H., Liu L., Song S., Tang X., Wang Y., Evaluation of glucosinolate composition and contents in chinese brassica vegetables, *Acta Horticulturae*, 2003, 620, s. 85-92.
- [16] Szejda-Grzybowska J., Antykancerogenne składniki warzyw kapustnych i ich znaczenie w profilaktyce chorób nowotworowych, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2011, 4, s. 1039-1046.
- [17] Patyra E., Kowalczyk E., Kwiatek K., Antyżywniowe i prozdrowotne właściwości glukozyolanów, *Życie Weterynaryjne*, 2016, 91(7), s. 515-520.
- [18] Kusznierecz B., Piasek A., Lewandowska J., Śmiechowska A., Bartoszek A., Właściwości przeciwnowotworowe kapusty białej, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, 6(55), s. 20-34.
- [19] Sikorska-Zimny K., Wybrane glukozyolany i ich pochodne: źródła, właściwości oraz działania na organizm człowieka, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2016, XLIX, 1, s. 96-105.
- [20] Cieślak E., Cieślak I., Borowski M., Charakterystyka właściwości prozdrowotnych glukozyolanów, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2017, 588, s. 3-14.
- [21] Leszczyński W., Żywniowa wartość ziemniaka i przetworów ziemniaczanych (Przegląd literatury), *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin IHAR*, 2012, 266, s. 5-20.
- [22] Sotelo A., Serrano B., High-performance liquid chromatographic determination of glycoalkaloids α -solanine and α -chaconine in 12 commercial varieties of Mexican potato, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48, s. 2472-2475.
- [23] Mithen R.F., Dekker M., Verkerk R., Rabot S., Johnson I.T., The nutritional significance, biosynthesis and bioavailability of glucosinolates in human foods, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2000, 80, s. 967-984.

- [24] 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.
- [25] Wroniak J., Mazurczyk W., Odmianowe różnice zawartości glikoalkaloidów w zależności od przeciętnej masy bulw ziemniaka, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2006, 511, s. 189-195.
- [26] Hase N., Glicoalcaloids in potato tubers related to storage and consumer offering, *Potato Research*, 2010, 53, s. 297-3010.
- [27] Haddadin M.S.Y., Humeid M.A., Qaroot F.A., Robinson R.K., Effect of exposure to light on the solanine content of two varieties of potato (*Solanum tuberosum*) popular in Jordan, *Food Chemistry*, 2001, 73, s. 205-208.
- [28] Tajner-Czopek A., Leszczyński W., Lisińska G., Prośba-Białczyk U., Zawartość glikoalkaloidów w ziemniakach w zależności od terminu zbioru, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2006, 511, s. 379-387.
- [29] Wierzbicka A., Some quality characteristics of potato tubers grown in the ecological system depending on irrigation, *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 2011, 56(4), s. 203 -207.
- [30] Lachman J., Hamous K., Orsak M., Pivec V., Potato glycoalkaloids and their significance in plant protection and human nutrition – review, *Series Rotlinna Vyroba*, 2001, 47, s. 181-191.
- [31] Mazurczyk W., Lis B., Zawartość azotanów i glikoalkaloidów w dojrzałych bulwach ziemniaka jadalnego, *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 2000, 51(1), s. 37-41.
- [32] Percival G., Dixon G.R., Sword A., Glycoalkaloid concentration of potato tubers following exposure to daylight, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1996, 71, s. 5.
- [33] Barceloux D.G., Potatoes, tomatoes and solanine toxicity, [w:] *Medical toxicology of natural substances: foods, fungi, medicinal herbs, toxic plants, venomous animals*, (red.) D.G. Barceloux, Wiley, 2008, s. 77-83.
- [34] Hellenäs K.E., Nyman A., Slanina P., Loof L., Gabriellson J., Determination of potato glycoalkaloids and their aglycones in blood serum by high performance liquid chromatography. Application to pharmacokinetic studies in human, *Journal of Chromatography A*, 1992, 573, s. 69-78.
- [35] Trawczyński C., Wierzbicka A., Odmianowe i środowiskowe zróżnicowanie zawartości glikoalkaloidów w bulwach ziemniaka, *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*, 2011, 262, s. 119-126.
- [36] Champ M.M., Non-nutrient bioactive substances of pulses, *British Journal of Nutrition*, 2002, 88(3), s. 307-319.
- [37] Goluch-Koniuszy Z., Salmanowicz M., Wybrane substancje antyodżywcze występujące w żywności, *Biuletyn Okręgowej Izby Lekarskiej w Szczecinie*, 2017, 1(226), s. 9-13.
- [38] Lipiec A., Pisarski R.K., Substancje antyżywniowe w paszach, *Medycyna Weterynaryjna*, 50(4), s. 152-155.
- [39] Kulasek G., Leontowicz H., Krzemiński R., Bioaktywne substancje w pokarmach dla ludzi i zwierząt (cz. I). Czynniki antyżywniowe, *Magazyn Weterynaryjny*, 1995, 1, s. 39-25.

- [40] Gupta R.K., Gangoliya, S.S., Singh N.K., Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains, *Journal of Food Science and Technology*, 2013, 52(2), s. 676-84.
- [41] Graf E., Eaton J.W., Antioxidant function of phytic acid, *Free Radical Biology & Medicine*, 1990, 8, s. 61-69.
- [42] Kozubek A., Tyman J.H.P., Resorcinolic lipids, the natural non-isoprenoic amphiphiles and their biological activity, *Chemical Reviews*, 1999, 99, s. 1-26.
- [43] Evans L.E., Dedio W., Hill R.D., Variability in the alkylresorcinol content of rye grain, *Canadian Journal of Plant Science*, 1973, 53, s. 485-488.
- [44] Sałek M., Oznaczenie zawartości 5-alkilorezorcyn w ziarnie i produktach przemiału żyta, *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 1978, 29, s. 205-211.
- [45] Hengtrakul P., Lorenz K., Mathias M., Alkylresorcinols in U.S. and Canadian wheats and flours, *Cereal Chemistry*, 1990, 67, s. 413-417.
- [46] Verdeal K., Lorenz K., Alkylresorcinols in wheat, rye and triticale, *Cereal Chemistry*, 1977, 54, s. 475- 483.
- [47] Andersson A.A.M., Kamal-Eldin A., Fraś A., Boros D., Åman P., Alkylresorcinols in wheat varieties in the HEALTHGRAIN diversity screen, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56, s. 9722-9725.
- [48] Kulawinek M., Jaromin M., Kozubek A., Żarnowski R., Alkylresorcinols in selected Polish rye and wheat cereals and whole-grain cereal products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56, s. 7236-7242.
- [49] Andersson A.A.M., Lampi A-M., Nyström L., Piironen V., Li L., Ward J., Gebruers K., Courtin C.M., Delcour J.A., Boros D., Fraś A., Dynkowska W., Rakszegi M., Bedo Z., Shewry P.R., Åman P., Phytochemical and Fibre Components in Barley Varieties in the HEALTHGRAIN diversity screen, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56, s. 9767-9776.
- [50] Boros D., Fraś A., Gołębiewska K., Gołębiewski D., Paczkowska O., Wiśniewska M., Wartość odżywcza i właściwości prozdrowotne ziarna odmian zbóż i nasion rzepaku zalecanych do uprawy w Polsce, [w:] *Monografie i Rozprawy Naukowe*, (red.) D. Boros, A. Fraś, 2015, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy, 49, s. 1-119.
- [51] Ross A.B., Alkylresorcinols in cereal grains. Occurrence, absorption, and possible use as biomarkers of whole grain wheat and rye intake. Doctoral Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences., Uppsala, 2003.

Do cytowania:

Sikorska A., Guguła M., Zarzecka K., Domański Ł., Substancje antyżywniowe w wybranych roślinach rolniczych, *Herbalism*, 2022, 1(8), s. 119-129.

Ziemniak kolorowy – uprawiany wczoraj, dziś, jutro

Color potato – grown yesterday, today, tomorrow

Krystyna Zarzecka¹, Agnieszka Ginter¹, Marek Gugala¹, Iwona Mystkowska²

¹ Instytut Rolnictwa i Ogrodnictwa, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, ul. B. Prusa 14, 08-110 Siedlce, e-mail: kzarzecka@uph.edu.pl

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

Słowa kluczowe: *Solanum tuberosum* L., pochodzenie, odmiany, skład chemiczny, cechy prozdrowotne

Key words: *Solanum tuberosum* L., origin, cultivars, chemical composition, pro-healthy properties

Streszczenie

W pracy przedstawiono pochodzenie ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) i jego introdukcję do Europy i Polski. Omówiono wartość odżywczą i właściwości prozdrowotne bulw z uwzględnieniem odmian o kolorowym miąższu. Scharakteryzowano najważniejsze składniki chemiczne bulwy ziemniaka. Liczne badania wykazały, że bulwy odmian kolorowych, w porównaniu do odmian o miąższu białym i żółtym, zawierają więcej związków polifenolowych, kwasu chlorogenowego i kwasu askorbinowego oraz duże ilości antocyjanów, których w odmianach tradycyjnych brakuje. Doniesienia naukowe wskazują, że ziemniak powinien stanowić część zdrowej diety ze względu na właściwości antyoksydacyjne mające duże znaczenie w profilaktyce zdrowotnej.

Summary

The paper presents the origin of the potato (*Solanum tuberosum* L.) and its introduction to Europe and Poland. The nutritional value and pro-healthy properties of tubers are discussed, taking into account cultivars with colored flesh. The most important chemical components of the potato tuber were characterized. Numerous studies have shown that the tubers of colored cultivars, compared to the cultivars with white and yellow flesh, contain more polyphenols, chlorogenic acid and ascorbic acid, and large amounts of anthocyanins, which are lacking in traditional cultivars. Scientific reports indicate that the potato should be part of a healthy diet due to its antioxidant properties that are of great importance in health prophylaxis.

Pochodzenie ziemniaka

Ziemniak (*Solanum tuberosum* L.) należy do rodziny psiankowatych *Solanaceae*. W obrębie tego gatunku występują dwa podgatunki: subsp. *andigenum* i subsp. *tuberosum*. Zdecydowana większość współczesnych odmian ziemniaka uprawianych na całym świecie spokrewniona jest z *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum*, natomiast odmiany podgatunku subsp. *andigenum* są uprawiane głównie w andyjskich regionach Ameryki Południowej, od Wenezueli po Chile. Te dwa podgatunki *S. tuberosum*: *andigena* i *tuberosum* sprowadzono do Europy w drugiej połowie XVI wieku i uważa się je za przodków współczesnego ziemniaka uprawnego [1].

Ziemniak pochodzi z górskich terenów południowego Peru w Ameryce Południowej, gdzie około 6-8 tysięcy lat temu przodkowie Inków udomowili tę bulwiastą psiankę. Ślady najstarszych upraw archeolodzy znajdowali nawet na wysokości ponad 4000 metrów n.p.m., w okolicach najwyższej położonego na świecie jeziora Titicaca znajdującego się na pograniczu Peru i Boliwii [2, 3, 4]. Dzikie ziemniaki miały gorzki smak i zawierały toksyczne składniki (glikoalkaloidy), dlatego starożytne kultury musiały włożyć sporo wysiłku, aby wybrać odpowiednie, smaczniejsze bulwy do uprawy. Rolnicy andyjscy cenili ziemniaka za jego możliwość uprawy na dużych wysokościach oraz za wszechstronność użytkowania. Dziś w Peru znajduje się największa liczba odmian ziemniaka. Różnią się one wielkością, kształtem, kolorem miąższu (od alabastrowobiałego, jasnożółtego do czerwonego i głębokiego fioleto), skórką, konsystencją i oczywiście smakiem, ale wszystkie mają swoje miejsce i odgrywają istotną rolę w kuchni peruwiańskiej. Do chwili obecnej są remedium na głód i choroby [5]. Nadal kultuwyje się tradycje uprawy w peruwiańskich Andach, ale ziemniak uprawiany jest także na terenach nizinnych. Szacuje się, że w Andach 800 tys. małorolnych gospodarzy uprawia ziemniaki. Wysoko w górach ziemię uprawia się motyką, ziemniaki sadi się ręcznie na małych poletkach, na których pracują całe rodziny. Zbiory wyglądają tak samo jak 500 lat temu. Natomiast w dolinach położonych bliżej wybrzeża doprowadza się wodę z gór, a duże pola pozwalają na mechanizację uprawy roli i zbioru. Ziemniaki są transportowane w dużych wielobarwnych workach (powyżej 50 kg) i w tych workach eksponuje się je do sprzedaży. Wybór ziemniaków na stoiskach i w sklepach w Peru jest ogromny, mają różnokolorową skórkę i miąższ, do tego większość odmian jest przypisana do konkretnych potraw. Ponadto duży wybór odmian w Peru i Boliwii to nie wszystko, dodatkowo sprzedawcy na życzenie klientów obierają ziemniaki na stoisku. Widoczne jest olbrzymie przywiązanie ludzi do tradycji uprawy tej rośliny i bogactwa odmian [6].

Introdukcja ziemniaka do Europy i Polski

Najprawdopodobniej to Hiszpanie po podboju Państwa Inków (tereny obecnego Peru, Ekwadoru oraz częściowo Boliwii, Chile) sprowadzili ziemniaki po raz pierwszy w 1567 roku do własnego kraju, następnie żeglarze rozpowszechnili uprawę rośliny w Europie. Początkowo dotarła ona do Włoch, Belgii, Niemiec, na Wyspy Brytyjskie, a następnie na cały świat [4, 7, 8, 9]. Ziemniak początkowo uprawiany był w ogrodach przyklasztornych, królewskich czy arystokracji i traktowano go jako roślinę egzotyczną – ozdobną, a nawet leczniczą. W następnych latach znany był już w całej Europie, jednak nie wzbudzał wielkiego entuzjazmu, ponieważ bulwy miały gorzki smak. Dopiero po ponad 200 latach ziemniaka zaliczono do roślin jadalnych i doceniono kulinarne walory bulw. Najpierw jednak były one przysmakiem racjonowanym i podawanym głównie na stołach królów i arystokracji. Ziemniaki przystosowały się do krótszego okresu wegetacji i do formowania bulw w ciągu długich dni, a bulwy stały się podstawą wyżywienia najbiedniejszych warstw społecznych [4]. Wówczas zwyczajem było, że ziemniaki podawano do wszystkich trzech posiłków – na śniadanie, obiad i kolację. Mała różnorodność genetyczna odmian uprawianych w Europie spowodowała, że były one znacznie mniej odporne na choroby niż odmiany i gatunki występujące w Ameryce. W latach 40. XIX wieku nieznaną wtedy zaraza zniszczyła plantacje ziemniaczane, co przyczyniło się do śmierci głodowej ponad miliona ludzi oraz fali emigracji, m.in. z Irlandii i Galicji do USA i Brazylii. Z tego powodu do dziś w Ameryce Północnej i Południowej znajduje się znaczna liczba ludności pochodzenia irlandzkiego i polskiego [10, 11]. W drugiej połowie XIX wieku, zarówno w Europie, jak i w innych częściach świata, ziemniak zyskał uznanie i stał się jednym z podstawowych składników diety milionów mieszkańców i nieodzownym elementem wielu kuchni regionalnych [2, 12].

Sprowadzenie ziemniaków do Polski przypisuje się królowi Janowi III Sobieskiemu, po wygranej bitwie wiedeńskiej w 1683 roku. Przywiózł niewielką ilość bulw ziemniaka w prezencie dla królowej Marysieńki. Ogrodnik – Paweł Wienczarek – wysadził przywiezione bulwy w ogrodach wilanowskich. Znane też były wsie, takie jak: Mokotów, Rakowiec, a zwłaszcza „Ogrody Świętokrzyskie”, w których pola obsadzono ziemniakami. Książę Józef był kolejnym „patronem” ziemniaka w Polsce, a wykonawcami jego woli rolnicy w książęcej Jabłonie, dziś nieomal przedmieściu wielkiej Warszawy [13]. Wówczas w Polsce ziemniak nie był rośliną jadalną, a głównie ozdobną i leczniczą. Dopiero w XIX wieku stał się surowcem gorzelniczym i stosowanym do produkcji skrobi, stanowił też przez długie lata paszę dla trzody chlewnej oraz produkt żywnościowy głównie dla najniższych klas społecznych. Świadczą o tym doniesienia w literaturze i malarstwie – o ziemniaku pisali Adam Mickiewicz, Julian Ursyn-Niemcewicz, Henryk Sienkiewicz, Eliza Orzeszkowa [3]. W latach 70.

XX wieku ziemniak uprawiano na prawie 3 mln ha, zbiory wynosiły niemal 50 mln ton, a spożycie na 1 mieszkańca rocznie wynosiło do ok. 300 kg. Z tego też powodu ziemniak był uważany za symbol nowoczesności i postępu w produkcji roślinnej, tym bardziej, że warunki klimatyczne i glebowe naszego kraju sprzyjały jego uprawie. Wielu autorów podkreśla także, że uprawa ziemniaka odgrywa ważną rolę w płodozmianie, zwłaszcza na słabych glebach lekkich, które w Polsce stanowią ponad 65%. Wpływa też na żyzność gleby, oczyszcza ją z chwastów poprzez staranną pielęgnację oraz przyczynia się do wzrostu plonów roślin następczych [2, 11, 14]. Systematyczne zmniejszanie powierzchni uprawy ziemniaka w naszym kraju wynikało głównie z zaprzestania wykorzystywania bulw na paszę dla trzody chlewnej oraz uwarunkowań ekonomicznych. Ziemniak z dawnej rośliny paszowej stał się, podobnie jak w skali europejskiej, ale też i światowej, jadalnym warzywem. W 2021 roku ziemniak uprawiano na powierzchni ok. 235 tys. ha i był on wykorzystywany głównie na cele jadalne, a jego spożycie, aczkolwiek malejące, nadal jest duże i w sezonie 2020/2021 wynosiło 88 kg na jednego mieszkańca [15]. Mimo zmniejszającej się powierzchni uprawy, Polska jest ciągle liczącym się w Europie i świecie producentem bulw ziemniaka [16].

Wartość odżywcza i właściwości prozdrowotne bulw „białych” i „kolorowych”

W skali światowej ziemniak, po pszenicy, ryżu i kukurydzy, zajmuje czwarte miejsce w wyżywieniu ludności świata. Stanowi podstawowe źródło pożywienia, zapewniając bezpieczeństwo żywnościowe i jest uprawiany w ponad 160 krajach [17, 18, 19]. Roślina ta, występując w Polsce, Europie i na świecie, ma zróżnicowane oblicze. W zależności od odmiany, różni się kształtem, wielkością, zabarwieniem skórki oraz miąższu. Jej kolor zależy od zawartości i proporcji poszczególnych, naturalnych barwników (karotenów, antocyjanów). Według określeń międzynarodowych rozróżnia się następujące barwy miąższu ziemniaka: białą, kremową, jasnożółtą, żółtą, ciemnożółtą, jednak duża różnorodność ziemniaków pokazuje, że kolor miąższu bulw waha się od białego do ciemnofioletowego. Ziemniaki o czerwonym i fioletowym miąższu są ciekawą alternatywą dla konsumentów ze względu na związki fenolowe i właściwości antyoksydacyjne. Barwa, zarówno skórki, jak i miąższu, ma wpływ na walory estetyczne potrawy i wykorzystanie kulinarne, a przede wszystkim na wartość odżywczą i prozdrowotną bulw. Skład chemiczny odmian „białych” (o miąższu barwy od białej do ciemnożółtej) zwanych tradycyjnymi i „kolorowych” (o miąższu czerwonym, purpurowym do ciemnofioletowego) jest zbliżony pod względem występujących składników, ale zróżnicowany pod względem jakościowym (Tabela 1) [20].

Tabela 1. Ważniejsze składniki bulw ziemniaka [3, 15, 17, 20-28, 32].**Table 1.** Major components of potato tubers [3, 15, 17, 20-28, 32].

| Składniki | Bulwy białe | Bulwy kolorowe |
|--|--|---|
| Sucha masa | 15,3-25,6% | 17,0-27,5% |
| Skrobia | 9,8-18,3% | 11-18% |
| Cukry ogółem | 0,3-0,6% | 0,2-1,2% |
| Białko ogółem | 1,7-2,3% | 1,6-2,6% |
| Lipidy | 0,10-0,15% | 0,10-0,16% |
| Związki mineralne, w tym: • potas • fosfor • magnez • żelazo • cynk | 2000-9000 mg kg ⁻¹ 270-1470 mg kg ⁻¹ 100-520 mg kg ⁻¹ 1,3-6,4 mg kg ⁻¹ 1,0-3,5 mg kg ⁻¹ | 400-1100 mg kg ⁻¹ 400-850 mg kg ⁻¹ b.d. 23 mg kg ⁻¹ 19 mg kg ⁻¹ |
| Błonnik pokarmowy | 2,0-2,5% | b.d. |
| Witamina C | 115-257 mg kg ⁻¹ św. m. | 148-769 mg kg ⁻¹ |
| Witamina B ₆ | 2,1-3,0 mg kg ⁻¹ | 3,0-6,4 mg kg ⁻¹ |
| Związki fenolowe | 150-900 mg kg ⁻¹ | 550-1900 mg kg ⁻¹ |
| Karotenoidy | 1,1 -3,0 mg kg ⁻¹ | 17,1-100,0 mg kg ⁻¹ |
| Antocyjany | b.d. | 151-3400 mg kg ⁻¹ |

b.d. – brak danych

Ziemniaki o miąższu „białym” dostarczają do diety kluczowych składników odżywczych, a najcenniejszymi są: białko, witamina C, potas, błonnik pokarmowy [3, 12, 26, 29]. Bulwy są także dobrym źródłem łatwostrawnych węglowodanów, które stanowią około 80% suchej masy, a także pełnowartościowego białka (6-10% suchej masy), które bogate jest w aminokwasy egzogenne, a w szczególności lizynę, co zwiększa ich znaczenie jako ważnego składnika w codziennej diecie człowieka. Wartość odżywcza białka ziemniaka jest porównywalna z wartością odżywczą białka jaja kurzego oraz przewyższa jakość białek innych roślin [3, 27]. Ważnym składnikiem bulwy ziemniaka jest witamina C, której zawartość w zarejestrowanych w Polsce odmianach wynosi od 115 do 257 mg kg świeżej masy [28]. Jest ona najsilniej działającym przeciwutleniaczem rozpuszczalnym w wodzie, który pełni rolę ochronną w stosunku do chorób nowotworowych i chorób układu krążenia. Witamina C neutralizuje aktywność wolnych rodników, które w żywności powstają głównie podczas smażenia, wędzenia i przechowywania [18-29]. W ziemniaku występują też inne witaminy, takie jak B₁, B₂, B₆ i kwas nikotynowy. O wartości

żywnościowej bulwy decydują również składniki mineralne. Szczególnie cenne są: potas, wapń i magnez – mają działanie zasadotwórcze, neutralizują zakwaszające działanie mięsa, ryb i przetworów zbożowych. Ponadto potas reguluje pracę serca i obniża ciśnienie tętnicze. Magnez poprawia przemianę materii, łagodzi stany zmęczenia i stres. Spożywanie ziemniaka pokrywa też częściowo zapotrzebowanie organizmu na fosfor, jod, żelazo, miedź i cynk [3, 12, 18]. Z żywnościowego punktu widzenia cenny jest błonnik pokarmowy, który jest niezbędny w pożywieniu, gdyż „rozcieńcza” składniki odżywcze i wspomaga działanie enzymów trawiennych oraz zwiększa treść pokarmową, dając uczucie sytości [21]. Do związków prozdrowotnych w ziemniakach o tradycyjnym zabarwieniu mięszu zalicza się także związki fenolowe i karotenoidy, które występują w niewielkich ilościach w porównaniu do bulw kolorowych, natomiast w ziemniakach o kolorowym mięszu również antocyjany – związki barwne o wysokim potencjale przeciwutleniającym (Tabela 1) [22, 25, 27]. Według Hamouz i in. [23], Nemš i in. [27] odmiany o kolorowym mięszu zawierały 6-9-krotnie więcej związków polifenolowych i odznaczały się 6-7-krotnie większą aktywnością przeciwutleniającą niż odmiany jasne. Antocyjany korzystnie wpływają na organizm człowieka, ponieważ prowadzą do wygaszania wolnych rodników tlenowych i tym samym chronią DNA przed uszkodzeniami [30]. O tym, że dieta bogata w przeciwutleniacze wiąże się z rzadszym występowaniem miażdżycy serca, niektórych nowotworów, zwyrodnienia płamki żółtej, a także nasilenia zaćmy – świadczą spostrzeżenia kolejnych badaczy – zatem ich działanie jest znaczące dla zdrowia człowieka [18, 26, 29, 31, 32].

W Europie pierwsze doniesienia o uprawie fioletowych ziemniaków zwanych też trufłowymi pochodzą z XIX wieku, z Francji, gdzie opisywane są bulwy odmiany Vitelotte. Ta stara odmiana, tak naprawdę pochodząca z Chile i Peru, od wielu lat uprawiana jest we Francji, zwłaszcza w rejonie Pikardii, obszarze położonym w północnej części kraju nad kanałem La Manche. W smaku przypomina inne ziemniaki, ale jej ziemniaczany smak jest intensywniejszy. Skórka fioletowych ziemniaków jest twardsza, a wszystko co najcenniejsze znajduje się we wnętrzu bulwy. O fioletowych ziemniakach wspomina również Aleksander Dumas, znany pisarz i dramaturg francuski, a jednocześnie miłośnik kuchni, który twierdził, że fioletowe ziemniaki są smaczniejsze i zdrowsze niż białe. Obecnie na szeroką skalę uprawiane są w Chile i Peru. Do Polski zostały sprowadzone w połowie lat 70. XX wieku. Jednak dopiero na początku XXI wieku fioletowym ziemniakiem zainteresowali się szefowie kuchni, wciąż poszukujący nowych inspiracji. Fioletowy ziemniak trafił najpierw na talerze pięciogwiazdkowych restauracji, a stamtąd na nasz stół powszedni. Kolorowe ziemniaki występują w licznych odmianach różniących się kształtem i intensywnością zabarwienia bulw. Sprawdzają się jako samodzielny, kolorowy dodatek, są atrakcją stołu, dodają egzotyki potrawom, są po prostu smaczne i zdrowe [20, 22, 33, 34].

Na świecie istnieje ponad 4000 różnych odmian ziemniaka, z których większość znajduje się w Peru i Chile. W Unii Europejskiej we Wspólnym Katalogu Odmian Roślin Rolniczych – CCA dostępnych jest ok. 1700 odmian, a w Polsce w 2022 roku do Krajowego Rejestru wpisano 108 odmian ziemniaka [35, 36]. Badaniami nad ziemniakiem zajmuje się wiele instytucji. W 1971 roku w Limie w Peru założono organizację Międzynarodowe Centrum Ziemniaka (CIP), która prowadząc prace badawcze, ma na celu rozwój zdolności produkcyjnych *Solanum tuberosum* poprzez poprawę wykorzystania zasobów, a zwłaszcza technologii [37]. Także instytucja rządu chilijskiego INIA (Agriculture Research Institute of Chile) prowadziła badania nad różnorodnością genetyczną i opracowała nowe odmiany ziemniaków kolorowych o wysokim stężeniu antocyjanów w miększu, które mogą stanowić surowiec do barwienia żywności i ekstrakcji składników oraz zagwarantować nową, zdrową żywność i bezpieczną globalną produktywność żywności. Jednocześnie stwierdzono, że podczas procesu trawienia stabilność antocyjanów jest osłabiona, ponieważ ulegają zmianom pH i trawiennej aktywności enzymatycznej. Dlatego potrzebna jest stabilizacja antocyjanów, aby utrzymać ich zdrowotne działanie w organizmie człowieka i zwiększyć jego pozytywne działanie. Stabilność antocyjanów można poprawić dzięki zastosowaniu technologii mikrokapsułkowania [38, 39, 40]. Mikrokapsułkowanie antocyjanów przyczyni się do rozwoju nowych produktów z kolorowych ziemniaków w postaci proszku, potencjalnie przydatnych jako barwniki w przemyśle spożywczym stosowane w napojach, przekąskach, produktach mlecznych, także w napojach bezalkoholowych, zastępując barwnik E163 [41, 42]. Również w Polsce przed około 15 laty w Hodowli Ziemniaka Zamarte podjęto prace hodowlane mające na celu uzyskanie ziemniaka o fioletowej barwie miększu [43]. Efektem prowadzonych badań jest polska wczesna odmiana ziemniaka o nazwie Provita o fioletowej barwie skórki i fioletowym miększu. Została ona wpisana do Krajowego Rejestru Odmian w 2021 roku [28]. Odmianę tę wyróżnia typ kulinarny B ogólnoużytkowy, zawartość skrobi ok. 13,5%, bulwy są średniej wielkości o regularnym kształcie, plon w granicach 22-37 t/ha, wyróżnia ją delikatnie wyczuwalny smak antocyjanów, których ilość jest zbliżona do ilości barwników obecnych w truskawkach, czerwonej kapuście czy czerwonej cebuli. Ponadto zawiera ona inne cenne składniki, tak jak wszystkie białe ziemniaki [28, 44]. Wcześniej w naszym kraju było niewielkie zainteresowanie przemysłu, handlu oraz konsumentów fioletowymi ziemniakami. Dopiero od niedawna zaobserwowano wzrost ich popularności, co prawdopodobnie było spowodowane większą świadomością klientów poszukujących produktów alternatywnych, zawierających oprócz składników występujących w tradycyjnej formie, także takich, które mają dodatkowe substancje prozdrowotne [43]. Stąd ziemniak – przybysz z Ameryki Południowej – określany jest mianem rośliny wszechczasów i najspanialszym darem Ameryki.

Literatura

- [1] Marczewski W., Biotechnologia w hodowli ziemniaka, *Biotechnologia*, 2008, 2(81), s. 20-26.
- [2] Leszczyński W., Historia ziemniaka, *Ziemniak Polski*, 2007, 17(4), s. 4-7.
- [3] Leszczyński W., Żywnościowa wartość ziemniaka i przetworów ziemniaczanych, *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*, 2012, 266, s. 5-20.
- [4] Gutaker R.M., WeiB C.L., Ellis D., Anglin N.L., Knapp S., Luis Fernandez-Alonso L., Prat S., Burbano H., The origins and adaptation of European potatoes reconstructed from historical genomes, *Nature Ecology & Evolution*, 2019, 3(7), s. 1093-1101 (dostęp 12.07.2022).
- [5] Papa – Peruvian Potatoes – LimaEasy, <https://www.limaeasy.com> › papa-p... (dostęp 13.07.2022).
- [6] Korolewicz K., VIVA LA PAPA! Peru i Boliwia – kolebka ziemniaków, *Ziemniak Polski*, 2013, 2, s. 55-57.
- [7] Nowacki W., Historyczne i współczesne znaczenie ziemniaka w Europie oraz na ziemiach polskich, *Ziemniak Polski*, 2017, 1, s. 48-52.
- [8] Hawkes J.G., Francisco-Ortega J., The early history of the potato in Europe, *Euphytica*, 1993, 1-2(70), s. 1-7.
- [9] Ovchinnikova A., Krylova E., Gavrilenko T., Smekalova T., Zhuk M., Knapp S., Spooner D.M., Taxonomy of cultivated potatoes (*Solanum* section *Petota: Solanaceae*), *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2011, 165, s. 107-155.
- [10] Zarzecka K., Ziemniak – skarb królów i nędzarzy, *Natura i Ty*, 2017, 5-6, s. 26-30.
- [11] Ratuszniak E., 400 lat ziemniaka w Europie, *Ziemniak Polski* 1992, 3, s. 1-6.
- [12] Zarzecka K., Potato as a global plant nutritional dietary and medicinal values. *Rozprawy Naukowe PWSZ im. Jana Pawła II, Biała Podlaska*, 2009, 3, s. 163-175.
- [13] Zalewski P., Ziemniak jako roślina uprawna – fragmenty historii, *Inżynieria Rolnicza*, 2009, 5(114), s. 311-318.
- [14] Gruzewska A., Zarzecka K., Gugęła M., Paprocka S., Produkcja i znaczenie konsumpcyjne ziemniaka i rzepaku w Polsce i w wybranych krajach UE, *Zeszyty Naukowe SGGW, Problemy Rolnictwa Światowego*, 2016, 16(2), s. 85-93.
- [15] Rynek ziemniaka. Stan i perspektywy. *Analizy rynkowe*, (red.) W. Dzwonkowski, wyd. IERiGŻ-PIB, Warszawa, 2021, 48, s. 1-36.
- [16] Nowacki W., Stan aktualny i perspektywy produkcji ziemniaka w Polsce do roku 2020, *Studia i Raporty IUNG-PIB*, 2009, 14, s.71-94.
- [17] King J.C., Slavin J.L., White Potatoes, Human Health, and Dietary Guidance, *Advances in Nutrition*, 2013, 4(3), s. 393S-401S.
- [18] Camire M.E., Kubow S., Donnelly D.J., Potatoes and human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2009, 49, s. 823-840.
- [19] Dereje B., Chibuzo N., Nutritional Composition and Biochemical Properties of *Solanum tuberosum*, (in) *Solanum tuberosum – A Promising Crop for Starvation Problem*, Edited by M. Yildiz and Y. Ozgen, IntechOpen, 2021, s. 1-12.
- [20] Pino M.T., Vergara C., Edited by M. Yildiz and Y. Ozgen, Red and Purple Flesh Potatoes a Healthy and Attractive Alternative Associated with New Market Trends, (in) *Solanum tuberosum – A Promising Crop for Starvation Problem*, IntechOpen, 2021, s. 1-16 (dostęp 16.07.2022).

- [21] Sawicka B., Noema A.H., Krochmal-Marczak B., Ziemniak (*Solanum Tuberosum* L.) jako roślina o wysokich wartościach odżywczych i właściwościach leczniczych, [w:] Właściwości prozdrowotne roślin i ich metabolitów wtórnych, (red.) M. Maciąg i K. Maciąg, wyd. Tygiel Lublin, 2018, s. 83-97.
- [22] Vaitkevičienė N., Kulaitienė J., Jarienė E., Levickienė D., Danillčenko H., Srednicka-Tober D., Rembiałkowska E., Hallmann E., Characterization of Bioactive Compounds in Colored Potato (*Solanum Tuberosum* L.) Cultivars Grown with Conventional, Organic, and Biodynamic Methods, Sustainability, 2020, 12, 2701.
- [23] Hamouz K., Lachman J., Pazderů K., Tomášek J., Hejtmánková K., Pivec V., Differences in anthocyanin content and antioxidant activity of potato tubers with different flesh colour, Plant Soil and Environment, 2011, 57(10), s. 478-485.
- [24] Vaitkevičienė N., Jarienė E., Ingold R., Peschke J., Effect of biodynamic preparations on the soil biological and agrochemical properties and coloured potato tubers quality, Open Agriculture, 2019, 4, s. 17-23, DOI: 10.1515/opag-2019-0002.
- [25] Rytel E., Agnieszka Nemś A., Pęksa A., Kita A., Miedzianka J., Tajner-Czopek A., Kucharska A.Z., Sokół-Łętowska A., Hamouz K., Original article Discolouration of raw and cooked coloured fleshed potatoes differing in anthocyanins and polyphenols content, International Journal of Food Science and Technology, 2019, 54, s. 92-101.
- [26] Beals K.A., Potatoes, Nutrition and Health, American Journal of Potato Research, 2019, 96, s. 102-110.
- [27] Nemś A., Miedzianka J., Pęksa A., Kita A., Zawartość związków prozdrowotnych w ziemniakach odmian o różnej barwie miąższu, Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, 2015, 3(48), s. 473-478.
- [28] Charakterystyka krajowego rejestru odmian ziemniaka, (red.) W. Nowacki, wyd. IHAR-PIB Oddział Jadwisin, Jadwisin, 2021, XXIV, s. 1-44.
- [29] McGill C.R., Kurilich A.C., Davignon J., The role of potatoes and potato components in cardiometabolic health: A review, Annals of Medicine, 2013, 45, s. 467-473.
- [30] Renis M., Calandra L., Scifo C., Tomasello B., Cardile V., Vanella L., Bei R., Fauci L. L., Galvano F., Response of cell cycle/stress-related protein expression and DNA damage upon treatment of CaCO₂ cells with anthocyanins, British Journal of Nutrition, 2007, 100(1), s. 1-9.
- [31] Nemś A., Pęksa A., Miedzianka J., Kita A., Tajner-Czopek A., Zawartość polifenoli i aktywność antyoksydacyjna ziemniaków ugotowanych odmian o czerwonym i fioletowym miąższu, blanszowanych w różnych warunkach, [w:] Żywność a składniki bioaktywne, (red.) I. Drożdż, T. Tarko, E. Bernaś, M. Liszka-Skoczyła, J. Słupski, wyd. Oddział Małopolski Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności w Krakowie, 2018, 24-25 września, s. 35.
- [32] Zarzecka K., Gugała M., Zarzecka M., Ziemniak jako dobre źródło składników odżywczych, Postępy Fitoterapii, 2013, 3, s. 191-194.
- [33] Pino M.T., Vergara C., Edited by M. Yildiz, Ozgen Y., Red and Purple Flesh Potatoes a Healthy and Attractive Alternative Associated with New Market Trends, (in) *Solanum tuberosum* – A Promising Crop for Starvation Problem, IntechOpen, 2021, s. 1-16. (dostęp 16.07.2022).
- [34] Majewska M., Fioletowe ziemniaki – właściwości i wartości odżywcze, Poradnik Zdrowie, 2019, <https://www.poradnikzdrowie.pl/diety-i-zywienie/co-jesz/> (dostęp 12.07.2022).

- [35] Purple potatoes may slash risk of colon cancer and inflammatory bowel diseases, study finds, www.dailymail.co.uk/health/article-4910362/Purple-potatoes-slash-risk-colon-cancer-IBD.html (dostęp 20.07.2022).
- [36] Wspólnotowe katalogi – Krajowy rejestr – coboru, Common catalogue of varieties of agricultural plant species, *Solanum tuberosum*, 2021, <https://coboru.gov.pl> > kr_wk (dostęp 12.07.2022).
- [37] Lenartowicz T., Lista opisowa odmian roślin rolniczych, Ziemniak, wyd. Centralny Ośrodek Badania Odmian Roślin Uprawnych, Słupia Wielka, 2022, s. 1-38.
- [38] Międzynarodowe Centrum Ziemniaka – QWERTY.WIKI https://pl.frwiki.wiki/wiki/Centre_international_de_l... (dostęp 20.07.2022).
- [39] Mahdavi S.A., Jafari S.M., Ghorbani M., Assadpoor E., Spray-Drying Microencapsulation of Anthocyanins by Natural Biopolymers: A Review, *Drying Technology*, 2014, 32, s. 509-518.
- [40] Fredes C., Becerra C., Parada J., Robert P., The Microencapsulation of Maqui (*Aristotelia chilensis* (Mol.) Stuntz) Juice by Spray-Drying and Freeze-Drying Produces Powders with Similar Anthocyanin Stability and Bioaccessibility, *Molecules*, 2018, 23, 1227.
- [41] Rosa J.R. da., Nunes G.L., Motta M.H., Fortes J.P., Weis G.C.C., Hecktheuer L.H.R., Muller E.I., Menezes C.R.de., Rosa C.S.da., Microencapsulation of anthocyanin compounds extracted from blueberry (*Vaccinium* spp.) by spray drying: Characterization, stability and simulated gastrointestinal conditions, *Food Hydrocolloid*, 2019, 89, s. 742-748.
- [42] Sampaio S.L., Lonchamp J., Dias M.I., Liddle C., Petropoulos S.A., Glamočlija J., Alexopoulos A., Santos-Buelga C., Ferreira I.C.F.R., Barros L., Anthocyanin-rich extracts from purple and red potatoes as natural colourants: Bioactive properties, application in a soft drink formulation and sensory analysis, *Food Chemistry*, 2021, 342.
- [43] Vergara C., Pino M.T., Zamora O., Parada J., Pérez R., Uribe M., Kalazich J., Microencapsulation of anthocyanin extracted from purple flesh cultivated potatoes by spray drying and its effects on in vitro gastrointestinal digestion, *Molecules*, 2020, 25(3), 722.
- [44] Bech A., Hodowla oraz właściwości prozdrowotne ziemniaków o fioletowej barwie mięszu, *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*, 2020, 290(1), s. 11-14.
- [45] Zarzecka K., Gugąła M., Kolorowe ziemniaki nową szansą, *Wiadomości Rolnicze*, 2021, 3, s. 10-11.

Do cytowania:

Zarzecka K., Ginter A., Gugąła M., Mystkowska M., Ziemniak kolorowy – uprawiany wczoraj, dziś, jutro, *Herbalism*, 2022, 1(8), s. 130-139.

Ocena wybranych parametrów jakościowych miodu Evaluation of selected quality parameters of honey

Magdalena Dykiel, Edyta Rygiel, Barbara Krochmal-Marczak, Jolanta Baran

Karpacka Państwowa Uczelnia w Krośnie, Rynek 1, 38-400 Krosno

e-mail: magdalena.dykiel@kpu.krosno.pl

Słowa kluczowe: miód rzepakowy, miód lipowy, miód akacjowy, miód gryczany, miód wielokwiatowy, miód spadziowy

Key words: rapeseed honey, linden honey, acacia honey, buckwheat honey, multiflower honey, honeydew honey

Streszczenie

Celem pracy była ocena jakości wybranych miodów odmianowych dostępnych na rynku polskim. Ocenę przeprowadzono na podstawie wybranych parametrów ich zgodności z normami określonymi w obowiązujących przepisach. Materiał badawczy stanowiło sześć odmian miodów (rzepakowy, lipowy, akacjowy, gryczany, wielokwiatowy i spadziowy). Badania obejmowały oznaczenie wilgotności miodu, oznaczenie zawartości wody metodą refraktometryczną, kwasowości ogólnej. Wykonano oznaczenie zanieczyszczeń mechanicznych miodów oraz zafałszowań (wykrywanie obecności skrobi i sacharozy), a także pomiar barwy. Większość badanych miodów spełniała wymogi stawiane przez normy. Zaobserwowane ewentualne odstępstwa były niewielkie. Tylko jeden spośród ocenianych miodów, tj. próbka miodu lipowego wykazała minimalnie większą zawartość wody (20,13%), co może wskazywać np. na ich niepełną dojrzałość. Kwasowości w miodach rzepakowym, lipowym, akacjowym oraz spadziowym nie budziły zastrzeżeń. Kwasowość w miodach gryczanym oraz wielokwiatowym była podwyższona. W przebadanych miodach została przekroczona dopuszczalna ilość zanieczyszczeń mechanicznych. Nie stwierdzono obecności skrobi w miodach. Zawartość sacharozy w przebadanych miodach nie budziła zastrzeżeń, gdyż była znacznie niższa niż podaje norma.

Summary

The aim of this study was to evaluate the quality of selected varietal honeys available on the Polish market. The evaluation was carried out based on selected parameters, their compliance with standards specified in valid regulations. Research material

consisted of 6 varieties of honey: rape, lime, acacia, buckwheat, multiflower and honeydew. The research included determination of moisture of honey, determination of water content by refractometric method, total acidity. Mechanical impurities of the honeys as well as adulteration (detection of starch and sucrose) and color measurement were performed. Most of the examined honeys met the requirements set by the standards. Any deviations observed were small. Only one of the tested honeys, i.e. the sample of lime honey, showed minimally higher water content (20.13%), which may indicate e.g. their incomplete maturity. Acidity in rapeseed, lime, acacia and honeydew honeys did not raise any objections. Acidity in buckwheat and multiflower honeys was elevated. The permissible amount of mechanical impurities, was exceeded in the examined honeys. No starch was found in the honeys. The sucrose content in the examined honeys did not raise any objections, as it is much lower than stated in the Standard.

Wprowadzenie

Według Wilczyńskiej [1] miód pszczeli jest jednym z najbardziej naturalnych oraz wartościowych składników diety człowieka i dlatego zajmuje szczególne miejsce w jego żywieniu. Zarówno młodym, jak i dorosłym organizmom dostarcza ważnych składników budulcowych, energetycznych i regulujących, przyczynia się również do polepszenia sprawności fizycznej, a także psychicznej [2].

Miód to produkt o zróżnicowanym składzie chemicznym, który zależy głównie od rodzaju i gatunku rośliny z jakiej pochodzi, a także od warunków środowiskowych, klimatu oraz ingerencji pszczelarza w proces wytwarzania miodu w ulu oraz od sposobu jego pozyskiwania i przechowywania [3]. O dobrej jakości miodu w dużej mierze decydują jego właściwości organoleptyczne, które składają się ze smaku, barwy, konsystencji i aromatu. Parametry te są różne dla poszczególnych odmian produktu.

Jakość miodu pszczelego zależy przede wszystkim od umiejętności i kwalifikacji pszczelarzy, którzy odpowiadają za sposób odbierania, konfekcjonowania i przetwarzania miodu [4]. Miód pozyskany zgodnie z zasadami sztuki pszczelarskiej zazwyczaj charakteryzuje się dobrą jakością. W aspekcie handlowym pojęcie „jakość miodu” obejmuje właściwości fizykochemiczne produktu określone w Rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 maja 2015 r. zmieniającym rozporządzenie w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej miodu [5].

Pszczelarstwo odgrywa istotną rolę w gospodarce, dostarczając konsumentom produktów pszczelich, wśród których niewątpliwie największe znaczenie ma miód. Celem pracy była ocena jakości wybranych miodów odmianowych dostępnych na rynku polskim. Ocenę przeprowadzono na podstawie wybranych parametrów, ich zgodności z normami określonymi w obowiązujących przepisach.

Materiał i metody badań

Materiał badawczy obejmował sześć odmian miodów rynkowych: rzepakowy, lipowy, akacjowy, gryczany, wielokwiatowy, spadziowy. Wszystkie produkty pochodziły z polskich pasiek i były dostępne w sieciach handlowych.

Badania obejmowały oznaczenie: zawartości wody metodą refraktometryczną [6], pH [7], kwasowości ogólnej [6]. Wykonano badanie: zanieczyszczeń mechanicznych miodów [8], oceny występowania zafałszowań (wykrywanie obecności skrobi i sacharozy) [6], a także pomiaru barwy [9]. Materiał doświadczalny stanowiło 18 próbek miodów sześciu odmian, wszystkie pomiary wykonano w trzech powtórzeniach.

Oznaczenie zawartości wody w miodzie metodą refraktometryczną

Pobrano próbkę miodu do kolby. Kolbę umieszczono w łaźni wodnej o temperaturze 50°C do rozpuszczenia kryształów miodu. Następnie kolbę ochłodzono do temperatury 20°C. Próbkę nałożono na przyzmat refraktometru Abbego typ DR-A1, oświetlono pole widzenia, a następnie odczytano wartość współczynnika załamania światła.

Oznaczanie pH

Do pomiaru pH użyto pH-metru firmy ELMETRON CP-505 z elektrodą szklaną kombinowaną. Przed przystąpieniem do pomiarów próbki rozcieńczono do roztworów 20%. Wybrane rozcieńczenie jest zgodne z przyjętymi w normie PN-88/A-77626 [7]. W celu dokonania pomiaru zanurzano elektrodę szklaną w naczynku z roztworem miodu, po ustabilizowaniu się wskazań pH-metru odnotowywano wynik.

Badanie kwasowości ogólnej miodu

Kwasowość oznaczono metodą miareczkową, odważono 5 g miodu z dokładnością do 0,01 g i rozpuszczono w 100 cm³ wody destylowanej, następnie dodano 3 krople 2% alkoholowego roztworu fenoloftaleiny i miareczkowano 0,1 M roztworem NaOH do uzyskania słabo różowego zabarwienia nieznikającego w ciągu 1 minuty. Stopień kwasowości miodu (X) określono ze wzoru:

$$X = 20 Vn$$

gdzie:

n – stężenie roztworu NaOH,

V – objętość 0,1 M roztworu NaOH zużyta podczas miareczkowania (cm³).

Badanie zanieczyszczeń mechanicznych miodów

Odważono 25 g miodu z dokładnością do 0,01 g i rozcieńczono w 100 ml wody w temperaturze 70°C, sączek ilościowy suszono w naczynku wagowym w temperaturze 100°C-150°C przez 1 godzinę i zważono z dokładnością do 0,0001 g.

Rozpuszczony miód sączono przez przygotowany sączonek, a powstały osad na sączku przemyto czterokrotnie wodą o temperaturze 70°C. Sączek z osadem umieszczono w zważonym naczynku wagowym i suszono przez 1 godzinę w suszarce w temperaturze 100°C–150°C. Po ostudzeniu zważono sączek z dokładnością do 0,0001 g. Zawartość zanieczyszczeń mechanicznych (Z) określono ze wzoru:

$$Z = \frac{m_z}{m} \times 100\%$$

gdzie:

m_z – masa zanieczyszczeń (g),

m – masa oznaczanego miodu (g).

Badanie zafalszowań miodów:

Wykrywanie obecności skrobi w miodzie

Badany miód rozcieńczono z wodą w stosunku 1:4, zagotowano, ostudzone, a następnie dodano 2–3 krople roztworu Lugola i wstrząsano. Niebieskie zabarwienie świadczy o zafalszowaniu miodu skrobią.

Badanie zafalszowań miodu sacharozą

Do kolby miarowej o pojemności 100 cm³ przeniesiono 6,5 g miodu i dodano ciepłej destylowanej wody do około $\frac{3}{4}$ % objętości kolby. Mieszano roztwór przez 15 min. i odstawiono na 10 minut, następnie odłano połowę roztworu i przeprowadzono klarowanie roztworu odczynnikami: Carreza I – 2 cm³ 15% roztworu heksacyjanożelazian(II) potasu i odczynnikiem Carreza II – 4 cm³ 23% roztworu octanu cynku(II). Kolbę uzupełniono wodą do 50 cm³ – mieszano i po 10 minutach sączono przez sączek ilościowy. Przeprowadzono pomiar zawartości sacharozy na polarymetrze. Procentową zawartość sacharozy (C) obliczono ze wzoru:

$$C = 0,26 (a + \Delta a)$$

gdzie:

0,26 – współczynnik do obliczenia %-wej zawartości sacharozy,

a – zawartość sacharozy odczytana z polarymetru,

Δa – poprawka na temperaturę:

$$\Delta a = 0,01 (T_p + T_w)$$

T_p – temperatura podanego produktu °C,

T_w – temperatura wzorcowa °C.

Badanie barwy miodu

Badania przeprowadzono, stosując instrumentalny pomiar barwy przy użyciu urządzenia Chroma Meter Cr-400, Konica–Minolta. Pomiary wykonano w systemie CIELAB opartym na pomiarze trzech składowych trójchromatycznych ($L^*a^*b^*$):

- (L^*) jasność barwy zasadniczo przyjmuje wartości dodatnie i może przybierać wartości od 0 dla ciała idealnie czarnego do 100 dla ciała idealnie białego,
- (a^*) chromatyczność w zakresie czerwono-zielonym oznacza barwę czerwoną, jeśli przyjmuje wartości dodatnie, zieloną – jeżeli przyjmuje wartości ujemne, a szarą, gdy wskazuje wartość równą 0,
- (b^*) chromatyczność w zakresie żółto- niebieskim oznacza barwę żółtą, jeżeli przyjmuje wartości dodatnie, niebieską, jeżeli przyjmuje wartości ujemne, a szarą, jeżeli wskazuje wartość równą 0.

Analiza statystyczna

Analizę statystyczną wykonano za pomocą programu Statistica TIBC, wersja 13.3 (StatSoft) [10], metodą jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA. Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi weryfikowano testem Tukey'a. Różnice przyjęto jako statystycznie istotne przy poziomie istotności $P < 0,05$.

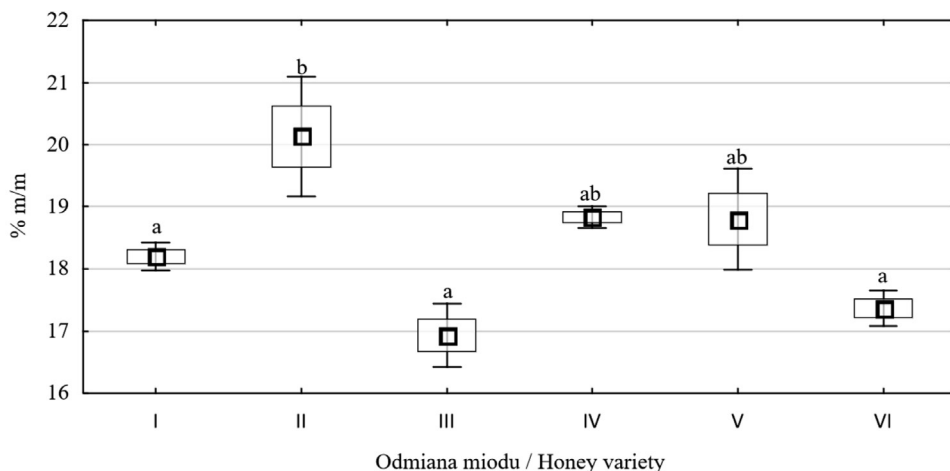
Wyniki i dyskusja

Akty prawne, takie jak Dyrektywa [11] i Rozporządzenie [12], odnoszące się do wymagań jakościowych miodów ustanawiają granicę zawartości wody na poziomie nie wyższym niż 20%, z wyjątkiem miodu wrzosowego, dla którego granica ta została ustalona na poziomie nie większym niż 23%. Na zawartość tę wpływa głównie temperatura i wilgotność otoczenia w trakcie przetwarzania przez pszczoły nektaru, a także warunki atmosferyczne panujące w czasie jego pozyskiwania przez człowieka. Zawartość wody w miodach krajowych jest zróżnicowana i zależy od regionu pozyskania oraz odmiany miodu [13]. Jeżeli zawartość wody wynosi powyżej 20%, to miód uważa się za niedojrzały (wyjątek stanowi miód wrzosowy, dla którego norma wynosi do 23%) (Dz. U. 2003, nr 181, poz. 1773) [12].

Dane literaturowe wskazują na dużą rozpiętość w zawartości wody w zależności od odmiany miodu i warunków jego pozyskania. Badania polskich miodów odmianowych pokazują, iż średnia zawartość wody wynosi od 15,5% dla miodów nektarowo-spadziowych do 18,6% dla miodu lipowego i nawet 19,6% dla gryczanego [14]. Badania Siudy i wsp. [15] miodów odmianowych pozyskanych z regionu warmińsko-mazurskiego przeprowadzone na 584 próbkach pokazały, że w 353 przypadkach (60,5%) nie spełniają one norm jakościowych pod względem zawartości wody w miodzie. Pozyskanie „rzadkiego” miodu może

wynikać z błędów popełnionych przez pszczelarza lub splotu uwarunkowań pożytkowo-pogodowych. Miód o zwiększonej zawartości wody nie nadaje się do przechowywania. Może być wykorzystany jako surowiec niepełnowartościowy w przetwórstwie (zastosowanie w piekarnictwie, produkcji miodu pitnego) lub poddany procesom zagęszczania w celu odparowania wody.

Z przeprowadzonych badań własnych wynika, że tylko jeden spośród badanych miodów, tj. próbka miodu lipowego wykazała minimalnie większą zawartość wody (20,13%), co może wskazywać, np. na jego niepełną dojrzałość (Wykres 1).



Wykres 1. Zawartości wody w analizowanych próbkach miodu.

Figure 1. Water content of the analyzed honey samples.

Objaśnienia: Odmiana miodu: I – miód rzepakowy, II – miód lipowy, III – miód akacjowy, IV – miód gryczany, V – miód wielokwiatowy, VI – miód spadziowy

a, b – wartości oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($P < 0,05$)

Explanations: Honey variety: I – rapeseed honey, II – lime honey, III – acacia honey, IV – buckwheat honey, V – multiflower honey, VI – honeydew honey

a, b – values marked with different letters are statistically significantly different ($P < 0,05$)

Największą zawartością wody charakteryzował się miód lipowy i była to wartość statystycznie istotna w porównaniu z próbkami miodu rzepakowego, akacjowego, a także spadziowego, dla których odnotowano najniższą zawartość wody. Największym zróżnicowaniem w zawartości wody charakteryzował się miód lipowy, dla którego odchylenie standardowe wynosiło 0,69%.

Badania przeprowadzone przez Jasińską i wsp. [16] – dotyczące fizykochemicznej analizy miodów z rejonu Podkarpacia, w której autorki zbadały zawartości wody – wykazały, że dla badanych miodów tylko w miodzie rzepakowym stwierdzono wyższą zawartość wody. Z kolei w badaniach Żak i wsp. [17] dotyczących jakości miodów zagranicznych wykazano, że zawartość wody w badanych próbkach wahała się na poziomie od $16,73 \pm 0,1\%$ (Hiszpania, miód eukaliptusowy) do $19,63 \pm 0,1\%$

(Sycylia, miód limonkowy). Autorzy zauważyli w swoich badaniach, iż miody pochodzące z Sycylii oraz Meksyku (bez względu na swoją odmianę) charakteryzowały się zawartością wody ok. 19%, a miody z Francji, Hiszpanii oraz Włoch na poziomie ok. 17%.

Z przeprowadzonych badań własnych wynika, że najmniejszą, a zarazem zbliżoną do siebie wartością, charakteryzowały się miody: rzepakowy, lipowy, akacjowy od 2,4 do 2,5 pH. Wyższymi wartościami charakteryzowały się miody: wielkowieńcowy (7,2 pH), spadziowy (4,5 pH) i miód gryczany (4,2 pH).

Zbyt niska kwasowość miodu jest skutkiem przerobienia przez pszczoły samej sacharozy, zbyt wysoka zaś wynika z fermentacji miodu [18]. Wyższe wartości pH tłumaczy się większą zawartością związków mineralnych [19].

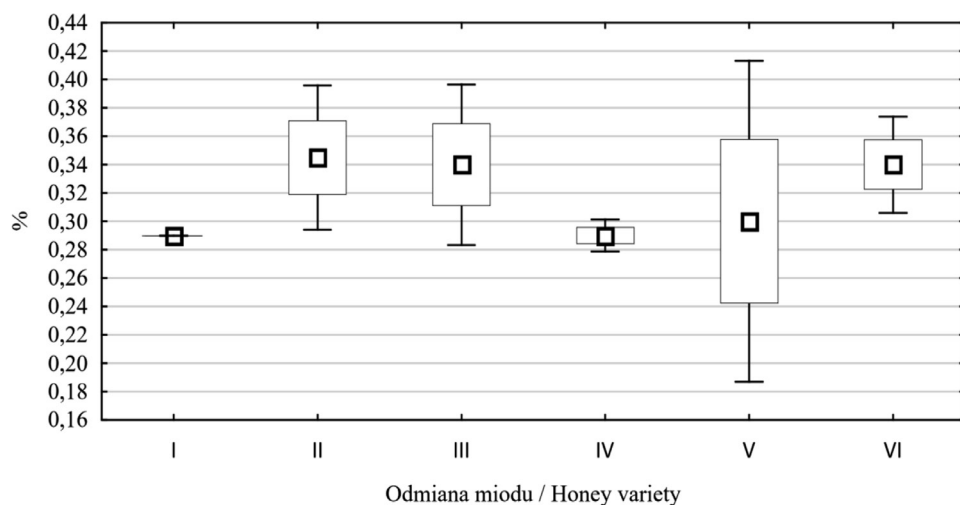
W Rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 3 października 2003 r. w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej miodu (Dz. U. Nr 181, poz. 1773 ze zm.) [12] brak jest wymagań dotyczących zakresu wartości pH. Związkami mającymi wpływ na aromat i wyznaczającymi dojrzałość miodu są kwasy organiczne. Ze względu na różnorodną zawartość kwasów organicznych odczyn miodu jest kwaśny, niezależnie od jego geograficznego pochodzenia, wartość pH polskich miodów odmianowych waha się w granicach: 3,6-5,0 [20]. W badaniach Szczęsnej i wsp. [21] zakres pH w miodach ekologicznych kształtował się w przedziale od 4,10 do 4,33 pH.

Jednym z podstawowych parametrów fizykochemicznych określających pochodzenie miodu jest jego kwasowość. Zawartość kwasów organicznych w miodzie nadaje mu specyficzny smak, a także powoduje, że miody mają kwaśny odczyn. Ich przeciętna zawartość wynosi ok. 1,5% suchej masy, z czego najwięcej, bo aż 70 ÷ 90% ogólnej ilości tych związków stanowi kwas glukonowy. Ponadto w miodzie wykryto takie kwasy, jak: mrówkowy, winowy, octowy, szczawiowy, malonowy, kapronowy, kaprylowy, jabłkowy, bursztynowy, mlekowy, cytrynowy, walerianowy [22].

Według Polskiej Normy kwasowość ogólna w miodzie pszczelim powinna zawierać się w przedziale 1-5 cm³ 1n NaOH na 100 g miodu (PN-88/A-77626) [7]. Wyniki badania kwasowości w miodach rzepakowym, lipowym, akacjowym oraz spadziowym nie budziły zastrzeżeń, gdyż ich kwasowość nie przekraczała wartości 50 mval·kg⁻¹. Natomiast kwasowość w miodach gryczanym oraz wielokwiatowym była podwyższona. Również Majewska i wsp. [23] w swoich badaniach odnotowały podwyższoną zawartość wolnych kwasów organicznych w miodzie gryczanym. Autorzy wyjaśniają, że może to świadczyć o jego fermentowaniu na skutek rozwoju drobnoustrojów. Wysoka kwasowość miodu uniemożliwia jego przechowywanie. Wzrasta ona wraz z dojrzewaniem miodów na skutek procesów enzymatycznych. Ilość wolnych kwasów w produkcie świadczy o charakterze związków chemicznych

w nim zawartych. Z kolei z badań Molendy i Sowińskiej [24] dotyczących oceny stopnia kwasowości wybranych miodów wynika, że wartość kwasowości może być wynikiem nieprzerobionego przez pszczoły inwertu.

W przebadanych miodach zawartość zanieczyszczeń wahała się od 0,29% w miodzie rzepakowym i gryczanym do 0,35% w miodzie lipowym (Wykres 2). W miodach zostały przekroczone dopuszczalne ilości zanieczyszczeń mechanicznych podane w normie. Dopuszczalna zawartość zanieczyszczeń według Polskiej Normy wynosi 0,1%. Podobne wyniki o przekroczeniu zawartości zanieczyszczeń mechanicznych w badanych miodach wykazali Sykut i wsp. [8], wyjaśniając, że podwyższona zawartość zanieczyszczeń mechanicznych może być wynikiem zanieczyszczeń środowiska naturalnego terenów z jakich badane miody pochodzą.



Wykres 2. Wyniki oznaczania zanieczyszczeń mechanicznych w miodach.

Figure 2. Results of determination of mechanical impurities in honeys.

Objaśnienia: Odmiana miodu: I – miód rzepakowy, II – miód lipowy, III – miód akacjowy, IV – miód gryczany, V – miód wielokwiatowy, VI – miód spadziowy

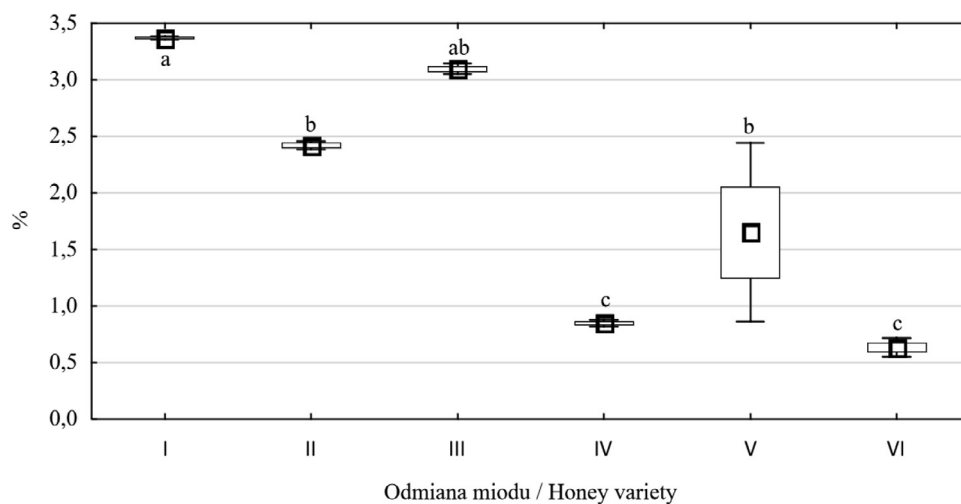
Explanations: Honey variety: I – rapeseed honey, II – lime honey, III – acacia honey, IV – buckwheat honey, V – multiflower honey, VI – honeydew honey

Przeprowadzona analiza dotycząca oznaczania skrobi w sześciu badanych próbkach nie wykazała jej obecności, co świadczy, że badane miody nie były zafałszowane skrobią (Tabela 1). Obecność skrobi w miodzie według Polskiej Normy jest cechą dyskwalifikującą miód. Podobne wyniki, jak w badaniach własnych, uzyskali Sykut i wsp. [8].

Tabela 1. Wyniki oznaczania skrobi w miodach.**Table 1.** Results of starch determination in honeys.

| Odmiana miodu <i>Honey variety</i> | Roztwór miodu w wodzie <i>Solution of honey in water</i> | Obecność skrobi <i>Presence of starch</i> |
|--|---|--|
| Rzepakowy / <i>rapeseed honey</i> | 1:4 | Nie wykryto / <i>Not detected</i> |
| Lipowy / <i>lime honey</i> | 1:4 | Nie wykryto / <i>Not detected</i> |
| Akacjowy / <i>acacia honey</i> | 1:4 | Nie wykryto / <i>Not detected</i> |
| Gryczany / <i>buckwheat honey</i> | 1:4 | Nie wykryto / <i>Not detected</i> |
| Wielokwiatowy / <i>multiflower honey</i> | 1:4 | Nie wykryto / <i>Not detected</i> |
| Spadziowy / <i>honeydew honey</i> | 1:4 | Nie wykryto / <i>Not detected</i> |

Dyrektywa Rady 2001/110/WE [11] oraz Rozporządzenia MRIRW z 2003 roku [12] informują, że zawartość sacharozy w miodach nektarowych nie powinna być większa niż 5%. W badaniach własnych zawartość sacharozy w miodach nie budzi zastrzeżeń, gdyż jest znacznie niższa niż podaje norma (Wykres 3).

**Wykres 3.** Zawartość sacharozy w analizowanych próbkach miodu.**Figure 3.** Sucrose content in the analyzed honey samples.

Objaśnienia: Odmiana miodu: I – miód rzepakowy, II – miód lipowy, III – miód akacjowy, IV – miód gryczany, V – miód wielokwiatowy, VI – miód spadziowy

a, b, c – wartości oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($P < 0,05$)

Explanations: Honey variety: I – rapeseed honey, II – lime honey, III – acacia honey, IV – buckwheat honey, V – multiflower honey, VI – honeydew honey

a, b, c – values marked with different letters are statistically significantly different ($P < 0,05$)

Podobne wyniki, jak w badaniach własnych, uzyskali Sykut i wsp. [8]. Natomiast w badaniach Majewskiej i wsp. [25] dotyczących jakości miodów gryczanych autorzy odnotowali, że zawartość sacharozy w badanych produktach zawierała się w przedziale od 3,5% do 12,5%. Niestety oznacza to zwiększoną zawartość sacharozy, co może być oznaką niedojrzałości miodu. Z badań autorów wynika, że tylko dwie z siedemnastu próbek spełniały wymaganie normy, a pozostałe próbki miały większą zawartość sacharozy. Autorzy wywnioskowali, że może to wynikać z nieodpowiedniego pozyskania analizowanych próbek, przez co mogły być one nie w pełni dojrzałe. Z kolei w innych badaniach Majewskiej i wsp. [23] zawartość sacharozy w analizowanych miodach wahała się w granicach od 0,86% do 5,73%.

Barwa miodu uzależniona jest od obecności związków karotenoidowych (głównie β -karotenu), ksantofilu, chlorofilu i jego pochodnych, flawonoidów i antocyjanów. Substancje koloidowe zbudowane z białek, drobin wosku pszczelego, wody i biopierwiastków również przyczyniają się do barwy jaką posiada miód [2].

Różnice pomiędzy średnimi wartościami parametrów barwy (Lab) poszczególnych rodzajów miodów były statystycznie istotne ($P < 0,05$). Jaśniejszą barwę, czyli najwyższą wartość parametru L^* , zanotowano dla odmian miodu rzepakowego, lipowego oraz akacjowego. Były to wartości w zakresie 85,29-85,71, istotnie różne od barwy L^* pozostałych badanych miodów, tj. gryczanego, wielokwiatowego oraz spadziowego, które charakteryzowały się ciemniejszą barwą.

Barwa miodu mierzona parametrem a^* posiadał wartość ujemną dla wszystkich badanych prób, co świadczy o nasyceniu miodu barwą odcieniem koloru zielonego. Istotnie ($P < 0,05$) najmniejszy udział barwy czerwonej (a^*) $-0,31 \pm 0,01$ odnotowano w próbkach miodu wielokwiatowego. Miody akacjowy, gryczany oraz spadziowy charakteryzują się podobnym nasyceniem barwy czerwonej (a^*), różnice w udziale nasycenia tej barwy kształtują się na poziomie 0,02.

Parametr b^* przyjmował wartości dodatnie, co oznacza, że mieścił się w zakresie barwy bardziej żółtej niż niebieskiej (Tabela 2). Najwyższym stopniem nasycenia barwą żółtą charakteryzował się miód wielokwiatowy, gdzie parametr b^* wskazał $0,56 \pm 0,01$ i była to wartość istotnie różna w stosunku do pozostałych badanych odmian miodu. Najniższą wartość parametru b^* odnotowano dla miodów lipowego, akacjowego oraz spadziowego, co świadczy, że produkty miały lekko żółtawą barwę.

Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań można sformułować następujące wnioski:

- Zawartość wody w miodzie według Polskiej Normy nie powinna przekraczać 20%. Tylko jeden spośród badanych miodów, tj. próbka miodu lipowego wykazała minimalnie większą zawartość wody (20,13%), co może wskazywać np. na

ich niepełną dojrzałość. Zawartość wody mieszczącą się w normie odnotowano dla miodów wielokwiatowego (10,56%), spadziowego (13,12%) i gryczanego (16,23%).

- Kwasowości w miodach rzepakowym, lipowym, akacjowym oraz spadziowym nie budzą zastrzeżeń.
- W przebadanych miodach została przekroczona dopuszczalna ilość zanieczyszczeń mechanicznych, która według Polskiej Normy wynosi 0,1%. Zawartość zanieczyszczeń wahała się od 0,29% w miodzie rzepakowym i gryczanym do 0,35% w miodzie lipowym.
- Nie stwierdzono obecności skrobi w miodach, według Polskiej Normy jej obecność jest cechą dyskwalifikującą miód.
- Zawartość sacharozy w przebadanych miodach nie budzi zastrzeżeń, gdyż jest znacznie niższa niż podaje norma (5% dla miodu nektarowego, 7% dla miodu nektarowo-spadziowego, 10% dla miodu spadziowego).
- Badane miody wykazały istotne różnice w parametrach barwy L^* , a^* , b^* . Jaśniejszą barwę (L^*) zanotowano dla odmian miodu rzepakowego, lipowego oraz akacjowego. Były to wartości w zakresie 85,29,-,85,71, istotnie różniące się od barwy L^* pozostałych badanych miodów, tj. gryczanego, wielokwiatowego oraz spadziowego. Te z kolei charakteryzowały się ciemniejszą barwą. Parametr barwy miodu mierzony skalą a^* posiadał wartość ujemną dla wszystkich badanych prób, co świadczy o nasyceniu miodu odcieniem koloru zielonego. Parametr b^* przyjmował wartości dodatnie, co oznacza, że mieścił się w zakresie barwy bardziej żółtej niż niebieskiej.

Literatura

- [1] Wilczyńska A., Oznaczanie zawartości flawonoidów i fenolokwasów w odmianowych miodach pszczelich, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2012, 3(45), s. 892-896.
- [2] Majewska E., Porównanie wybranych właściwości miodów pszczelich jasnych i ciemnych, *Nauka. Przyroda. Technologie*, 2009, 3(4), s. 143.
- [3] Trzybiński S., Wszystko o miodzie i jego pozyskiwaniu, *Bee & Honey Sp. z o.o., Klecza Dolna* 2018.
- [4] Majewska E., Kowalska J., Jeżewska A., Charakterystyka jakości miodów wielokwiatowych z różnych regionów Polski, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2010, 43(3), s. 391-397.
- [5] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 30 lipca 2015 r. zmieniającym rozporządzenie w sprawie metod analiz związanych z dokonywaniem oceny miodu (Dz. U. z 2015 r., poz. 1173).
- [6] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 14 stycznia 2009 r. w sprawie metod analiz związanych z dokonywaniem oceny miodu (Dz. U. 2009.17.94).
- [7] Polska Norma „Miód pszczeli” (PN-88/A-77626).

- [8] Sykut B., Kowalik K., Hus W., Badanie jakości i zafałszowań miodów naturalnych, *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 2018, 1, s. 60-64.
- [9] CIE DS. 014-4.3/E:2007 – CIE Draft Standa
- [10] Program Statistica TIBC, wersja 13.3 (StatSoft).
- [11] Dyrektywa Rady 2001/110/WE z dnia 20 grudnia 2001 r. odnosząca się do miodu (Dz. U. L 10 z 12.1.2002, s. 47).
- [12] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 3 października 2003 r. w sprawie szczegółowych wymagań w zakresie jakości handlowej miodu (Dz. U. z 2003 r. nr 181, poz. 1773).
- [13] Miastowski K., Bakier S., Badania wpływu aktywności wody miodów na proces ich odwadniania. *Inżynieria żywności, Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 2018, 2, s. 49-53.
- [14] Pidek A., Brzozowski P., Krystalizacja miodu, *Pszczelarstwo*, 2004, 9, s. 18-19.
- [15] Siuda M., Wilde J., Komorowska-Chmielewska M., Jakość miodów oferowanych przez pszczelarzy województwa warmińsko-mazurskiego, *Materiały z XL Naukowej Konferencji Pszczelarskiej, Puławy*, 2003, s. 120-121.
- [16] Jasińska B., Tomaka K., Uram-Dudek A., Paradowska K., Fizykochemiczna analiza miodów z rejonów Podkarpacia, *Postępy Fitoterapii*, 2020, 21(4), s. 219-227.
- [17] Żak N., Preferencje konsumentów polskich oraz amerykańskich dotyczące spożycia miodów pszczelich, *Marketing i Zarządzanie*, 2017, 2(48), s. 117-130.
- [18] Dżugan M., Wesołowska M., Jakość miodów produkowanych na Podkarpaciu, *Oficyna Wydawnicza Zimowit, Rzeszów* 2016.
- [19] Poppek S., Badanie współzależności fizykochemicznych parametrów charakteryzujących jakość miodów odmianowych, *Zeszyty Naukowe Akademii Ekonomicznej w Krakowie*, 2001, 572, s. 29-37.
- [20] Madejczyk M., Kanecka A., Barańkiewicz D., Dbajmy o jakość miodu, *Analityka*, 2006, 4, s. 28.
- [21] Szczęsna T., Porębska A., Kusyk K., Badania fizykochemiczne miodów ekologicznych z Poleskiego Parku Narodowego, 2021.
- [22] Kędzia B., Hołderna-Kędzia E., Miód. Skład i właściwości biologiczne, *Przedsiębiorstwo Wydawnicze Rzeczpospolita, Warszawa* 2008.
- [23] Majewska E., Drużyńska B., Derewiaka D., Ciecierska M., Wołosiak R., Fizykochemiczne wyróżniki jakości wybranych miodów nektarowych, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2015, 3(48), s. 440-444.
- [24] Molenda M., Sowińska K., Badanie zgodności z normą PN-88/A-77626 elektrochemicznych właściwości wybranych miodów, *Analit*, 2020, 9, s. 67-74.
- [25] Majewska M., Drużyńska B., Kowalska J., Wołosiak R., Ciecierska M., Derewiaka D., Zastosowanie metod fizykochemicznych i chemometrycznych do oceny jakości i autentyczności botanicznej miodów gryczanych, *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 2017, 589, s. 59-68.

Do cytowania:

Dykiel M., Rygiel E., Krochmal-Marczak B., Baran J., Ocena wybranych parametrów jakościowych miodu, *Herbalism*, 2022, 1(8), s. 140-151.

Rozmieszczenie azulenowych i bezazulenowych form *Achillea* L. w Czechach

Distribution of the azulene-containing and azulene-less forms of *Achillea* L. in the Czech Republic

Janina Dąbrowska

Uniwersytet Wrocławski, Zakład Biologii Rozwoju Roślin, ul. Kanonia 6/8, 50-328, Wrocław

Słowa kluczowe: *Achillea* L., chemotaksonomia, geografia roślin, krwawniki azulenowe, krwawniki bezazulenowe

Key words: *Achillea* L., azulene-containing milfoils, azulene-less milfoils, chemotaxonomy, plant geography

Streszczenie

Niniejsza praca jest kontynuacją badań autorki nad rodzajem *Achillea* L. na Śląsku. Wykonane analizy zawartości azulenu (przy użyciu odczynnika EP Stahl'a) dotyczą ponad 9600 roślin krwawnika zebranych przez autorkę w latach 2001-2002, w 420 miejscowościach w Czechach oraz ponad 980 roślin pochodzących ze 120 miejscowości, zebranych przez botaników czeskich (J. Danihelka, K. Karlova, S. Špinarová). Krwawniki azulenowe zostały znalezione we wschodniej części Czech. Jest to przedłużenie rozmieszczenia takich krwawników we wschodniej części Śląska. Śląskie formy azulenowe są prawdopodobnie rezultatem rozprzestrzeniania od południa.

Summary

The paper is a continuation of the author's studies on the genus *Achillea* L. in Silesia. The present analysis for azulene content (Stahl's EP reagent) included more than 9600 milfoil plants collected by the author in 2001-2002 in 420 Czech localities and more than 980 plants from 121 localities, from collections of Czech botanists (J. Danihelka, K. Karlova, S. Špinarová). Azulene-containing milfoils were found to occur in the eastern part of the Czech Republic: this is an extension of the distribution area of such milfoils in eastern Silesia. The Silesian azulene-containing forms are probably a result of dispersal from the south.

Wstęp

Rozwój technik analitycznych sprawił, że wzrosło zainteresowanie metodami fitochemii porównawczej. Wyodrębniła się nowa dziedzina – chemotaksonomia roślin. W XX wieku zainteresowanie nią szczególnie wzrosło. W roku 1964 w Kioto powołano Międzynarodowy Komitet Chemotaksonomii. Liczne sympozja międzynarodowe zajmowały się tą tematyką [1]. Aktualnie w badaniach taksonomicznych wykorzystuje się wiele składników chemicznych, a wśród nich azuleny. Azuleny są produktami odwodnienia seskwiterpenów, powstają wtórnie, szczególnie w procesie destylacji, z prekursorów, czyli proazulenów. Szerokie zastosowanie azulenów w lecznictwie ma związek szczególnie z ich działaniem przeciwzapalnym [2].

W Polsce surowców azulenowych dostarczają: rumianek *Matricaria chamomilla* L. i niektóre krwawniki (*Achillea* L.), toteż skład chemiczny tych roślin był tematem wielu badań. Analizowano surowce handlowe i pojedyncze rośliny, szukając przyczyn zmienności. Surowcem handlowym w przypadku krwawnika są rośliny należące do *Achillea millefolium* L. *sensu lato*, wśród których stwierdzono, że nie wszystkie rośliny są azulenowe. Fakt ten od dawna interesował specjalistów z dziedziny farmakognozji i botaników zajmujących się chemotaksonomią i geografią roślin.

Zdaniem wielu autorów cecha azulenowości, czy jej braku, jest cechą dziedziczną, niezależną od warunków siedliskowych [2, 3]. Większość autorów uważa, że zawartość olejku może być bardziej uwarunkowana czynnikami ekologicznymi niż skład tego olejku [3]. Obserwując krwawniki zaliczane do *Achillea millefolium* L. *sensu lato*, które autorka zbierała w terenie i wysadzała w kolekcji, nie zauważyła, aby np. warunki glebowe miały wpływ na zawartość azulenu w olejku. Zawartość ta zależy od fazy rozwojowej rośliny – w pełni kwitnienia jest największa [4]. Na Węgrzech badano pospolicie tam *Achillea pannonica* Scheele (oktoploid) pochodzący z różnych siedlisk i nie stwierdzono istotnych różnic w składzie olejku i nie wykazano w nim nawet śladu azulenu [5].

Rozpoczęto gromadzenie danych o rozmieszczeniu azulenowych i bezazulenowych form krwawnika [6]. W Polsce rozmieszczenie takich form po raz pierwszy przedstawiła Oświecimska [7], a autorka wykonała takie opracowanie dla całego Śląska, rozpatrując uzyskane wyniki analiz na tle danych o rozmieszczeniu taksonów *Achillea* L. na tym obszarze [6].

Poszukiwanie azulenowych i bezazulenowych form krwawnika powinno być kontynuowane na obszarach ościennych. W ostatnich latach na terenie Śląska otwarto kilkadziesiąt nowych przejść granicznych na granicy polsko-czeskiej. Okoliczność ta zdecydowała o zaplanowaniu i wykonaniu niniejszego opracowania.

Temat podjęty przez autorkę ma znaczenie teoretyczne (problem pochodzenia tych form i ich migracji) i praktyczne (wskazuje obszary, na których można poszukiwać form wysokoazulenowych do dalszej hodowli czy zbioru).

Materiał i metody

W latach 2001-2002 autorka odbyła 27 podróży do Czech w celu zebrania próbek kwiatostanów krwawnika z możliwie dużej liczby miejscowości. Próbki te następnie autorka analizowała odczynnikiem EP Stahl'a (Essig Probe – szybka analiza jakościowa do wykrywania obecności proazulenów w pojedynczych roślinach [8]). Skład odczynnika EP: kwas octowy lodowaty 45 ml, kwas o-fosforowy 85% – 5 ml, woda destylowana – 45 ml, aldehyd p-dwumetyloaminobenzoesowy – 0,25 g. Wszystkie analizy były wykonane przez autorkę, co ma znaczenie, gdyż ocenie podlega barwa odczynnika. Procedura: 10 powietrznie suchych koszyczków krwawnika ogrzewano na łaźni wodnej przez 10 minut z 2,5 ml odczynnika EP i notowano barwę odczynnika [6].

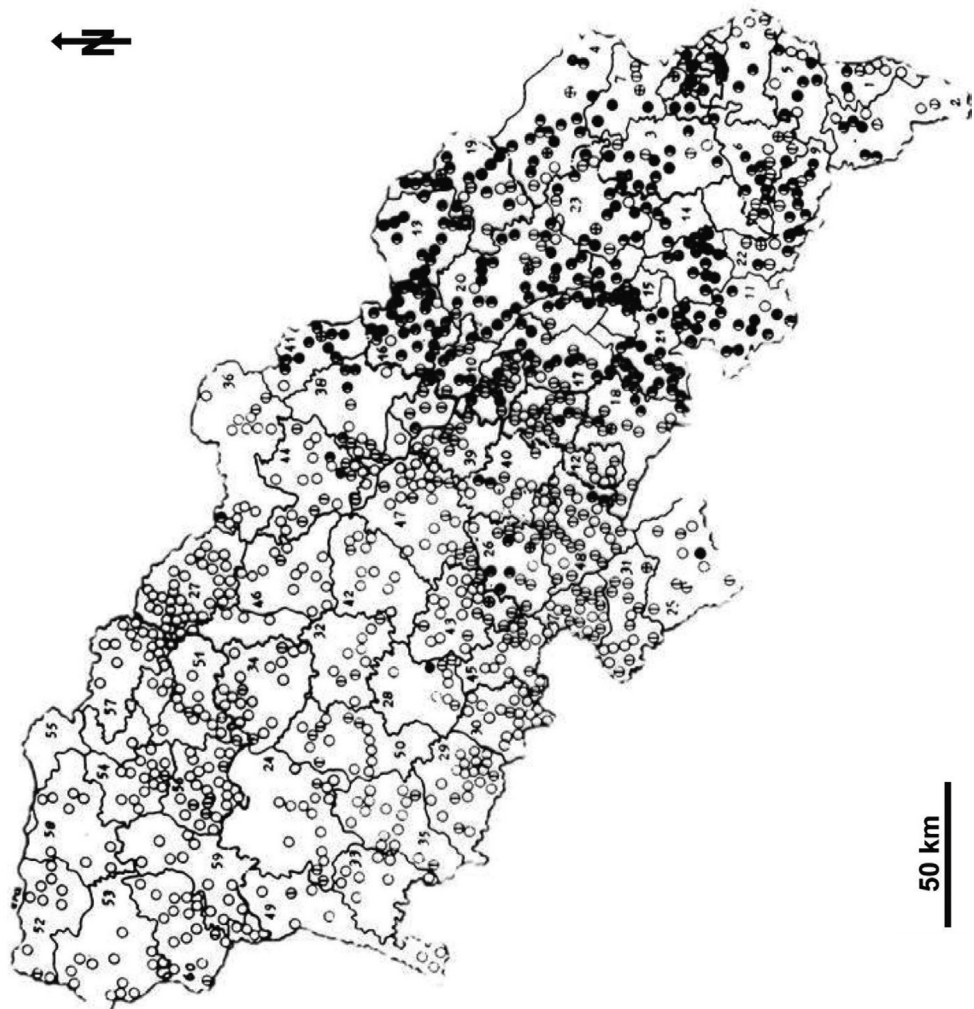
Zabarwienie oceniano według następującej skali:

- +++++ granatowoniebieska – wysoka zawartość proazulenów,
- +++ niebieska lub niebieskozielona – średnia zawartość,
- ++ ciemnozielona – mała zawartość,
- + bladoniebieskawa lub bladozielonkawa – śladowa zawartość,
- 0 żółta, żółto-brązowa lub różowa – brak proazulenów.

Tak powstała kartoteka z wynikami analizy dla poszczególnych miejscowości. Uzyskane wyniki przedstawia Tab. 1.

Oprócz próbek zanalizowanych przez autorkę, zanalizowano również próbki (w liczbie 121), które w owym czasie w Czechach zebrali: dr Jiří Danihelka (Brno, Uniwersytet im. Masaryka) i doktorantki: Katerina Karlova, Sara Špinarová, którym należy się szczególne podziękowanie.

Uwaga: na rycinach 1-4 mapa Śląska podzielona jest na powiaty, które w owym czasie obowiązywały. Na mapie tej powiaty mają numery według zestawienia podanego w cytowanej pracy [6 – str. 55-56]. Punkty na mapie oznaczają miejscowości, w których zebrano rośliny do analizy.



Rycina 1. Rozmieszczenie azulenowych i bezazulenowych form *Achillea* L. na Śląsku [6].

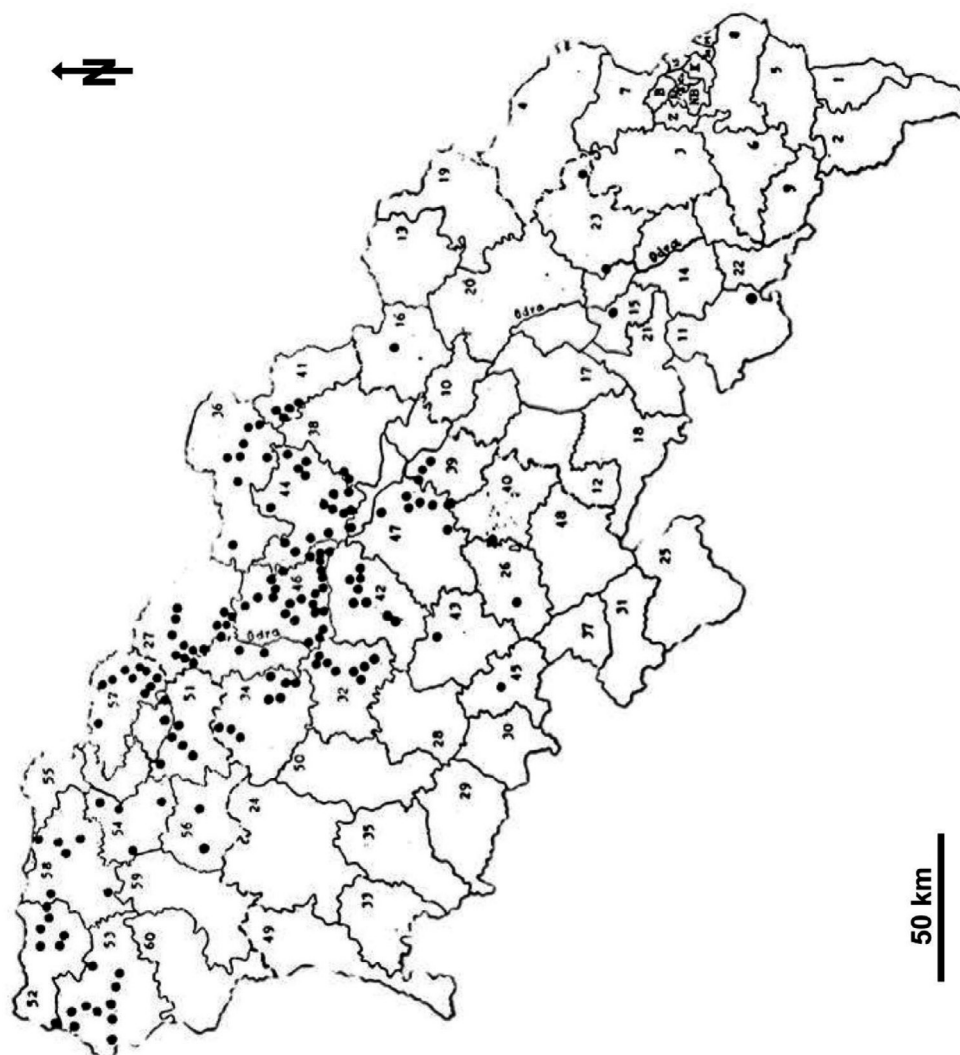
Figure 1. Distribution of azulene-containing and azulene-less forms of the *Achillea* L. in Silesia [6].

Objaśnienia symboli:

- – 100% roślin w analizowanej próbce to rośliny bezazulenowe
- – 100% roślin w analizowanej próbce to rośliny azulenowe
- ◐ – więcej niż 50% analizowanych roślin to rośliny azulenowe
- ◑ – więcej niż 50% analizowanych roślin to rośliny bezazulenowe
- ⊕ – jednakowa liczba roślin azulenowych i bezazulenowych

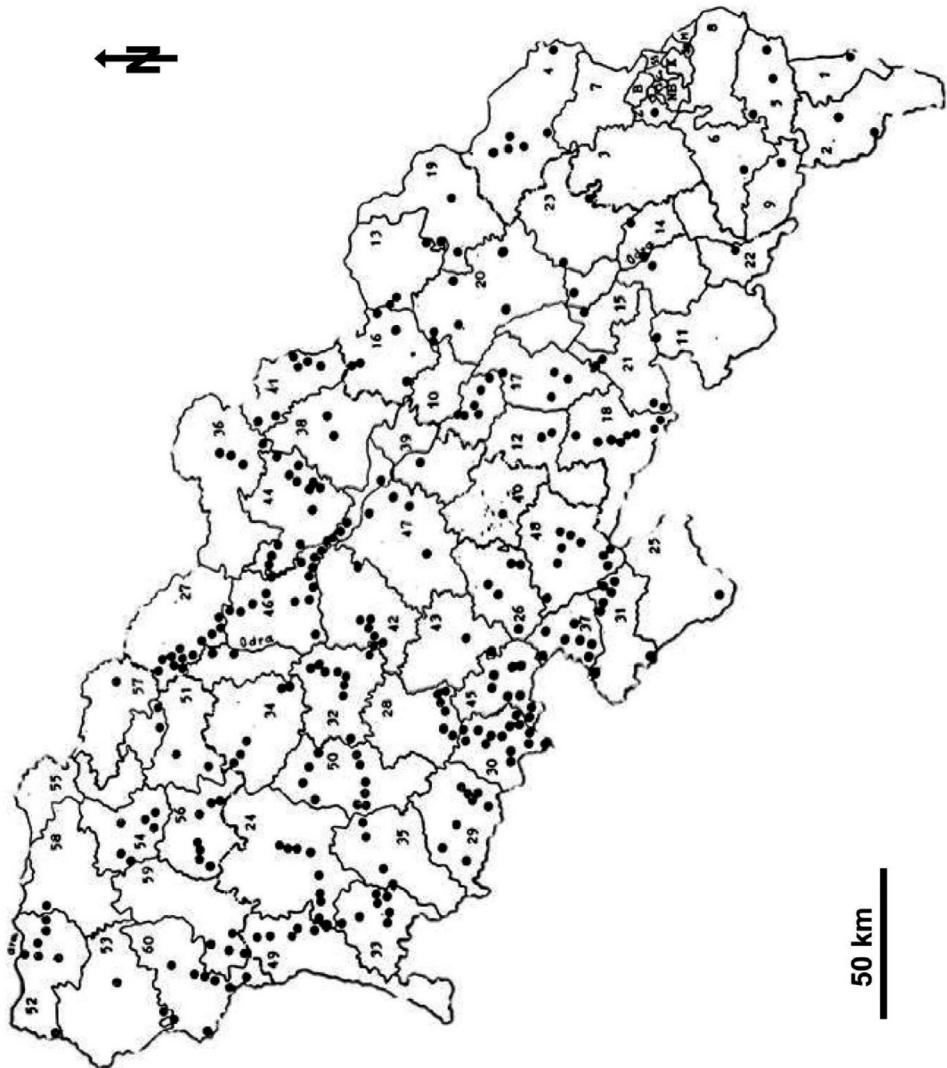
Symbols:

White dot – 100% of plants in the sample analysed = azulene-less plants; black dot – 100% of plants in the sample analysed = azulene-containing plants;
over half of dot is black – over 50% of plants in the sample analysed = azulene-containing plants;
dot with dash – over 50% of plants in the sample analysed = azulene-less plants;
dot with cross – identical number of azulene-containing and azulene-less plants in the sample analysed

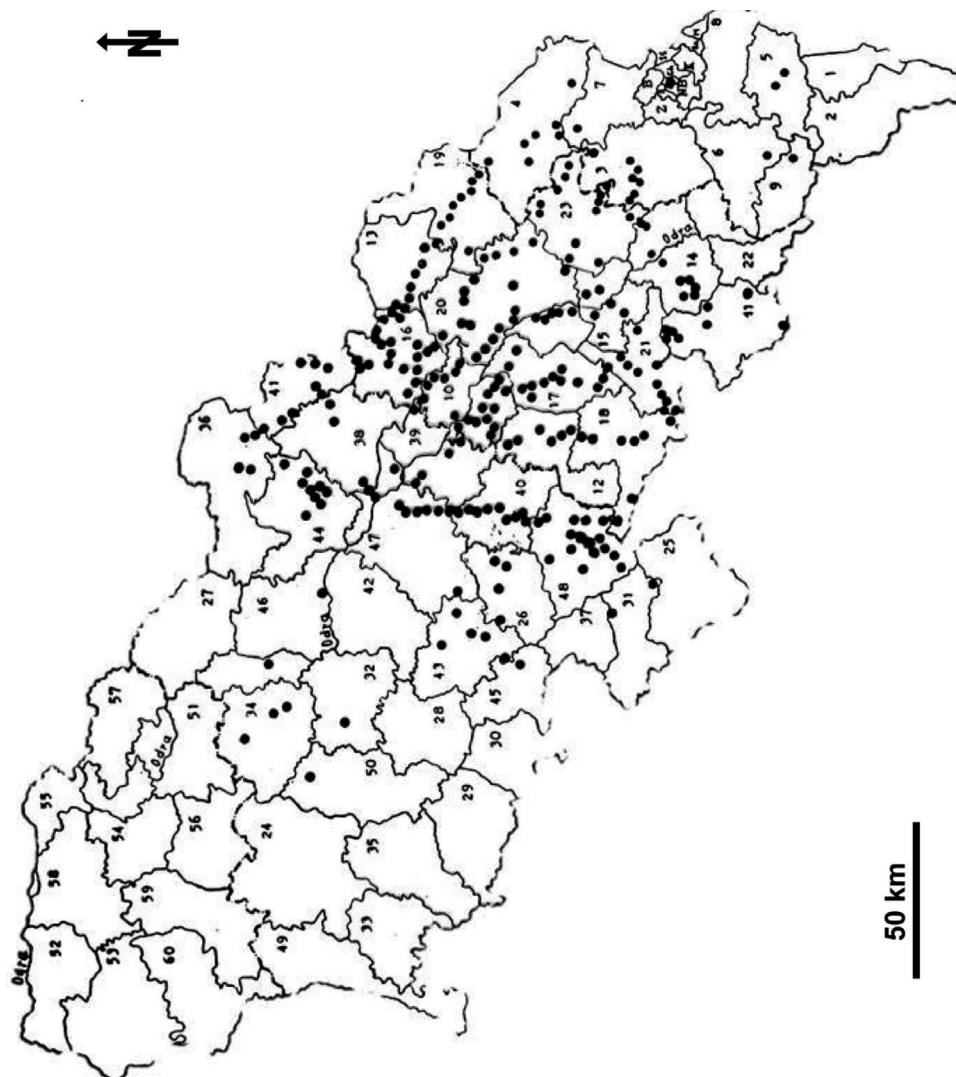


Rycina 2. Rozmieszczenie *Achillea pannonica* Scheele na Śląsku [6].

Figure 2. Distribution of *Achillea pannonica* Scheele in Silesia [6].



Rycina 3. Rozmieszczenie *Achillea millefolium* L. ssp. *millefolium* na Śląsku [6].
Figure 3. Distribution of *Achillea millefolium* L. ssp. *millefolium* in Silesia [6].



Rycina 4. Rozmieszczenie *Achillea collina* Becker na Śląsku [6].

Figure 4. Distribution of *Achillea collina* Becker in Silesia [6].

Wyniki i dyskusja

Wyniki analiz zostały podsumowane w Tabeli 1 oraz porównane z rycinami z innej pracy autorki (Ryciny 1-4, [6]).

Tabela 1. Wyniki analizy jakościowej zebranych roślin *Achillea* L. przy użyciu odczynnika EP Stahl'a dla stwierdzenia obecności proazulenów (badania własne autorki).

Table 1. The results of qualitative analysis of collected *Achillea* L. plants using EP Stahl reagent for the test of proazulenes presence (studies of the author).

| Wyniki analizy odczynnikiem EP – procent roślin azulenowych | Liczba miejscowości, w których zebrano krwawniki | | | Liczba i procent miejscowości |
|---|--|----------------------|-----------------------|-------------------------------|
| | Zachodnia część Czech | Środkowa część Czech | Wschodnia część Czech | |
| Materiał zebrany przez autorkę (9.677 roślin) | | | | |
| 0 | 6 | 108 | 57 | 171–40.8% |
| 100% | 0 | 9 | 17 | 26–6.2% |
| >50% | 8 | 36 | 54 | 98–23.3% |
| <50% | 7 | 51 | 47 | 105–25% |
| 50% | 1 | 6 | 13 | 20–4.8% |
| Procent miejscowości z roślinami azulenowymi | | | | 59.2% |
| Liczba miejscowości | 22 | 210 | 188 | 420 |
| Materiał zebrany przez botaników czeskich (J. Danihelka, K. Karlova and S. Špinarová 985 roślin) | | | | |
| 0 | 7 | 24 | 17 | 48–39.7% |
| 100% | 1 | 1 | 44 | 46–38% |
| >50% | 0 | 1 | 12 | 13–10.7% |
| <50% | 2 | 1 | 6 | 9–7.4% |
| 50% | 2 | 2 | 1 | 5–4.1% |
| Procent miejscowości z roślinami azulenowymi | | | | 60.3% |
| Liczba miejscowości | 12 | 29 | 80 | 121 |

Na uwagę zasługuje fakt, że procent miejscowości, w których wszystkie analizowane rośliny były bezazulenowe, jest prawie identyczny w materiale zarówno zebranym przez autorkę (Tabela 1, kolumna 5 i Tabela 3), jak i przez botaników czeskich (odpowiednio: 40,8% i 39,7%).

Podobnie procent miejscowości, w których stwierdzono obecność form azulenowych jest prawie identyczny, odpowiednio: 59,2% i 60,3% – co świadczy o reprezentatywności zebranego materiału roślinnego (Tabela 1 i Tabela 3).

Porównując wyniki obserwacji rozmieszczenia azulenowych i bezazulenowych form *Achillea* L. na Śląsku (Rycina 1) z wynikami niniejszych obserwacji dla Czech (Tabela 1), można zauważyć, że obszary bezazulenowe lub prawie bezazulenowe na Śląsku, są kontynuacją takich obszarów w Czechach. Bezazulenowość wielu krwawników zachodniego Śląska łączy się z występowaniem tam bezazulenowych *A.*

pannonica Scheele (oktoploid), *A. millefolium* L. s. str. (heksaploid) i mieszańcami między nimi (Ryciny 2, 3). Mieszańcowość ta widoczna jest w morfologii (w liściach cechy obu gatunków, kwiatostany podobne do jednego z tych gatunków [9]).

Co do danych dotyczących Czech, to w roku 2003 opublikowano badania siedmiu taksonów *Achillea* L. w Czechach [11], pochodzących z 75 naturalnych stanowisk, lecz nie badano zawartości proazulenów. Badano zawartość olejków, garbników i flawonoidów. Stwierdzono poza tym, że niektóre ekotypy *Achillea collina* Becker i niektóre jego mieszańce miały olejek eteryczny o barwie głębokiego błękitu. To właśnie ta barwa oznacza obecność proazulenów, co autorka stwierdziła wielokrotnie, destylując ziele krwawnika. Tym samym autorki znalazły formy azulenowe u niektórych ekotypów *Achillea collina* w Czechach. Na Śląsku również wśród roślin *Achillea collina* lub jego mieszańców autorka obserwowała formy azulenowe [6]. Poniższa Tabela 2 przedstawia dostępne dane o występowaniu azulenowych form *Achillea* L.

Tabela 2. Obserwacje występowania azulenowych form *Achillea* L.

Tabela 2. The observation of distribution azulene forms of *Achillea* L.

| Liczba miejscowości Liczba analizowanych roślin Data obserwacji | % roślin azulenowych | Kraj | Autor |
|--|-------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|
| 140 stanowisk ¹ 1662 rośliny ogółem analizowano | 38% | Litwa | [12, 13] |
| 94 stanowiska 506 roślin ogółem analizowano (1956-1962) | 69% | Polska, rejon Katowic ² | [7] |
| 115 miejscowości 1654 roślin bezazulenowych 3.342 rośliny azulenowe (1966-1970) | 66,90% | Polska, woj. katowickie | [6] |
| 287 miejscowości 6044 roślin bezazulenowych 7.203 rośliny azulenowe (1966-1970) | 54,37% | Polska, woj. opolskie | [6] |
| 464 miejscowości 12.137 roślin bezazulenowych 1.162 rośliny azulenowe (1966-1970) | 8,74% | Polska, woj. wrocławskie | [6] |
| 137 miejscowości 3916 roślin bezazulenowych 26 roślin azulenowych (1966-1970) | 0,66% | Polska, woj. zielonogórskie | [6] |
| 541 miejscowości 10662 rośliny ogółem analizowano (2001-2002) | 59,2%-60,3% | Czechy | Wyniki niniejszego opracowania |

¹ Autorzy użyli terminu „stanowiska”, nie wiadomo, czy były to miejscowości. Nie podano też daty badań; ² Autorka użyła terminu „rejon”.

Jak wynika z Tabeli 2, na Litwie azulenowe formy *Achillea* L. spotykane są rzadziej niż w Polsce i w Czechach, gdzie występują tetraploidalny i często azulenowy *Achillea collina* i jego mieszańce. W Czechach także spotykany jest diploidalny *Achillea asplenifolia* Vent., zwykle azulenowy, co autorka stwierdziła, badając rośliny zebrane na Węgrzech. Czechy to także miejsce występowania *Achillea pratensis* Saukel et Länger [14], u którego stwierdzono formy azulenowe. Trzy wyżej wymienione gatunki nie są uwzględnione we Florze Litwy [15].

Zgodnie z informacjami z Tabeli 2, częstość występowania form azulenowych jest prawie jednakowa na obszarze byłego województwa katowickiego, według obserwacji dwu autorek, które wykonały te badania w różnych latach: 1956-1962 [7] i 1966-1970 [6]. Dane byłych województw: katowickiego i opolskiego są bardzo zbliżone do danych niniejszego opracowania dla Czech.

W Tabeli 2 zwraca uwagę niewielki procent form azulenowych na obszarze byłych województw wrocławskiego i zielonogórskiego. Wiąże się to z częstszym występowaniem tam oktoploidalnego *Achillea pannonica* Scheele i heksaploidalnego *Achillea millefolium* L. [6, 16].

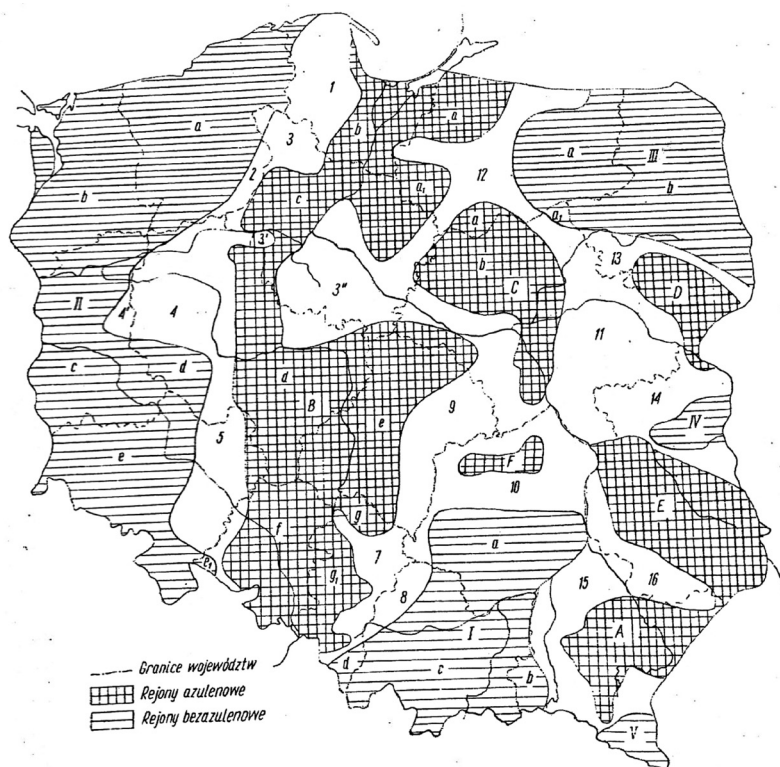
Można przypuszczać, że w cytowanych opracowaniach próbki były reprezentatywne. Cytowani autorzy i autorka stosowali tę samą metodę stwierdzania obecności proazulenów w roślinie przy użyciu odczynnika EP (Essig Probe) Stahl'a.

Dla porównania wyników badań wykonanych przez autorkę na materiale zebranym w Czechach zamieszczono Rycinę 5 z pracy innej autorki [7], która wskazuje na łączność terenów azulenowych z obserwowanymi w niniejszej pracy.

Rodzaj *Achillea* L. to kompleks di- i poliploidalny. Pasjonujące zjawisko, jakim jest poliploidyacja roślin, może wiele wyjaśnić w kwestii przyczyn zmienności składu chemicznego niektórych roślin. Poliploidy łatwo się krzyżują, przyczyniając się do tworzenia nowych form zmienności morfologicznej czy chemicznej. Użyteczne jest rozpatrywanie informacji o chemizmie roślin na tle danych o ich rozmieszczeniu i kariologii.

Co do rodzaju *Achillea* L., autorzy opracowania, które ukazało się w czasopiśmie Taxon [17] piszą: „*Achillea millefolium* agg. jest najbardziej zróżnicowanym ekologicznie zespołem poliploidalnym na półkuli północnej. Ze względu na wszechobecną hybrydyzację i poliploidyzację zespół ten jest niezwykle polimorficzny i znany z trudnej taksonomii”.

Zapewne wiele jeszcze problemów będzie tematem prac dotyczących rodzaju *Achillea* L.



Rycina 5. Wyniki obserwacji rozmieszczenia azulenowych i bezazulenowych form *Achillea* L. w Polsce w latach 1956-1962 [7].

Figure 5. Distribution of azulene-containing and azulene-less forms of *Achillea* L. in Poland, observed in years 1956-1962 [7].

Podsumowanie

W latach 2001-2002 autorka zebrała próbki kwiatostanów krwawnika z 420 miejscowości w Czechach (ogółem ponad 9600 roślin) i użyła odczynnika EP Stahla w celu wykrycia proazulenów w pojedynczych roślinach. Zanalizowane zostały również próbki kwiatostanów zebrane w tym samym czasie w Czechach (121 miejscowości, ponad 980 roślin) przez botaników czeskich (J. Danihelka, K. Karlova i S. Špinarová).

Wykazano, że w Czechach procent miejscowości, w których stwierdzono formy azulenowe i bezazulenowe był prawie identyczny zarówno w materiale zebranym przez autorkę, jak i w materiale dostarczonym przez czeskich botaników, co świadczy o reprezentatywności zebranego materiału (Tabela 1, kolumna 5 i Tabela 3).

Tabela 3. Procent miejscowości w Czechach, w których stwierdzono azulenowe i bezazulenowe formy *Achillea* L.

Table 3. Percent of localities in Czech Republic where the azulene and azulene-less forms of *Achillea* L. were observed.

| Formy <i>Achillea</i> L. | Obserwacje autorki | Obserwacje roślin otrzymanych od botaników czeskich |
|--------------------------|--------------------|---|
| azulenowe | 59,2% | 60,3% |
| bezazulenowe | 40,8% | 39,7% |

Jak wynika z porównania niniejszych danych dla Czech z danymi, które autorka uzyskała, opracowując podobny temat dla Śląska [6, 10] i z danymi wcześniejszego opracowania dla całej Polski [7], obszar o większej częstotliwości występowania form azulenowych ze wschodniej części Śląska (Rycina 1) jest kontynuacją takiego samego obszaru we wschodnich Czechach (Tabela 1). Krwawniki azulenowe, można przypuszczać, przybyły na Śląsk z południa.

Do krwawników azulenowych na Śląsku należą: *A. collina* Becker (tetraploid) i jego mieszańce z bezazulenowym *A. millefolium* (heksaploid). Korelacje między występowaniem *A. collina* na Śląsku a częstotliwością występowania form azulenowych przedstawiają Ryciny 1 i 4 [6]. Natomiast pochodzenie azulenowych form *Achillea* w Czechach może być bardziej skomplikowane. Mogą tu bowiem mieć swój udział oprócz *Achillea collina*, występujące w Czechach (u nas nieznanne): *Achillea pratensis* Saukel et Länger (tetraploid) i *Achillea asplenifolia* Vent. (diploid, w Czechach bardzo rzadki). U dwu ostatnich gatunków spotyka się formy azulenowe. U poliploidów bariery krzyżowania mogą być łamane. Cecha azulenowości może więc być przekazywana w wyniku krzyżowania różnymi drogami na poszczególnych obszarach.

Informacje o rozmieszczeniu azulenowych form *Achillea* L. mogą być użyteczne dla hodowców roślin leczniczych (w dziedzinie nauk rolniczych termin „hodowla” – ang. *breeding* – oznacza otrzymywanie nowych odmian). Dane te równocześnie informują, gdzie nie należy zbierać krwawników ze stanu naturalnego, gdy nie mają proazulenów w olejku.

Można przypuszczać, że użyteczne może być wykorzystanie odczynników do szybkich analiz jakościowych pojedynczych roślin na dużych obszarach, także w przypadku innych rodzajów, u których występują charakterystyczne substancje o znaczeniu taksonomicznym (obecne jednak nie we wszystkich taksonach). Pozwoli to śledzić migrację tych form i drogi ich powstawania. Jest to pracochłonne, lecz może dostarczyć istotnych informacji (oprócz danych o ich rozmieszczeniu i kariologii).

Podziękowania

Dr Jiří Danihelka (Faculty of Science, Masaryk University, Brno, Czech Republic), dr Katrina Karlova i dr Sarka Špinarová przekazali mi do badań zebrany przez siebie materiał roślinny, za co bardzo dziękuję. Dziękuję również Panu Józefowi Michalskiemu, kierowcy, z którym przemierzyliśmy Czechy, zbierając materiał do badań. Pani dr hab. Agnieszce Kreitschitz (Zakład Biologii Rozwoju Roślin, Uniwersytet Wrocławski) dziękuję za pomoc w przygotowaniu tekstu do druku, a Panu dr hab. Adamowi Kowalczykowi (Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich, Wrocław) dziękuję za pomoc w zebraniu danych internetowych.

Literatura

- [1] Puchalski J., Molski B., Badania taksonomiczne roślin w oparciu o ich skład chemiczny i właściwości fizykochemiczne, Kosmos, Seria A, Biologia, 1971, 6(113), s. 539-556.
- [2] Gawłowska M., Azulen jako wskaźnik chemotaksonomiczny, Wiadomości Botaniczne, 1986, XII(1), s. 51-58.
- [3] Nemeth E., Essential oil composition in the genus *Achillea* L., Journal of Essential Oil Research, 2005, 17, s. 501-512.
- [4] Kowal T., Pic S., Produktywność gatunku *Achillea millefolium* L. w warunkach naturalnych, Acta Agrobotanica, 1979, 1(32), s. 91-100.
- [5] Nemeth E., *Achillea* species used medicinally in Hungary, Israel Journal of Plant Sciences, 2010, 58, s. 279-289.
- [6] Dąbrowska J., Obserwacje rozmieszczenia azulenowych i bezazulenowych form *Achillea* L. na Śląsku na tle danych o rozmieszczeniu taksonów *Achillea* L. na tym obszarze, Herba Polonica, 1972, 18, s. 40-69.
- [7] Oświecimska M., Zmienność zawartości olejku lotnego i azulenów w ziele krwawnika. Cz. II. Rozmieszczenie ras azulenowych i bezazulenowych krwawnika w Polsce, Dissertationes Pharmaceuticae, 1963, 15, s. 471-481.
- [8] Stahl E., Neues über azulenliefernde Heilpflanzen, Farmaseuttinen Aikakauslehti, 1963, 7-8, s. 213-222.
- [9] Dąbrowska J., Systematic and geographic studies of the genus *Achillea* L. in Poland with special reference to Silesia, Acta Universitatis Wratislaviensis. Prace Botaniczne, 1982, 24(419), s. 1-222.
- [10] Dąbrowska J., Rozmieszczenie rodzaju *Achillea* L. w Polsce, ze szczególnym uwzględnieniem Śląska (spis stanowisk i mapy), Acta Universitatis Wratislaviensis, 1992, 1892, s. 1-98.
- [11] Špinarová S., Petříková K., Variability of the content and quality of some active substances within *Achillea millefolium* complex, Horticultural Science (Prague), 2003, 30(1), s. 7-13.
- [12] Radušienė J., Gudaityte O., Distribution of proazulenes in *Achillea millefolium* s.l. wild populations in relation to phytosociological dependence and morphological characters, Plant Genetic Resources, 2005, 3(2), s. 136-143.

Rozmieszczenie azulenowych i bezazulenowych form *Achillea* L. w Czechach

- [13] Radušienė J., Gudaitytė O., Distribution of proazulenes and productivity in *Achillea millefolium* L. spontaneous populations, *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*, Botucatu, 2006, v. 8, n. esp., s. 155-158.
- [14] Danihelka J., *Achillea* L., [w:] *Květena České Republiky*, Tom 7, s. 187-215, (red.) B. Slavík, J. Štěpánková, J. Štěpánek, Academia, Praha, 2004.
- [15] Galinis V., *Achillea* L., [w:] *Lietuvos TSR., Flora*, Tom VI, s. 92-97, (red.) M. Natkevičaitė-Ivanauskienė, R. Jankevičienė, A. Lekavičius, Vilnius Mokslas, 1980.
- [16] Dąbrowska J., The chromosome numbers of several taxa of the genus *Achillea* L., *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 1989, 58, s. 163-177.
- [17] Yan-Ping-Guo, Saukel J., Ehrendorfer Fr., AFLP trees versus scatterplots: evolution and phylogeography of the polyploid complex *Achillea millefolium* agg. (Asteraceae), *Taxon*, 2008, 57(1), s. 153-169.

Do cytowania:

Dąbrowska J., Rozmieszczenie azulenowych i bezazulenowych form *Achillea* L. w Czechach, *Herbalism*, 2022, 1(8), s. 152-165.

Zioła i suplementy diety post-COVID, czyli możliwości wspierania chorych i ozdowieńców

Herbs and post-COVID dietary supplements, The possibility of supporting the sick and convalescents

Ewelina Włodarczyk

Uniwersytet Pedagogiczny w Krakowie, ul. Podchorążych 2, 30-084 Kraków, e-mail: ewelina.wlodarczyk@up.krakow.pl

Słowa kluczowe: COVID-19, zioła, ozdowieńcy, Sars-CoV-2, suplementy diety, bezpieczeństwo zdrowotne

Key words: COVID-19, herbs, convalescents, Sars-CoV-2, dietary supplements, health security

Streszczenie

Pandemia COVID-19 zdominowała sposób funkcjonowania społeczeństw. Zachwiała poczuciem bezpieczeństwa ludzi. Obecnie, pomimo pojawiających się już, leków, wciąż – ze względu na ich niską dostępność – wiele osób szuka wsparcia w procesie leczenia w ziołach i suplementach diety. Istnieje szereg ziół i suplementów, które wspierać mogą zarówno proces leczenia chorych na COVID-19, jak i proces rekonwalescencji po przebytej chorobie. Niniejsza praca pełni funkcję komparatystyczną i ma na celu zaprezentowanie przeglądu dostępnej literatury krajowej i zagranicznej, poświęconej problematyce wsparcia leczenia COVID-19 i rekonwalescencji po tej chorobie. W artykule charakterystyce poddano szeroki wachlarz ziół i suplementów, których działanie zostało potwierdzone badaniami naukowymi i jest ściśle połączone z objawami choroby COVID-19 oraz dysfunkcjami, które pojawiają się w organizmie po przebyciu zakażenia Sars-CoV-2.

Summary

The COVID-19 disease has dominated the way of societies function. It was undermined people's sense of security. The medications dedicated to this disease are low availability, so currently many people seek a support in the treatment process in herbs and dietary supplements. There are a number of herbs and supplements that can support both the treatment of Sars-CoV-2 patients and the recovery process after illness. This paper serves a comparative function and aims to present an overview of the available domestic and foreign literature of the issues of COVID-19 treatment support and recovery after this disease.

The article describes a wide range of herbs and supplements, the effects of which have been confirmed by scientific research and are closely related to the symptoms of COVID-19 disease and dysfunctions that appear in the body after Sars-CoV-2.

Wstęp

Pandemia koronawirusa Sars-CoV-2, która dotarła do Polski na początku 2020 roku, zdominowała funkcjonowanie ludzi oraz ich sposób myślenia o chorobie i dobrostanie. Od pojawienia się pierwszego zdiagnozowanego przypadku zachorowania na COVID-19 w Polsce minęły już prawie 3 lata, a wciąż w obszarze tym dominuje stawianie pytań nad udzielaniem na nie odpowiedzi. Życie w rzeczywistości pandemii niesie poważane konsekwencje nie tylko dla zdrowia fizycznego, ale także – a może przede wszystkim – psychicznego.

22 grudnia 2021 r. Amerykańska Agencja Żywności i Leków (FDA – U.S. Food & Drug Administration) zatwierdziła pierwszy doustny lek przeciwwirusowy przeznaczony do leczenia COVID-19 – wyprodukowany przez Pfizer – Paxlovid [1]. Do dzisiaj w Polsce nie wdrożono żadnego udokumentowanego medycznie sposobu leczenia zakażenia Sars-CoV-2, co destrukcyjnie oddziałuje na poczucie bezpieczeństwa Polaków. Ten „inteligentny” wirus czyni spustoszenie w organizmie osoby chorującej, a z konsekwencjami choroby „ozdrowieńcy” zmagają się często miesiącami. Trudno dziwić się zatem, że perspektywa ponownego zachorowania jest trudna do wyobrażenia. Zwłaszcza, gdy choroba przebiegała w wersji pełnoobjawowej, a rekonwalescencja była długotrwała.

Epidemia Sars-CoV-2 określona została przez WHO w marcu 2020 r. pandemią. Na dzień 20 grudnia 2021 r. wg danych Uniwersytetu Johnsa Hopkinsa [2] liczba zachorowań na świecie wyniosła 275 332 867 przypadków (w tym 5 359 427 przypadków śmiertelnych), a w Polsce 3 968 450 zachorowań (w tym 91 514 śmiertelnych).

Z powyższych czynników wynika silna potrzeba podejmowania badań i analiz, mogących wspierać nie tylko proces leczenia COVID-19, ale także „ozdrowieńców” w procesie powrotu do dobrostanu fizycznego i psychicznego.

Symptomy COVID-19

Koronawirusy Sars-CoV wywołują u człowieka chorobę zakaźną dróg oddechowych, określaną jako ciężki ostry zespół oddechowy (Severe Acute Respiratory Syndrome – SARS) [3]. Badania wykazały, że koronawirus zespołu ciężkiego ostrego układu oddechowego (SARS-CoV-2) jest wysoce homologiczny do wirusa Sars-CoV, odpowiedzialnego za epidemię chorób układu oddechowego w latach 2002-2003 [4]. Choroba wywołana przez SARS-CoV-2 nosi nazwę COVID-19 (Coronavirus Disease-19).

Na przebieg zakażenia wpływa szereg czynników, wśród których wyodrębnić należy: wiek oraz choroby współistniejące (np. cukrzycę, choroby układu krążenia, choroby płuc) [3].

W przypadku ok. 80% zakażeń objawy są łagodne, ale pozostałe zachorowania objawiają się ciężką niewydolnością płucną, uszkodzeniem mięśnia sercowego, niewydolnością nerek, zaburzeniami krzepnięcia krwi czy wstrząsem. Ciężki przebieg choroby wiąże się z tzw. burzą cytokin, którą wywołuje nadmierna odpowiedź układu odpornościowego [3].

Do objawów klinicznych COVID-19 zalicza się: suchy kaszel, gorączkę i duszności, które pojawiają się u większości pacjentów. W niektórych przypadkach zachorowaniu towarzyszą również inne objawy, takie jak ból gardła, ból głowy, bóle mięśni, zmęczenie czy biegunka [5], a także utrata węchu (anosmia) czy smaku (ageusia) [6]. Zaobserwowano także zwiększone wypadanie włosów u chorych na COVID-19, związane z natychmiastowym przejściem z fazy anagenowej (wzrostu) do fazy telogenowej (spoczynku). Zaburzenie takie może być wywołane burzą cytokin lub stosowanymi lekami. Często jest to późny objaw zakażenia COVID-19 lub diagnozowany u ozdrowieńców [7, 8, 9, 10]. Czasami pojawiają się objawy nietypowe, np. zapalenie spojówek, ale choroba może też przebiegać bezobjawowo [11].

Okres inkubacji COVID-19 wynosi 5-6 dni, ale może wynosić nawet 14 dni. W tym okresie, zwanym również okresem „przedobjawowym”, osoby zakażone mogą przenosić wirusa na zdrowe osoby w populacji [4].

Osoby, które przebyły COVID-19, zwane także „ozdrowieńcami”, do kilku miesięcy po chorobie borykają się najczęściej z przewlekłym zmęczeniem, dusznościami, kaszlem, bólem głowy, kołataniem serca, zaburzeniami węchu i smaku, bezsennością, osłabieniem mięśni, utratą pamięci i niezdolnością do koncentracji, zwaną także „zamgleniem mózgu”, lękiem, depresją. Duszności post-COVID niekoniecznie muszą mieć związek z czynnością płuc czy wynikami tomografii komputerowej, lecz mogą wiązać się z emocjami, których człowiek doświadczył w związku z chorobą. Wówczas przydatne okazać się mogą ćwiczenia oddechowo-relaksacyjne. Wśród zaburzeń kognitywnych post-COVID dominują: mgła mózgową, zmniejszona koncentracja oraz problemy z pamięcią. Występują one najczęściej po złożonym przebiegu choroby. Zmiany neurologiczne po przebytej chorobie obejmują: przewlekłe bóle głowy, osłabienie oraz parestezje i zawroty głowy czy zaburzenia snu, a także anosmię (zaburzenia powonienia) czy zaburzenia odczuwania smaku [12].

Z badań wynika, że jedynie 10,8% badanych nie wykazywało żadnych objawów po przebyciu COVID-19. Wśród najczęściej występujących zaburzeń post-COVID odnotowano: zmęczenie (72,8%), niepokój (38%), bóle stawów (31,4%), przewlekły ból głowy (28,9%), bóle w klatce piersiowej (28,9%), otępienie (28,6%), depresję (28,6%), duszności (28,2%) [13].

Wszystkie terapie skierowane przeciw koronawirusowi można sklasyfikować jako: leki ukierunkowane na wirusa oraz leki, które działają na komórki człowieka bądź jego układ odpornościowy [14].

Obecnie w terapii COVID-19 stosuje się głównie leczenie objawowe oraz profilaktyczne działania, zmierzające do zapobiegania rozprzestrzenianiu się wirusa, np. mycie rąk, dystans społeczny, zasłanianie twarzy [3]. Powyższe determinanty stanowią uzasadnienie dla stosowania ziół wspierających leczenie zarówno w przebiegu COVID-19, jak i podczas rekonwalescencji po przebytej chorobie.

Zioła i produkty naturalne wspierające proces leczenia

Na świecie pojawiają się pierwsze próby włączania ziół w terapię chorych na COVID-19. Krajami, które wdrożyły formalne rozwiązania w tym zakresie są Uganda, Tajlandia i Chiny.

W Ugandzie – pomimo zaniepokojenia WHO – za zgodą Towarzystwa Farmaceutycznego Ugandy umożliwiono stosowanie leku ziołowego o nazwie Covidex, stworzonego przez prof. Patricka Engeu Ogwanga [15]. W skład leku wchodzi zioła znane w tradycyjnej medycynie, w tym *Warburgia ugandensis* [16], tzw. drzewo kory pieprzowej, stosowane tradycyjnie do leczenia zaburzeń żołądka i jelit, przeziębienia, kaszlu i bólu gardła oraz gorączki lub malarii, które posiada działanie antybakteryjne, przeciwgrybicze, przeciwzapalne i antyoksydacyjne [17].

W Tajlandii do leczenia lekkiego przebiegu COVID-19 stosowano **zieloną chi-rettę** (*Andrographis paniculata* – brodziuszka wiechowata). Znana jest tradycyjnie jako lek stosowany w leczeniu przeziębienia, pomagający obniżyć gorączkę i kaszel. Jej działanie testowano na tajlandzkich więźniach, którzy w 99% łagodnych objawów COVID-19 wyzdrowieli. Rząd tajlandzki zatwierdził stosowanie zielonej chiretty w leczeniu łagodnych i bezobjawowych przypadków COVID-19 [18].

W medycynie chińskiej wykorzystuje się, w zależności od przebiegu i stadium choroby, głównie:

- wczesne stadium choroby z gorączką – kwiat wiciokrzewu japońskiego (*Flos Lonicerae japonicae*), owoc forsycji zwisłej (*Fructus Forsythiae*), antywirusowe Jing Jie (*Schizonepeta tenuifolia*), preparowane nasiona soi (*Semen Sojae preparatum*), owoc łopianu większego (*Fructus Arctii tosum*), korzeń rozwaru wielkokwiatowego (*Radix Platycodonis*), kłącze trzciny pospolitej (*Rhizoma Phragmitis*), ziele lofatery wysmukłej (Dan hu Ye – *Herba Lophatheri*), ziele przęśli (*Herba Ephedrae*), nasiona moreli zwyczajnej (Xing Ren – *Semen Armeniacae amarum*), gips włóknisty (Shi Gao – *Gypsum Fibrosum*) oraz korzeń lukrecji (*Radix Glycyrrhizae*) – usuwają toksyny, które są głównymi metabolitami podczas wczesnego zakażenia koronawirusem;

- przy niedrożności płuc, objawiającej się stanem podgorączkowym, bólem głowy, brakiem apetytu, zmęczeniem, gęstą wydzieliną – nasienie moreli (Xing Ren – *Semen Armeniaca*), nasienie łzawicy ogrodowej (*Semen Coicis*), kardamon (*Amomum cardamomum*), talk (*Talcum*), kłącze pinelii chińskiej (*Rhizoma Pinelliae*), magnolię lekarską (*Magnoliae officinalis*). Nie zostały one jednak poddane badaniom w kierunku leczenia koronawirusa. Dodatkowo stosowane są: rabarbar – rzewień (*Rheum rhabarbarum*), ostrzyż długi – kurkuma długa (*Curcumae longae*), cykada (*Cicadae periostracum*), jedwabnik (*Bombyx batryticatus*). Rabarbar – zawierający emodynę – może być potencjalnie skutecznym w walce z nowym koronawirusem SARS, a kurkuma wykazuje działanie przeciwbakteryjne i przeciwwirusowe;
 - podczas gorączki, pocenia się i silnego pragnienia – stosuje się kłącze artaktyloda czarnego (*Rhizoma Atractylodis*);
 - w średnim stadium choroby, w epizodach wysokiej gorączki, kaszlu, osłabienia, zmęczenia i duszności stosuje się także urzet barwierski (*Indigo naturalis*), rehmanię kleistą (*Radix Rehmanniae*), kłącze cynowodu (*Rhizoma Coptidis*), owoc gardenii jaśminowatej (*Fructus Gardeniae*), kłącze anemareny chińskiej (*Rhizoma Anemarrhenae*), korzeń piwonii czerwonej (*Radix Paeoniae rubra*), korzeń trędownika (*Radix Scrophulariae*), piwonię drzewiastą (*Cortex moutan*) oraz korzeń lukrecji (*Radix Glycyrrhizae*) i ziele bylicy rocznej (*Herba Artemisiae*) [19].

W roku 2008 – w badaniach prowadzonych przez Lau K.M. wraz z zespołem – udowodniono działanie przeciwwirusowe **pstrolistki sercowatej** (*Houttuynia cordata*). Ekstrakt wodny tego zioła powodował także u myszy poprawę odpowiedzi immunologicznej organizmu zakażonego Sars-CoV. Badacze podkreślają dwufazowe działanie pstrolistki sercowatej, której ekstrakt – stosowany przed infekcją SARS-CoV – aktywuje układ odporności, aby zapobiegać infekcji. W przypadku zakażenia – spowalnia proces replikacji wirusa [21]. Działanie przeciwwirusowe udowodniono także dla **pelargonii afrykańskiej** (*Pelargonium sidoides*), którą przetestowano klinicznie w walce z ludzkim koronawirusem, wirusem grypy A czy wirusem paragrypy [3].

Ususzony i przetworzony **korzeń lukrecji gładkiej** (*Glycyrrhiza glabra*) stosowany był już w średniowieczu w przypadku objawów wirusowych infekcji dróg oddechowych, takich jak suchy kaszel czy chrypka. Głównym składnikiem korzenia lukrecji są saponiny triterpenowe oraz kwas lukrecjowy. Lukrecja hamuje replikację wirusa SARS-CoV, a także jego adsorpcję i penetrację we wczesnym okresie replikacji [22]. Lukrecja gładka jest zalecana przy kaszlu i bólu gardła. Bogata w saponiny, kumaryny i flawonoidy może być podawana dwa razy dziennie w postaci odwaru z 1,5 g korzeni na 150 ml wody. W badaniach na myszach zahamowała ona proliferację wirusa SARS [23].

Miód i produkty pszczele wykazują silne działanie przeciwwirusowe. Od lat stosowane są w profilaktyce chorób układu oddechowego. Propolis (kit pszczeli) leczy ostre i przewlekłe stany zapalne dróg oddechowych. Propolis wykazuje także skuteczność w leczeniu zapalenia gardła i krtani, zapalenia jamy ustnej. W nauce istnieją dowody potwierdzające, że miód pszczeli skutecznie leczy infekcje dróg oddechowych. Ma działanie przeciwzapalne, przeciwdrobnoustrojowe i przeciwutleniające, pobudza błony śluzowe do wydzielania śluzu oraz pozwala na odkrztuszanie wydzieliny oskrzelowej. Miód posiada także właściwości immunostymulujące, wspierające organizm w walce z zakażeniem. Wykazuje działanie antybiotyczne w stosunku do licznych mikroorganizmów. Najsilniejsze działanie antybakteryjne mają miody spadziowe i nektarowo-spadziowe. Silniejsze działanie antybiotyczne obserwuje się po rozpuszczeniu miodu w wodzie. Miód działa także przeciwkaszlowo. K. Błęcha i I. Wawer, powołując się na publikację B. Kędzi, wskazują, że działa on lepiej niż znany lek przeciwkaszlowy – dekstrometorfan, a jego podawanie jest bezpieczniejsze [24]. W trakcie terapii miodem zaobserwować można: zmniejszenie kaszlu, bólu gardła i głowy, normalizację temperatury ciała i poprawę samopoczucia. Pyłek pszczeli posiada właściwości adaptogenne (dostosowawcze) związane ze zwiększeniem odporności organizmu na działanie szkodliwych czynników biologicznych, fizycznych i chemicznych. Wyciągi etanolowe z pyłku pszczelego – dzięki obecności flawonoidów i fenolokwasów – działają antybiotyczne. Właściwości terapeutyczne zależą od stopnia rozdrobnienia pyłku (nierozdrobniony to ok. 30-40 g na dobę) [24].

Ciekawą alternatywę stanowią ziołomiody, które – jak wskazują badania B. Kędzi i Z. Kostrzewskiego – „w znacznie mniejszych stężeniach hamują rozwój drobnoustrojów chorobotwórczych w porównaniu do miodów naturalnych, co stwarza możliwości lepszego wykorzystania ich do leczenia chorób górnych dróg oddechowych i dermatologicznych niż w przypadku miodów naturalnych” [25].

Działanie pomocne w leczeniu COVID-19 wykazują również **nasiona czarnuszki siewnej** (*Nigella sativa*), które rozszerzają oskrzela i chronią płuca [3]. Badaniom poddano działanie antybakteryjne czarnuszki, w tym w szczególności surowych ekstraktów alkaloidów z wodą, działanie antyoksydacyjne, przeciwcukrzycowe, przeciwnowotworowe, przeciwzapalne i przeciwbólowe, immunomodulujące, nefroprotecyjne, przeciwastmatyczne i ochronne na płuca (hamuje reakcje zapalne oraz zmniejsza zwłóknienie i uszkodzenie płuc) [26]. Składnikiem aktywnym jest tymochinon. Czarnuszka może być stosowana w przebiegu ciężkiego kaszlu [23].

Czarnuszka siewna – w połączeniu z miodem w proporcji 1 gram miodu na kilogram masy ciała dziennie i po 80 mg nasion czarnuszki na kilogram masy ciała – w badaniach prowadzonych w jednym z pakistańskich szpitali, pośród chorych na COVID-19 w stopniu umiarkowanym i ciężkim, miała spektakularne wyniki. U osób stosujących czarnuszkę siewną z miodem czas choroby uległ skróceniu

z 7 do 4 dni (w przebiegu ciężkim z 13 do 9 dni) w stosunku do grupy, która nie przyjmowała czarnuszki i miodu. Śmiertelność pacjentów, którym podano czarnuszkę z miodem wynosiła jedynie 4%, a w grupie pozostałych pacjentów było to 18,87%. Pacjenci także szybciej wracali do codziennej aktywności po chorobie (wśród pacjentów przechodzących COVID-19 w przebiegu umiarkowanym i leczonych czarnuszką w 6. dniu po przebytej chorobie aktywność wznowiło 63,6% badanych, podczas gdy w grupie pacjentów nie otrzymujących czarnuszki odsetek ten wyniósł zaledwie 10,9%). Czarnuszka z miodem to niedroga terapia, która w połączeniu z innymi metodami leczenia może wzmocnić organizm w walce z COVID-19 [27].

We wsparciu procesu leczenia COVID-19 duże znaczenie może mieć **czosnek pospolity** (*Allium sativum*). Od lat stosowany był w chorobach układu oddechowego, podczas przeziębienia, kaszlu, grypy czy zapaleniu oskrzeli. Obserwuje się jego działanie napotne, bakteriostatyczne czy przeciwwirusowe. Tradycyjnie stosuje się u dorosłych i dzieci powyżej 12. roku życia w przypadku przeziębienia i koklusu. Podczas badań zaobserwowano zmniejszenie nasilenia objawów przeziębienia [23].

Skuteczność w działaniu przeciwwirusowym podczas epidemii Sars-CoV w latach 2002-2003 wykazał **wiciokrzew japoński** (*Lonicera japonica*). Wśród roślin, które należy potraktować priorytetowo w badaniach nad ich skutecznością w walce z COVID-19 jest także **morwa biała** (*Morus alba*), która – obok właściwości przeciwcukrzycowych – wykazuje także działanie przeciwbakteryjne i była z powodzeniem stosowana podczas epidemii SARS (2002-2003). Rośliną wykorzystywaną podczas epidemii Sars-CoV była także **forsycja zwisła** (*Forsythia suspensa*), a dokładnie wodny ekstrakt z jej owoców, wykazujący działanie przeciwzapalne, przeciwbólowe, przeciwgorączkowe i przeciwwymiotne. Podczas epidemii SARS w latach 2002-2003 stosowano również korzeń **dzwonkowca kosmatego** (*Radix Codonopsis*), który wspiera funkcjonowanie układu odpornościowego [28].

Istotną rolę w leczeniu chorób układu oddechowego pełni **sosna zwyczajna** (*Pinus sylvestris*). Pod uwagę brany jest olejek z igieł sosny [29] czy syrop z pędów sosny.

Kolejną rośliną, na którą zwracają uwagę badacze jest **prawoślaz lekarski** (*Althaea officinalis*). Udowodniono jego działanie przeciwkaszlowe. Wyciąg wodny z korzenia prawoślazu łagodzi objawy suchego kaszlu, co może być dowodem skuteczności prawoślazu w łagodzeniu wczesnych objawów COVID-19 [23].

Brodziuszka wiechowata (*Andrographis paniculata*) jest wskazana podczas chorób układu oddechowego, przeziębienia, grypy, kaszlu czy gorączki. Została przebadana klinicznie w zakresie objawów przeziębienia. Łagodzi symptomy ostrej infekcji dróg oddechowych i pozwala skrócić czas występowania objawów. Istnieją pewne przedkliniczne wskazania aktywności immunomodulacyjnej o nieznanym implikacjach dla burzy cytokin COVID-19. Uzyskane dowody pozwalają wnioskować, że jest możliwość ewentualnego jej wykorzystania w łagodzeniu wczesnych objawów COVID-19 [23].

Mirra (*Commiphora myrrha*, *Commiphora molmol*) stosowana jest także w chorobach układu oddechowego, głównie zapalenia błony śluzowej gardła. Według zaleceń WHO nalewkę 0,5-5 ml mirry rozpuszcza się w 150 ml wody i płucze gardło 3 razy dziennie. Mirry nie należy stosować podczas ciąży i laktacji [23].

Wśród roślin wspierających proces leczenia COVID-19 nie sposób nie wskazać **jeżówki** (*Echinacea*). Nie udowodniono jej właściwości w leczeniu kaszlu, gorączki, grypy, przeziębienia, choć niektóre badania pokazują skuteczność jeżówki w zmniejszeniu nasilenia objawów oraz skrócenia czasu trwania przeziębienia i grypy. Podczas leczenia COVID-19 należy zachować jednak ostrożność, aby uniknąć immunostymulacji i powikłań w późniejszych fazach choroby [23].

Testom klinicznym w zakresie leczenia chorób układu oddechowego (zapalenie oskrzeli, nieżyt nosa) poddano **eukaliptus gałkowy** (*Eucalyptus globulus*). Pozytywnie oceniono jego zastosowanie w leczeniu kaszlu i podrażnienia gardła. Olejek eteryczny z eukaliptusa w badanej grupie zmniejszył kaszel, uczucie swędzenia w gardle i jamie ustnej, a także inne objawy [23].

Rośliną, którą powszechnie stosuje się w przypadku chorób układu oddechowego jest **ślaz dziki** (*Malva sylvestris*). Zalecany głównie w podrażnieniach jamy ustnej lub gardła oraz w suchym kaszlu. Napar z 1,8 g ślazu i 150 ml wody spożywa się 3 razy dziennie. Ponieważ ślaz jest rośliną stosowaną tradycyjnie w leczeniu kaszlu, może on być także przydatny w łagodzeniu objawów COVID-19 [23].

Podczas leczenia wczesnych objawów COVID-19 przydatny może być także **anyż biedrzytnic** (*Pimpinella anisum*). Wskazany szczególnie podczas kaszlu i gorączki oraz przetestowany klinicznie w kierunku astmy. W tradycyjnych recepturach stosuje się 3 razy dziennie napar z 1,5 g suszonych owoców anyżu i 150 ml wody. Ze względu na obecność kumaryn należy zachować ostrożność podczas stosowania leków przeciwwkrzepowych. Przeprowadzone badania pozwalają wnioskować o możliwości zastosowania anyżu w łagodzeniu wczesnych objawów COVID-19 [23].

Wskazania do stosowania w chorobach układu oddechowego posiada również **babka lancetowata** (*Plantago lanceolata*). Przypisuje się jej właściwości łagodzenia kaszlu, zapalenia gardła i gorączki. Babka lancetowata, poprzez działanie wykrztuśne i przeciwzapalne, zalecana jest w chorobach układu oddechowego [23].

Dużą skuteczność w chorobach układu oddechowego przypisuje się **rozwarowi wielkokwiatowemu** (*Platycodon chinensis*). Wskazany przy kaszlu, infekcjach górnych dróg oddechowych czy bólu gardła. Udowodniono jego skuteczność w działaniu przeciwkaszlowym i przeciwgorączkowym. Został także przebadany klinicznie pod kątem leczenia zapalenia płuc. Nie należy go jednak stosować z alkoholem, lekami nasennymi i uspokajającymi [23].

Działanie przeciwzapalne i przeciwgorączkowe potwierdzono w przypadku **wierzby białej** (*Salix alba*). Sprawdzić się może jako terapia przeciwgorączkowa i przeciwzapalna w schorzeniu górnych dróg oddechowych [23].

W stanach zapalnych górnych dróg oddechowych, przebiegających z gorączką, wskazany jest **bez czarny** (*Sambucus nigra*). Przypisuje się mu działanie wykrztuśne, łagodzące ból głowy oraz objawy przeziębienia i grypy. Eksperymentalnie udowodniono jego działanie przeciwgorączkowe oraz to, że suplementacja czarnym bzem zmniejsza objawy zakażenia górnych dróg oddechowych w przebiegu przeziębienia i grypy [23].

W chorobach układu oddechowego wskazuje się także działanie **tymianku pospolitego** (*Thymus vulgaris*). Ujawnia działanie wykrztuśne, toteż zaleca się go podczas przeziębień, zapalenia krtani i migdałków. Spożywać można w postaci naparu 3-4 razy dziennie (1-2 g suszonych liści i 150 ml wody). Głównym składnikiem jest tymol, a zatem wysokie dawki (ok. 10 g) mogą być niebezpieczne. Nie powinny go spożywać dzieci do 30 miesiąca życia, gdyż preparaty zawierające tymol mogą spowodować skurcz krtani [23].

Niezwykle powszechna w przeziębieniach jest także **lipa drobnolistna** (*Tilia cordata*). Działa łagodząco na objawy ze strony układu oddechowego oraz przeciwzapalnie. Podobnie **imbir lekarski** (*Zingiber officinale*). Obserwuje się jego skuteczność podczas przeziębienia i kaszlu, jest więc zalecany w schorzeniach górnych dróg oddechowych jako terapia przeciwzapalna. Działanie przeciwzapalne ujawnia także **cytryna zwyczajna** (*Citrus limon*). Jest ona stosowana w chorobach układu oddechowego, jako środek łagodzący kaszel i środek wykrztuśny. Podobne działanie ma **wawrzyn szlachetny – Laur** (*Laurus nobilis*). Stosuje się go w leczeniu chorób układu oddechowego. Badacze podają, że destylowany olej wyekstrahowany z jagód *Laurus nobilis* okazał się skutecznym wirusobójczym środkiem przeciw SARS-CoV. Działanie wspierające w leczeniu chorób układu oddechowego odnotowano także w odniesieniu do **palczatki cytrynowej** (*Cymbopogon citratus*), **krzyżownicy wirginijskiej** (*Polygala senega*), **paprotki zwyczajnej** (*Polypodium vulgare*) czy **oregano meksykańskiego** (*Lippia graveolens*) [23].

Kluczowe znaczenie w zakażeniu i przebiegu COVID-19 ma właściwa odporność organizmu. A tę ukształtować można za pomocą racjonalnej diety, bogatej w składniki odżywcze, tj. **witaminy, minerały, kwasy tłuszczowe, wybrane polisacharydy** oraz składniki nieodżywcze (**polifenole**). Związki te posiadają potencjał umożliwiający bezpośrednie działanie przeciwwirusowe bądź działanie pośrednie poprzez wzmocnienie odporności organizmu. Zwiększać odporność organizmu mogą witaminy A, D, E, C, toteż zalecane jest spożywanie marchwi, cytrusów, soków owocowych, olejów z kiełków, orzechów, nasion, mleka i produktów mlecznych, bogatych w te witaminy. Właściwości przeciwwirusowe oraz zwiększające

odporność organizmu mają także minerały, takie jak: cynk, selen, żelazo i chrom. Cynk z powodzeniem stosować można podczas infekcji COVID-19 dla złagodzenia infekcji dróg oddechowych [30].

Eksperci są zgodni, że w leczeniu COVID-19 – poza fitoterapią – skuteczną jest **suplementacja witamin, mikro- i makropierwiastków** o działaniu immunomodulującym, przeciwzapalnym czy przeciwwirusowym. Takie właściwości mają witamina A, C, D, E, B, a także minerały (np. selen) oraz substancje bioaktywne, które obecne są w kurkumie, jeżówce, w propolisie, czosnku, w zielonej herbacie czy soi. Witamina **D₃** jest także suplementem, który – zgodnie z najnowszymi doniesieniami – zmniejsza ryzyko zakażenia infekcjami wirusowymi układu oddechowego. Niższe dawki zapobiegają infekcji, natomiast wyższe dawki zalecane są w procesie leczenia osób zainfekowanych. W celu zwiększenia odporności na zakażenie COVID-19, J. Mielcarek opisuje codzienne spożycie na poziomie 20-50 µg/ml [3]. **Witamina D**, wytwarzana w organizmie w wyniku wystawienia skóry na działanie promieni słonecznych, działa jako fizyczna bariera w walce z wirusami. Z badań przeprowadzonych w 2020 roku przez W. Granta i in. wynika, że przyjmowanie witaminy D zmniejsza ryzyko infekcji dróg oddechowych, takich jak grypa i COVID-19, podnosząc odporność organizmu [30, 31]. Podobne działanie przypisuje się witaminie C [20]. **Witamina C** (kwas askorbinowy) wspiera odporność organizmu na infekcje wirusowe i bakteryjne. Jest pomocna w ciężkich infekcjach i zapaleniu płuc. Wysokie dawki witaminy C poprawiają stan pacjentów podczas ciężkich infekcji dróg oddechowych [30]. Z badań A. Carr wynika, że podawanie określonej dawki witaminy C dziennie może zmniejszyć śmiertelność u pacjentów z COVID-19 [32].

Witaminy są konieczne dla utrzymania zdrowia i odporności. Z wyjątkiem witaminy D, organizm nie jest w stanie samodzielnie ich wytworzyć, toteż muszą być dostarczane wraz z pożywieniem. **Witamina A**, rozpuszczalna w tłuszczach i niezbędna dla wzrostu, rozwoju, widzenia i odporności. Jej niedobór może indukować stany zapalne i większą podatność organizmu na infekcje wirusowe. W przebiegu COVID-19 zaobserwowano znaczące obniżenie kwasu retinowego, który posiada najbardziej bioaktywną strukturę ze wszystkich form witaminy A. Witamina A może także zmniejszyć śmiertelność w przypadku niektórych odmian wirusa u dzieci [30].

Witamina E, tokoferole i tokotrienole to bardzo silne przeciwutleniacze, podobnie jak witamina C, dlatego zaleca się ich stosowanie podczas leczenia COVID-19. Można uznać ją jako środek przeciwwirusowy, gdyż zmniejsza zdolność replikacji wirusa i wzmacnia odporność organizmu [30].

Cynk i selen to minerały, które zapewniają właściwe funkcjonowanie układu odpornościowego. Selen posiada właściwości przeciwutleniające, a przez to zapewnia odporność na infekcje wirusowe. Podczas niedoboru selenu funkcje odpornościowe organizmu są upośledzone, co może powodować większą aktywność wirusa.

Ponadto, ze względu na właściwości przeciwwirusowe, można rozważyć również suplementację cynkiem podczas leczenia COVID-19 oraz w jego profilaktyce [3, 30]. Niedobór selenu w diecie powoduje stres oksydacyjny, który dokonać może zmian w genomie wirusa tak, że łagodnie lub umiarkowanie patogenny wirus stanie się silnie aktywny [33].

Ważnym pierwiastkiem w organizmie człowieka jest żelazo, niezbędne do syntezy białek, naprawy DNA czy oddychania komórkowego. Żelazo jest także potrzebne do replikacji wirusa, a jego podwyższony poziom może wiązać się z powstawaniem infekcji wirusowych, głównie wirusem zapalenia wątroby typu B [30].

Polisacharydy, jak β -glukan, fruktany, polisacharydy siarczanowe, wykazują właściwości przeciwwirusowe i antyoksydacyjne, toteż są skuteczne w procesie wzmacniania odporności organizmu. β -glukan, występujący w ścianach komórkowych zbóż, może hamować i zakłócać działanie wirusa oraz stymulować odporność organizmu. Źródłem fruktanów, posiadających właściwości przeciwwirusowe są: czosnek, cebula, cykorja, szparagi, banan, karczoch. Polisacharydy siarczanowe, jak np. galaktan, karagen czy galaktofukan, wykazały właściwości przeciwwirusowe przeciwko niektórym wirusom. Najważniejszym źródłem tych polisacharydów są grzyby jadalne oraz algi morskie [30].

Proteiny, jak lektyna i laktoferyna, także posiadają udowodnione działanie przeciwwirusowe. Laktoferyna występuje w mleku ssaków i określa się ją jako czerwone białko mleka. Wspiera naturalną odporność organizmu, hamuje replikację i rozprzestrzenianie się niektórych wirusów. Żelazo obecne w laktoferynie działa także jako przeciwutleniacz. Zaobserwowano też właściwości przeciwwirusowe **kwasów tłuszczowych omega-3** [30].

Wśród produktów wspierających proces leczenia COVID-19 wyodrębnia się kurkumę oraz cytrusy. **Polifenole** w nich obecne (kurkumina i pochodne oraz tangeretyna, hesperetyna, hesperydyna) wykazują silniejsze działanie przeciwwirusowe niż referencyjne leki przeciwwirusowe. Podobne znaczenie mają galusan epigallokatechiny, zawarty w herbacie (w tym w dużych ilościach w herbacie zielonej), a także herbata z korzenia różeńca górskiego (*Rhodiola rosea*) oraz inne flawonoidy. Skuteczne działanie przeciwko Sars-CoV-2 wykazuje także resweratrol, który jednak ma ograniczoną biodostępność [14].

Naturalne związki, które sprzyjają procesowi leczenia SARS-Cov-2, to: diaryloheptanoidy, terpenoidy, cynamonamidy, flawonoidy i kumaryny. Polifenole działające przeciwzapalnie, to przede wszystkim: kurkumina, resweratrol, galusan epigallokatechiny, a także emodyna, naringenina, apigenina i kempferol [14].

Pomimo wielu obiecujących danych wciąż konieczne jest prowadzenie badań dotyczących synergizmu w stosowaniu leków i suplementów diety.

Zioła i produkty naturalne dla „ozdrowieńców”

Pacjenci, którzy przebyli COVID-19 ujawniają szereg objawów, utrudniających prawidłowe funkcjonowanie. Częstym skutkiem przechorowania COVID-19 są długo utrzymujące się: duszności, zmęczenie, depresja, zaburzenia pracy serca, zaniki pamięci, tzw. mgła mózgowa wywołana długotrwałym niedotlenieniem mózgu czy zwłóknienie płuc.

Specyficzne działanie wspierające leczenie uszkodzeń płucnych i chorób neurologicznych wykazują ekstrakty wodne i metanolowe (wodnoalkoholowe) odtłuszczonych nasion czarnuszki. Długoterminowe podawanie nasion czarnuszki w badaniach na szczurach zwiększało ich zdolność uczenia się i poprawiało pamięć. Cyklicznie stosowane nasiona czarnuszki zmniejszały u szczurów stany lękowe [26].

Zaburzenia kognitywne, jakim jest mgła mózgowa, dotyczyć mogą wielu pacjentów po COVID-19. Badania prowadzone wśród pacjentów, którzy chorowali na COVID-19 wskazują, że 59% z nich wskazywało na występowanie zaburzeń poznawczych po przebytej chorobie [34]. Troska o dobrostan ozdrowieńców w tym aspekcie jest o tyle istotna, że funkcje poznawcze determinują jakość ich życia i pracy.

Reakcje neurozapalne skutecznie tłumi **luteolina**. Posiada ona także właściwości neuroprotektyjne. Badania wykazały, że preparat luteoliny wraz z lekiem przeciwhistaminowym – rupatadyną – hamują mgłę mózgową i inne objawy neuropsychiatryczne, które są związane z patogenezą burz cytokinowych u pacjentów z COVID-19 [35]. Mgła mózgowa wiąże się z obniżeniem funkcji poznawczych, zaburzeniami koncentracji, utratą pamięci krótkotrwałej i długotrwałej. Dostarczenie do organizmu flawonoidów (obecnych w zielonych roślinach i nasionach, np. tymianek, seler, marchew, zielona papryka) – głównie luteoliny, chroni przed zaburzeniami funkcji poznawczych i może wpływać na poprawę pamięci, zwiększenie koncentracji. Zaleca się jednak ostrożność w stosowaniu flawonoidów z kurkumina czy resweratrol [36].

W zaburzeniach neurologicznych zaleca się wykorzystać: resweratrol (niedokrwienie mózgu), kemferol (obecny w kapuście ogrodowej, ozdobnej – *Brassica oleracea*/ przy stresie oksydacyjnym), ginkgolid (obecny w miłorzębie japońskim – *Ginkgo biloba*/ przy niedokrwieniu mózgu), pterostylben (obecny w Kino Tree – *Pterocarpus marsupium*/ przy stresie oksydacyjnym), myricanol (obecny w woskownicy czerwonej, zwanej chińską truskawką – *Myrica rubra*/ przy stresie oksydacyjnym), kapsaicynę (obecną w papryce – *Capsicum annuum*/ przy niedokrwieniu mózgu), ergotioneinę (obecną w bocznaku ostrygowatym – *Pleurotus ostreatus*/ przy urazach śródbłonna), galusan epigallokatechiny (obecny w herbacie chińskiej – *Camellia sinensis*) oraz kannabidiol – CBD i kannabigerol – CBG (obecne w konopiach siewnych – *Cannabis sativa*) w przypadku zapalenia nerwów [35].

W odniesieniu do poprawy zdolności intelektualnych rosnącą popularnością cieszą się obecnie adaptogeny, w tym popularna ashwagandha (*Withania somnifera*). Wśród wskazań do stosowania korzenia ashwagandhy wymienia się zespół przewlekłego zmęczenia, wyczerpanie, osłabienie odporności, łagodne stany depresyjne [37]. Nazywana żeń-szeniem indyjskim lub wiśnią zimową, polecana jest osobom, które doświadczają zaburzeń koncentracji i zapamiętywania oraz osobom przeżywającym sytuacje stresowe [38]. Wyciągi alkoholowe z korzenia ashwagandhy wykazują właściwości neuroprotektcyjne, zapobiegają neurodegeneracji i pogorszeniu funkcji poznawczych, a także poprawiają pamięć, uczenie się oraz koordynację ruchową [39].

W tradycyjnej medycynie chińskiej w przypadku kołatania serca i duszności stosuje się: korzeń żeń-szenia (*Radix Ginseng*), korzeń konwalnika japońskiego (*Radix Ophiopogonis*) oraz cytryniec chiński – owoc (*Schisandra chinensis*), który wykazuje działanie ukierunkowane na ochronę ludzkich komórek śródbłonka żyły pępowinowej przed niedotlenieniem oraz zwiększa żywotność komórek. Ponadto stosowane są także: korzeń glehni przybrzeżnej (*Radix Glehniae*), kłącze kokoryczki wonnej (*Polygonati odorati*), korzeń trichosantesa kirilowa (*Radix Trichosanthis*), ekstrakt z liści morwy (*Folium Mori*) oraz korzeń lukrecji. W zwłóknieniu płuc wykorzystuje się takie zioła, jak: nasiona brzoskwini zwyczajnej (*Semen Persicae*), kwiat krokosza barwierskiego (szafranu fałszywego – *Flos Carthami*) oraz szałwię czerwoną (*Salvia miltiorrhiza* – Dan Shen) [19].

W przypadku zaburzeń sercowo-naczyniowych zastosować można: malwidynę (obecną w winorośli – *Vitis* spp./ przy dysfunkcji śródbłonka), sinigrynę (obecną w kapuście – *Brassica* spp./ przy miażdżycy), delfinidynę (obecną w ostróżce – *Delphinium* spp.) oraz cyjanidynę (obecną w borówce – *Vaccinium* spp.) przy niedokrwieniu serca, tymochinon (obecny w czarnuszce siewnej – *Nigella sativa*) oraz ginsenozyd (obecny w żeń-szeniu – *Panax* spp.) stosowany przy zawale mięśnia sercowego), oleokantal (obecny w oliwce europejskiej – *Olea europaea*/ przy miażdżycy), berberynę (obecną w berberysie – *Berberis* spp.) oraz resweratrol (obecny w winorośli – *Vitis* spp.) przy niedokrwieniu mięśnia sercowego [35].

Podsumowanie

U ponad połowy badanych w 2019 roku Polaków poczucie bezpieczeństwa wynikające z pandemii Sars-Cov-2 spadło [40]. COVID-19 jest chorobą, która może uczynić spustoszenie w organizmie człowieka. Jej konsekwencje mogą być długofalowe, a brak szeroko dostępnych leków zachęca do szukania alternatywy w surowcach zielarskich. Warto po nie sięgać, ponieważ ich działanie jest potwierdzone lub potwierdzane naukowo.

Suplementy ziołowe mogą także wspierać proces leczenia, umożliwiając szybsze wyleczenie, a podczas rekonwalescencji po COVID-19 – także szybsze osiągnięcie dobrostanu. Kwestią kluczową jest jednak rozszerzenie badań – głównie nad synergistycznym działaniem surowców roślinnych w połączeniu z produktami farmaceutycznymi. Potrzeba także szerokiej wiedzy na temat możliwości łączenia surowców zielarskich. Tylko wówczas można zagwarantować chorym bezpieczeństwo w ich stosowaniu.

Obecnie największe znaczenie we wsparciu procesu leczenia COVID-19 przypisuje się czarnuszce siewnej, korzeniowi lukrecji oraz produktom pszczelim. Istnieje wiele ziół, które z powodzeniem można stosować objawowo, a które nie zostały jeszcze szeroko opisane w kontekście leczenia COVID-19 (np. sosna zwyczajna).

Badania nad sposobami leczenia COVID-19 oraz metodami rekonwalescencji ozdrowieńców postępują. Z tego powodu konieczna jest ustawiczna aktualizacja informacji w oparciu o wiarygodne źródła.

Literatura

- [1] U.S. Food & Drug Administration, Coronavirus (COVID-19) Update: FDA Authorizes First Oral Antiviral for Treatment of COVID-19, <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-authorizes-first-oral-antiviral-treatment-covid-19> (stan na dzień 26.12.2021).
- [2] Johns Hopkins University & Medicine, Coronavirus Resource Center, <https://coronavirus.jhu.edu/map.html> (stan na dzień 20.12.2021).
- [3] Mielcarek J., Fitozwiązki i substancje naturalne wspomagające leczenie COVID-19, *Postępy fitoterapii*, 2021, 22(1), s. 47-52.
- [4] Parasher A., COVID-19: Current understanding of its Pathophysiology, Clinical presentation and Treatment, *Postgraduate Medical Journal*, 2021, 97, s. 312-320.
- [5] Hosseini E.S., Kashani N.R., Nikizad H., Azadbakht J., Bafrani H.H., Kashani H.H., The novel coronavirus disease-2019 (COVID-19): Mechanism of action, detection and recent therapeutic strategies, *Virology*, 2020, 551, s. 1-9.
- [6] Yonghyun L., Pokkee M., Seonggu L., Shin W.K., Prevalence and Duration of Acute Loss of Smell or Taste in COVID-19 Patients, *Journal of Korean Medical Science*, 2020, 35(18), s. 1-6.
- [7] Thuangtong R., Angkasekwinai N., Leeyaphan C., Triwongwanat D., Thanomkitti K., Munprom K., Kulthanan K., Thuangtong R., Angkasekwinai N., Leeyaphan C., Triwongwanat D., Thanomkitti K., Munprom K., Kulthanan K., Patient Recovery from COVID-19 Infections: Follow-Up of Hair, Nail, and Cutaneous Manifestations, *Bio-Med Research International*, 2021, s. 1-6.
- [8] Moreno-Arrones O.M, Lobato-Berezo A., Gomez-Zubiaur A., Arias-Santiago S., Saceda-Corralo D., Bernardez-Guerra C., Grimalt R., Fernandez-Crehuet P., Ferrando J., Gil R., Hermosa-Gelbard A., Rodrigues-Barata R., Fernandez-Nieto D., Merlos-Navarro S., Vañó-Galván S., SARS-CoV-2-induced telogen effluvium: a multicentric study, *Journal of European Acad Dermatol Venereol*, 2021, 35(3), s. 181-183.

- [9] Miyazato Y., Yusuke Miyazato Morioka S., Tsuzuki S., Akashi M., Osanai Y., Tanaka K., Terada M., Suzuki M., Kutsuna S., Saito S., Hayakawa K., Ohmagari N., Prolonged and Late-Onset Symptoms of Coronavirus Disease 2019, *Open Forum Infectious Diseases*, 2020, 7(11), s. 1-3.
- [10] Olds H., Liu J., Luk K., Lim H.W., Ozog D., Rambhatla P.V., Telogen effluvium associated with COVID-19 infection, *Dermatologic Therapy*, 2021, 34(2), s. 1-4.
- [11] Ozturker Z.K., Conjunctivitis as sole symptom of COVID-19: A case report and review of literature, *European Journal of Ophthalmology*, 2021, 31(2), s. 1-9.
- [12] Vance H., Maslach A., Stoneman E., Harmes K., Ransom A., Seagly K., Furst W. Addressing Post-COVID Symptoms: A Guide for Primary Care Physicians, *Journal of the American Board of Family Medicine*, 2021, 34(6), s. 1229-1242.
- [13] Kamal M., Marwa A.O., Amal H., Haitham S., Assessment and Characterization of Post-COVID-19 manifestations, *The international Journal of Clinical Practice*, 2021, 75, s. 1-5.
- [14] Paraiso I.L., Revel J.S., Srevens J.F., Potential use of polyphenols in the battle against COVID-19, *Current Opinion in Food Science*, 2020, 32, s. 149-155.
- [15] Athumani H., Uganda Approves Herbal Treatment for COVID-19, https://www.voanews.com/a/covid-19-pandemic_uganda-approves-herbal-treatment-covid-19/6207668.html (stan na dzień 26.12.2021).
- [16] Agaba J., Battle over intellectual property rights of 'medicine', <https://www.university-worldnews.com/post.php?story=20210712213810349> (stan na dzień 26.12.2021).
- [17] Maroyi A., The genus *Warburgia*: A review of its traditional uses and pharmacology, *Pharmaceutical Biology*, 2014, 52., s. 378-391.
- [18] Robbins S., COVID-19: How Thailand is using a 'cheap and effective' traditional herbal medicine to treat coronavirus, „Sky news”, <https://news.sky.com/story/covid-19-how-thailand-is-using-a-cheap-and-effective-traditional-herbal-medicine-to-treat-coronavirus-12428157> (stan na dzień 26.12.2021).
- [19] Huang S.T., Lai H.C., Lin Y.C., Huang W.T., Hung H.H., Ou S.C., Lin H.J., Hung M.C., Principles and treatment strategies for the use of Chinese herbal medicine in patients at different stages of coronavirus infection, *American Journal of Cancer Research*, 2020, 10(7), s. 2010-2031.
- [20] Panyod S., Ho C.T., Sheen L.Y., Dietary therapy and herbal medicine for COVID-19 prevention: A review and perspective, *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 2020, 10(4), s. 420-427.
- [21] Lau K.M., Lee K.M., Koon C.M., Cheung C.S., Lau C.P., Ho H.M., Lee M.Y., Au S.W., Cheng C.H., Lau C.B., Tsui S.K., Wan D.C., Waye M.M., Wong K.B., Wong C.K., Lam C.W., Leung P.C., Fung K.P., Immunomodulatory and anti-SARS activities of *Houttuynia cordata*, *Journal of Ethnopharmacol*, 2008, 118(1), s. 79-85.
- [22] Fiore C., Eisenhut M., Krausse R., Ragazzi E., Pellati D., Armanini D., Bielenberg J., Antiviral Effects of *Glycyrrhiza* species, *Phytotherapy Research*, 2008, 22, s. 141-148.
- [23] Silveira D., Prieto-Garcia J.M., Boylan F., Estrada O., Fonseca-Bazzo Y.M., Jamal C.M., Magalhães P.O., Pereira E.O., Tomczyk M., Heinrich M., COVID-19: Is There Evidence for the Use of Herbal Medicines as Adjuvant Symptomatic Therapy?, *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11, s. 1-44.

- [24] Błęcha K., Wawer I., Profilaktyka zdrowotna i fitoterapia, Wydawca BONIMED, Żywiec 2019.
- [25] Kędzia B., Kostrzewski Z., Znaczenie ziołomiodów w leczeniu, Postępy Fitoterapii, 2010, 4, s. 229-235.
- [26] Ahmad A., Husain A., Mujeeb M., Khan S.A., Najmi A.K., Siddique N.A., Damanhoury Z.A., Anwar F., A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb, Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2013, 3(5), s. 337-352.
- [27] Ashraf S., Ashraf S., Ashraf M., Imran M.A., Kalsoom L., Siddiqui U.N., Farooq I., Habib Z., Ashraf S., Ghufuran M., Akram M.K., Majeed N., Abdin Z., Akmal R., Rafique S., Nawaz K., Yousa M.I.K.f, Ahmad S., Shahab M.S., Nadeem M.F., Azam M., Zheng H., Malik A., Ayyaz M., Mahmud T., Saboor Q.A., Ahmad A., Ashraf M., Izhar M., Zayed S., Hilal A., Muhammad A., Shaukat Z., Khaqan A., Hayat K., Arshad S., Hassan M., Awais A., Ahmad A., Mughal T., Virk A.R., Umer M., Suhail M., Zulfiqar S., Sarfraz S., Anwar M.I., Humayun A., Khokhar R.A., Siddique S., Honey and *Nigella sativa* against COVID-19 in Pakistan (HNS-COVID-PK): A multi-center placebo-controlled randomized clinical trial (preprint), <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.10.30.20217364v4> (stan na dzień 29.12.2021).
- [28] Oesch F., Oesch-Bartlomowicz B., Efferth T., Toxicity as prime selection criterion among SARS-active herbal medications, Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology, 2021, 85, s. 1-8.
- [29] Valussi M., Antonelli M., Donelli D., Firenzuoli F., Appropriate use of essential oils and their components in the management of upper respiratory tract symptoms in patients with COVID-19, Journal of Herbal Medicine, 2021, 28, s. 1-8.
- [30] Thirumdas R., Kothakota A., Pandiselvam R., Bahrami A., Barba F.J., Role of food nutrients and supplementation in fighting against viral infections and boosting immunity: A review, Trends in Food Science & Technology, 2021, 110, s. 66-77.
- [31] Grant W.B., Lahore H., McDonnell S.L., Baggerly C.A., French C.B., Aliano J.L., Bhattoa H.P., Evidence that Vitamin D Supplementation Could Reduce Risk of Influenza and COVID-19 Infections and Deaths, Nutrients, 2020, 12(988), s. 1-19.
- [32] Carr A.C., A new clinical trial to test high-dose vitamin C in patients with COVID-19, Critical Care, 2020, 24(1), s. 1-2.
- [33] Guillin O. M., Vindry C., Ohlmann T., Chavatte L., Selenium, Selenoproteins and Viral Infection, Nutrients, 2019, 11, s. 1-33.
- [34] Asadi-Pooya A.A., Akbari A., Emami A., Lotfi M., Rostamihosseinkhani M., Nemati H., Barzegar Z., Kabiri M., Zeraatpisheh Z., Farjoud-Kouhanjani M., Jafari A., Sasannia S., Ashrafi S., Nazeri M., Nasiri S., Shahisavandi M., Long COVID syndrome-associated brain fog, Journal of Medical Virology, 2021, 10, s. 428-436.
- [35] Saha P., Bose S., Srivastava A.K., Chaudhary A.A., Lall R., Prasad S., Jeopardy of COVID-19: Rechecking the Perks of Phytotherapeutic Interventions, Molecules, 2021, 26, s. 1-24.
- [36] Theoharides T.C., Stevart J.M., Hatzigelaki E., Kolaitis G., Brain "fog" inflammation and obesity: key aspects of neuropsychiatric disorders improved by luteolin, Frontiers in Neuroscience, 2015, 9(225), s. 1-11.
- [37] Kaczmarczyk-Sedlak I., Skotnicki Z., Leksykon naturalnych surowców leczniczych, Wydawnictwo „Zielone”, Kraków 2018.

- [38] Mishra L.C., Singh B.B., Dagenais S., Scientific Basis for the Therapeutic Use of *Withania somnifera* (Ashwagandha): A Review, *Alternative Medicine Review*, 2000, 5(4), s. 334-346.
- [39] Gupta M., Kaur G., *Withania somnifera* (L.) Dunal ameliorates neurodegeneration and cognitive impairments associated with systemic inflammation, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 19(1), s. 1-18.
- [40] Włodarczyk E., Poczucie bezpieczeństwa w obliczu epidemii Sars-Cov-2, praca przygotowana do druku.

Do cytowania:

Włodarczyk E., Zioła i suplementy diety post-COVID, czyli możliwości wspierania chorych i ozdowieńców, *Herbalism*, 2022, 1(8), s. 166-182.

Topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) źródło substancji prozdrowotnych

Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) is a source of health-promoting substances

Iwona Mystkowska¹, Krystyna Zarzecka², Angelika Dadej¹, Beata Kosińska¹, Agnieszka Ginter²

¹ Wydział Nauk o Zdrowiu, Zakład Dietetyki, Akademia Białska Nauk Stosowanych im. Jana Pawła II w Białej Podlaskiej, 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: inulina, prebiotyk, *Helianthus tuberosus*

Key words: inulin, prebiotic, *Helianthus tuberosus*

Streszczenie

Celem pracy był przegląd literatury naukowej dotyczącej substancji prozdrowotnych występujących w topinamburze, tj.: aminokwasy egzogenne, peptydy, białka, błonnik pokarmowy, oligosacharydy, polisacharydy, alkohole wielowodorotlenowe, witaminy, składniki mineralne, kwasy tłuszczowe, cholina i lecytyna oraz substancje fitochemiczne. Topinambur dzięki tym substancjom uważany jest za żywność funkcjonalną, której wartości odżywcze wywierają korzystny wpływ na wiele funkcji organizmu. Poza funkcją żywieniową wykazuje właściwości dietetyczne i prebiotyczne, polegające na poprawie stanu zdrowia i zmniejszeniu występowania wielu chorób. Uważany jest za środek przeczyszczający, żółciopędny, moczopędny, działający tonizująco na żołądek dzięki inulinie - prebiotykowi hamującemu rozwój patogennych bakterii w jelitach. Substancje prozdrowotne sprawiają, że *Helianthus tuberosus* polecany jest szczególnie osobom z owrzodzeniem żołądka i dwunastnicy oraz diabetkom.

Summary

The aim of the study was to review the scientific literature on health-promoting substances in topinambour such as: essential amino acids, peptides, proteins, dietary fiber, oligosaccharides, polysaccharides, polyhydric alcohols, vitamins, minerals, fatty acids, choline and lecithin, and phytochemicals. Thanks to these substances, Jerusalem artichoke is considered a functional food, the nutritional values of which

have a beneficial effect on many body functions. In addition to the nutritional function, it exhibits dietary and prebiotic properties, consisting in improving health and reducing the incidence of many diseases. It is considered a laxative, choleric, diuretic, tonic to the stomach thanks to inulin, a prebiotic inhibiting the growth of pathogenic bacteria in the intestines. Health-promoting substances make *Helianthus tuberosus* especially recommended for people with gastric and duodenal ulcers and for diabetics.

Wstęp

W ciągu ostatnich lat wzrosło zainteresowanie żywieniowców gatunkiem *Helianthus tuberosus* L. powszechnie w Polsce zwanym topinamburem. Z powodu obecności wielocukru inuliny i jej pochodnych fruktooligosacharydów, bulwy topinamburu stały się ważnym surowcem do produkcji żywności (funkcjonalnej) probiotycznej, o obniżonej wartości energetycznej i podniesionej zawartości błonnika. Fruktooligosacharydy jako rozpuszczalna frakcja błonnika pokarmowego, są korzystnym substratem pożądanej flory jelitowej, szczególnie bakterii probiotycznych: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* hamujących wzrost patogenów, takich jak: *Clostridium*, *Fusobacterium*, Gram-dodatnich paciorkowców. Bakterie te metabolizują fruktozę i fruktooligosacharydy do kwasów octowego i mlekowego w proporcji najbardziej korzystnej dla przewodu pokarmowego człowieka. W ten sposób utrzymują w jelicie grubym prawidłowe pH oraz odpowiednią liczbę bakterii właściwych dla okrężnicy, hamując rozwój bakterii gnilnych i patogennych [1, 2]. Ponadto żywność dietetyczna i probiotyczna z dodatkiem topinamburu zawiera równocześnie inne rozpuszczalne substancje prozdrowotne, w tym aminokwasy egzogenne, peptydy, białka, makro- i mikroelementy oraz witaminy.

Substancje prozdrowotne

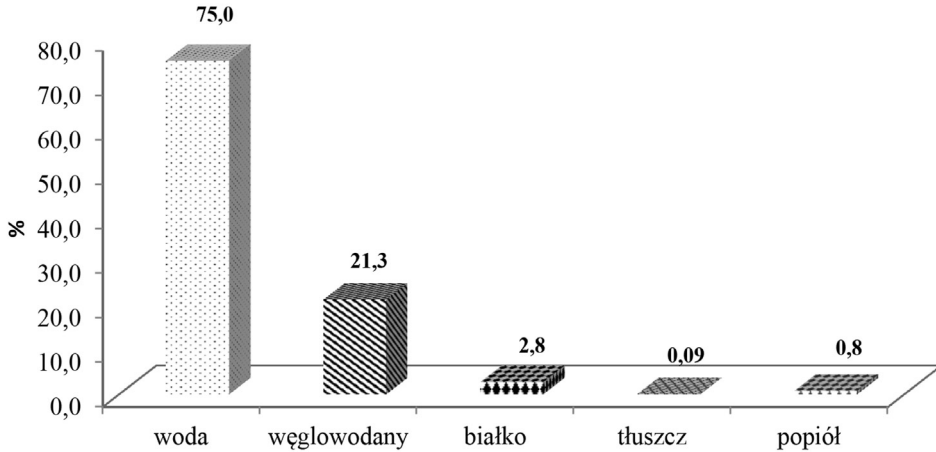
Bulwy *Helianthus tuberosus* składają się przede wszystkim z wody od 75 do 85% i suchej masy od 15 do 25% w 100 g świeżych bulw. Sucha masa może się zwiększać w zależności od późniejszego terminu zbioru. Składnikami suchej masy przedstawionymi na Rysunku 1 są: węglowodany, których zawartość wynosi 21,3%, białko 2,8%, tłuszcz 0,09% i 0,8% popiół [1]. Głównym składnikiem suchej masy są węglowodany, a największą jej część ok. 72% stanowi inulina - polisacharyd zapasowy bulwy. Obecność tego związku stwierdzono również we wszystkich częściach nadziemnych rośliny [1]. Inulina to biologiczny nierozgałęziony polisacharyd o 30-35 jednostkach cukrowych połączonych wiązaniami β (2 \rightarrow 1) glikozydowymi, należący do grupy fruktanów rozpuszczalnych w wodzie [2, 3, 4]. Inulina uznawana jest za

cenny prebiotyku hamujący rozwój patogennych bakterii w jelitach i wspomagających funkcjonowanie bakterii probiotycznych zdolnych do enzymatycznej hydrolizy wiązania β (2 \rightarrow 1) glikozydowego [5]. Inulina nie jest trawiona w przewodzie pokarmowym człowieka, zanim nie zostanie odpowiednio przetworzona ze względu na brak enzymu inulazy [1]. Indianie z Ameryki Północnej skąd pochodził i był uprawiany słonecznik bulwiasty radzili sobie w ten sposób, że poddawali bulwy fermentacji w kopcach, podczas której inulina ulegała rozkładowi na przyswajalne cukry. Dzięki obecności inuliny bulwy dobrze znoszą niskie temperatury oraz mrozy nawet do -30°C i są w stanie przetrwać w glebie. W czasie przetwarzania inulina ulega przemianie do fruktozy. Bakterie probiotyczne metabolizują fruktozę i fruktooligosacharydy do kwasów octowego i mlekowego w proporcji (3:2) najbardziej korzystnej dla przewodu pokarmowego człowieka utrzymując właściwe pH w jelicie grubym. Inulina, w połączeniu z pektynami i błonnikiem, oczyszcza organizm i bierze udział w detoksykacji organizmu. Błonnik inulinowy może wchłoniąć znaczną ilość glukozy zawartej w pożywieniu i zapobiegać jej wchłanianiu do krwi, co pomaga obniżyć poziom cukru we krwi. Jest nieocenionym sprzymierzeńcem w odchudzaniu. Działając jako prebiotyk, korzystnie wpływa na stan skóry oraz włosów, podnosi odporność organizmu, a także działa antystresowo. Obniża również poziom „złego” cholesterolu i reguluje ciśnienie tętnicze. Wysoka zawartość inuliny w bulwach pozwala na wykorzystanie topinamburu jako surowca źródłowego do żywności dla diabetyków: mąki, soku, syropu, wyrobów cukierniczych i piekarniczych [6]. Inulina jest składnikiem pomocniczym do produkcji maści np. na opryszczkę a także maści na szybsze gojenie się ran. Inulina lub produkty powstałe na jej bazie stymulują wzrost pożytecznych bakterii jelitowych i pobudzają perystaltykę jelit dzięki czemu pomagają pozbyć się zaparć. Ponadto działa jako immunostymulator osłonowo na wątrobę i zapobiega zakażeniom dróg moczowych [7].

Słonecznik bulwiasty w zależności od odmiany i dojrzałości bulw zawiera różne ilości glukozy, sacharozy i maltozy. Obok węglowodanów rozpuszczalnych w bulwach topinamburu znajduje się również nierozpuszczalna frakcja błonnika pokarmowego składająca się głównie z celulozy i ligniny, a także związków pektynowych i hemicelulozy.

W uprawie topinamburu jednym z ważniejszych parametrów dla konsumenta i przetwórcy jest zawartość białka 0,8-3,3%, które odznacza się wysoką wartością odżywczą, gdyż jest bogate w aminokwasy egzogenne, takie jak: arginina, walina, histydyna, izoleucyna, leucyna, lizyna, metionina, treonina, tryptofan, fenyloalanina [8], których organizm ludzki nie syntetyzuje samodzielnie. Białka odgrywają ważną rolę w metabolizmie, są materiałem zapasowym tkanek, enzymów i hormonów. W częściach naziemnych zawartość białka dochodzi do 3,6% i jest go najwięcej pod koniec wegetacji [9, 10]. Słonecznik bulwiasty uznawany jest za żywność

bezglutenową, o doskonałej jakości białka, dającą szereg możliwości jego wykorzystania. Główne korzyści z zastosowania białka to: brak alergenów, lepsza tekstura, lepsze odżywianie.

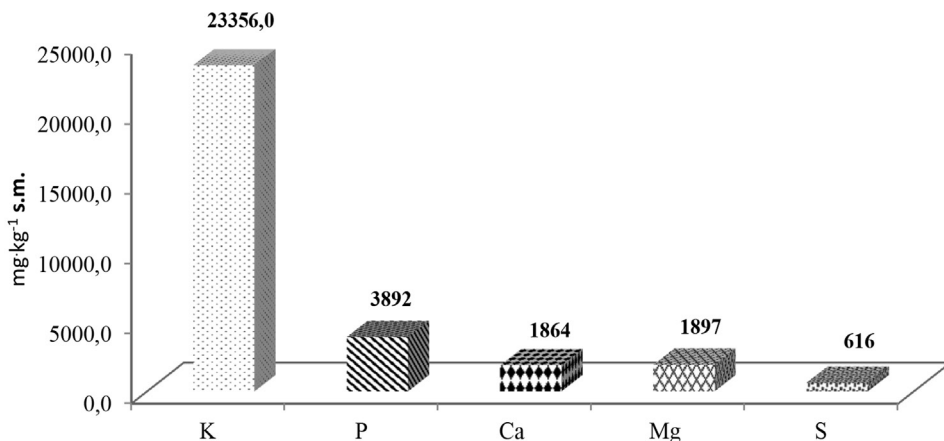


Rysunek 1. Skład chemiczny topinamburu.

Figure 1. The chemical composition of Jerusalem artichoke.

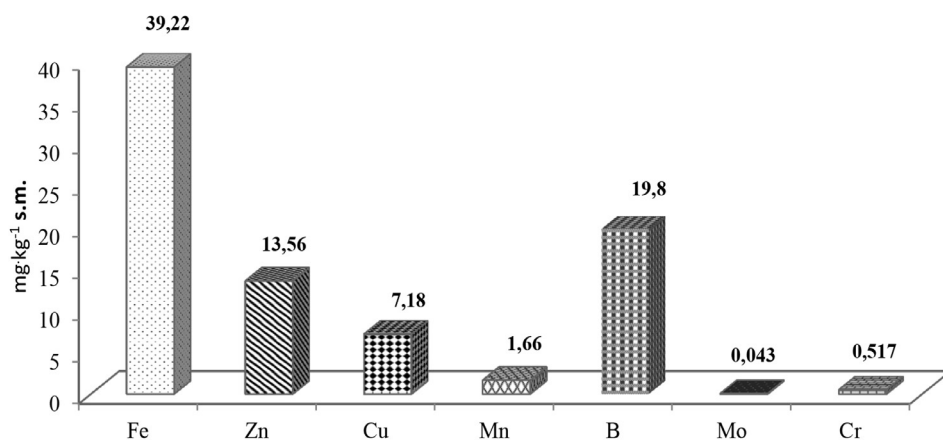
Bulwy *H. tuberosus* oprócz podstawowych składników odżywczych (białko, cukry), zawierają w suchej masie 3,4-8,4% związków mineralnych, występujących w formie makroelementów i mikroelementów. Jedną z ważnych cech topinamburu jest jego zrównoważony skład makro- i mikroelementowy. Makroelementy, takie jak: potas, fosfor, wapń, magnez i siarka to składniki pobierane przez rośliny w stosunkowo dużych ilościach, w różnych stadiach rozwoju. Potas występuje w najwyższych stężeniach ($23356 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ s.m.}$), a następnie fosfor ($3892 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ s.m.}$) są one składnikami odżywczymi niezbędnymi do zwiększenia plonu słonecznika bulwiastego (Rysunek 2) [2, 4]. Fosfor bierze udział we wszystkich procesach życiowych zachodzących w roślinie, jest on niezbędny do prawidłowego przebiegu fotosyntezy, oddychania, przemiany materii, powstawania białek i substancji zapasowych. Jego niedobór powoduje poważne zakłócenia w podstawowych funkcjach życiowych roślin, czego wynikiem jest osłabienie rozwoju i funkcjonowania poszczególnych organów, a zwłaszcza systemu korzeniowego. Rośliny dobrze odżywione fosforem są wytrzymałe na stres, mniej podatne na choroby, lepiej plonują, tolerują niskie temperatury, wykazują większą tolerancję na niedobory wody i niski odczyn gleby [11, 12]. Potas ze względu na swoje funkcje w metabolizmie roślin ma wpływ na jakość plonu, bierze udział we wzroście komórek merystematycznych poprzez regulację osmotyczną. Pierwiastki te pełnią w roślinie głównie funkcje budulcowe

i fizjologiczne, jak również decydują o wartości dietetycznej. Ponadto w bulwach są mikroelementy, do których zaliczymy: żelazo – 39,22 mg·100 g⁻¹; cynk – 13,56 mg·100 g⁻¹; miedź – 7,18 mg·100 g⁻¹, mangan, bor, molibden i chrom przedstawione na Rysunku 3 [2, 4, 12].



Rysunek 2. Zawartość makroelementów w topinamburze (mg·kg⁻¹ s.m.).

Figure 2. Macro Elements content in Jerusalem artichoke (mg·kg⁻¹ DM).



Rysunek 3. Zawartość mikroelementów w topinamburze (mg·kg⁻¹ s.m.).

Figure 3. Micro Elements content in Jerusalem artichoke (mg·kg⁻¹ DM).

Ponadto bulwy słonecznika bulwiastego zawierają witaminy z grupy B (tiaminę, ryboflawinę, niacynę, biotynę) oraz witaminę C i karoten [13, 14]. Według USDA i Rodriguesa [4, 15] zawartość kwasu askorbinowego waha się w granicach

7,6-10,8 mg \cdot 100 g⁻¹ świeżej masy, a w bulwach wykopanych późną jesienią zawartości witamin wzrasta nawet dwukrotnie [15, 16]. Dużo witamin występuje w części nadziemnej słonecznika bulwiastego, szczególnie w młodych liściach.

Kolejną grupę związków stanowią lipidy. Występują w bulwach i w częściach nadziemnych słonecznika bulwiastego [17]. Według USDA [4] ich zawartość w bulwach wynosi 0,01 g w 100 g świeżej masy bulw. Wyodrębnione, związane lipidy występują w formie neutralnej jako glikolipidy i fosfolipidy. Glikolipidów najwięcej jest w bulwach (43,1%), a najmniej w łodygach (35,2%), natomiast najwięcej fosfolipidów występuje w liściach – 11% [18].

W bulwach *H. tuberosus* znajduje się wysoki poziom związków fenolowych. Zawartość w bulwach wynosiła średnio 221,0 mg \cdot 100 g⁻¹. Więcej tego składnika odnotowano w bulwach zbieranych wiosną. Wzrost poziomu związków fenolowych prawdopodobnie był wywołany niską temperaturą przechowywania. Związki te są ważnym składnikiem ze względu na właściwości przeciwutleniające, przeciwmiażdżycowe, przeciwbakteryjne i obniżające cholesterol [12]. Topinambur uważany jest również za naturalny antybiotyk, zawierający bogaty zestaw fizjologicznie aktywnych związków. Należy jednak pamiętać, że podstawowy skład chemiczny bulw topinamburu zależy od kilku czynników, tj. odmiany, warunków uprawy czy terminu zbioru [12, 19]. Bulwy topinamburu w swoim składzie nie mają tłuszczu ani cholesterolu [20].

Z bulw słonecznika bulwiastego pozyskiwany jest także sok. Może być stosowany w leczeniu hemoroidów, zapaleniu spojówek, powiek i skóry oraz w leczeniu łuszczycy, oparzeń i owrzodzeń [21]. Części nadziemne topinamburu, ze względu na bogaty skład wielocukrów, kwasów organicznych, białek i witamin stanowią surowiec zielarski i herbaciany [22, 23]. Wyciąg z kwiatów topinamburu wpływa rozkurczowo na mięśnie gładkie, działa moczopędnie, przeciwgorączkowo, napotnie i oczyszczająco [24]. Kolor bulw *H. tuberosus* zależy od warunków klimatycznych i może być jasnobrązowy, czerwony lub fioletowy [25]. Wprowadzając topinambur do codziennej diety, możemy nie tylko dobrze się poczuć, ale również znacznie poprawić wygląd skóry.

Podsumowanie

Specjaliści do spraw żywienia i dietetycy zalecają spożywać jak najwięcej słonecznika bulwiastego ze względu na zawarte w nim cenne właściwości odżywcze i lecznicze. Niedoceniana w Polsce roślina zaczyna powoli zdobywać coraz większe grono zainteresowanych jej niezwykłymi właściwościami oraz bogatym składem chemicznym. Do substancji prozdrowotnych zawartych w bulwach zaliczyć można: inulinę, błonnik pokarmowy, fruktany, aminokwasy, białka, peptydy, lecytynę i cholinę,

substancje fitochemiczne, a także wspomniane wcześniej witaminy i składniki mineralne. Biorąc pod uwagę właściwości prozdrowotne słonecznika bulwiastego należy spożywać go w ramach codziennej diety.

Literatura

- [1] Puyanda I. R., Uriyapongson S., Uriyapongson J., Influence of drying method on qualities of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tuber harvested in Northeastern Thailand, Songklanakarin Journal of Science & Technology, 2020, 42(6), s. 1279-1285.
- [2] Danilčenko H., Jariene E., Gajewski M., Sawicka B., Kulaitien J., Cerniauskiene J., Aleknaviciene P., Changes in amino acids content in tubers of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) Cultivars during storage, Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus, 2013, 12(2), s. 97-105.
- [3] Žaldarienė S., Chemical composition of different genotypes of organic jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) along the ontogenesis cycle. Doctoral Thesis at Aleksandras Stulginskis University, Akademija, 2017, s. 178.
- [4] USDA, United States Department of Agriculture Agricultural Research Service Food Composition Databases (2018), <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/> (dostęp 05.02.2022).
- [5] Chyc M., Ogonowski J., Słonecznik bulwiasty źródłem cennych surowców dla przemysłu, szczególnie spożywczego, kosmetycznego i farmaceutycznego, Wiadomości Chemiczne, 2014, 7-8(65), s. 719-732.
- [6] Kaszás L., Alshaal T., El-Ramady H., Kovács Z., Koroknai J., Elhawat N., Nagy É., Cziráky Z., Fári, M., Domokos-Szabolcsy É., Identification of bioactive phytochemicals in leaf protein concentrate of jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.), Plants, 2020, 9(7), s. 1-17.
- [7] Wang S.J., Meng Y.Y., Sun S.Q., Research advances of Jerusalem artichoke, Shandong Science, 2011, 24(6), s. 62-67.
- [8] Pavlova V., Functional foods based on Jerusalem artichoke, Journal of Food and Packaging Science, Technique and Technologies, 2014, 3, s. 59-63.
- [9] Sawicka B., Jakość bulw *Helianthus tuberosus* L. w warunkach stosowania herbicydów, Annales UMCS Sec. E, 2004, 59(3) s. 1245-1257.
- [10] Zarzecka K., Gugała M., Mystkowska I., Sikorska A., Grzywacz K., Słonecznik bulwiasty (*Helianthus tuberosus* L.) w środowisku rolniczym i leśnym [w:] Produkcyjne, techniczne i żywnościowe problemy współczesnego rolnictwa, red. Kocira A., Stamirowska-Krzaczek E. PWSZ Chełm, 2019, s. 3-15.
- [11] Fotyma M., Testy glebowe potasu łatwo dostępnego dla roślin, Nawozy i Nawożenie, 2011, 44, s. 6-16.
- [12] Florkiewicz A., Cieślik E., Filipiak-Florkiewicz A., Wpływ odmiany i terminu zbioru na skład chemiczny bulw topinamburu (*Helianthus tuberosus* L.), Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2007, 3(52), s. 72.
- [13] Cieślik E., Zawartość składników mineralnych w bulwach nowych odmian topinamburu (*Helianthus tuberosus* L.), Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej w Krakowie, 1998, 342(10), s. 23-30.

- [14] Lamer-Zarawska E., Kowal-Gierczak B., Niedworok J., Fitoterapia i leki roślinne, Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa, 2007, s. 215.
- [15] Rodrigues M.A., Sousa L., Cabanas J.E., Arrobas M., Tuber yield and leaf mineral composition of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) grown under different cropping practices, Spanish Journal of Agricultural Research, 2007, 5(4), s. 545-553.
- [16] Chojnacka R., Topinambur na talerzu, Poradnik rolnika. Agrotechnika, 2012, 3, s. 96.
- [17] Yildiz G., Sacakli P., Gungor T., The effect of dietary Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) on performance, egg quality characteristics and egg cholesterol content in laying hens, Czech Journal of Animal Science, 2006, 51(8), s. 349-354.
- [18] Talipova M., *Lipids of Helianthus tuberosus*, Chemistry of Natural Compounds, 2001, 37, s. 213.
- [19] Danilčenko H., Jarienè, E., Slepitiene, A., Sawicka B., Zaldariene S., The distribution of bioactive compounds in the tubers of organically grown Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) during the growing period, Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus, 2017, 16(3), s. 97-107.
- [20] Lenart-Abramek E., Właściwości lecznicze topinamburu, Porady na zdrowie, 2015, 33, s. 23.
- [21] Sawicka B., Skiba D., Kotiuk E., Wielokierunkowe wykorzystanie surowców ze słonecznika bulwiastego (*Helianthus tuberosus* L.) [w:] Współczesne dylematy polskiego rolnictwa, (red.) Zarzecka K., Kondracki S., Skrzyczyńska J., Wyd. PSW JPPII, Biała Podlaska, 2012, s. 332-339.
- [22] Yang L., He Q.S., Corscadden K., Udenigw C.C., The prospects of Jerusalem artichoke in functional food ingredients and bioenergy production, Biotechnology Reports, 2015, 5, s. 77-88. [23] Horochowska M., Kołeczek E., Zdrojewicz Z., Jagiełło J., Pawluc K., Topinambur – właściwości odżywcze i lecznicze słonecznika bulwiastego (*Helianthus tuberosus* L.), Pediatric Endocrinology Diabetes and Metabolism, 2017, 23(1), s. 30-36.
- [24] Yaroshevich M.I., Gil T., Savic I.M., Study, justification and development of major agrotechnical methods topinambur growing in Belarus, Proceedings of the International Conference on Jerusalem artichoke, Moskva 2011, 24-25.11, s. 24-27.
- [25] Gupta D., Chaturvedi N., Prebiotic Potential of underutilized Jerusalem artichoke in Human Health: A Comprehensive Review, International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology, 2020, 5(1), s. 97-103.

Do cytowania:

Mystkowska I., Zarzecka K., Dadej A., Kosińska B., Ginter A., Topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) źródło substancji prozdrowotnych, Herbalism, 2022, 1(8), s. 183-190.

Między świątynią a laboratorium – pisma ksieni Hildegardy z Bingen we współczesnej fitoterapii

Between a temple and a laboratory – the writings of abbess Hildegard from Bingen in modern phytotherapy

Sebastian Fröhlich

Student kierunku Zielarstwo, Karpacka Państwa Uczelnia w Krośnie, Rynek 1,
38-400 Krosno, adres e-mail: 26639@student.kpu.krosno.pl

Słowa kluczowe: Hildegarda z Bingen, współczesna fitoterapia, historia zielarstwa

Key words: Hildegard from Bingen, modern phytotherapy, history of herbal medicine

Streszczenie

Popularność „medycyny Hildegardy” w Polsce zauważalna jest od lat i przyczynia się zarówno do powstawania rodzimych poradników, jak i tłumaczenia zagranicznych tekstów o metodach leczenia, przepisach na ziołowe mieszanki czy dietach, które miała stosować u swoich pacjentów uznana za świętą germańska benedyktynka. Wraz z – często bezkrytyczną – afirmacją zasad przedstawianych jako pochodzących od Hildegardy z Bingen pojawiają się również głosy nieprzychylnie, tak samym opracowaniom, jak również *Causae et curae* czy *Physica*, których zarzuty nie są bezzasadne. Niniejsza praca jest próbą odpowiedzi na te dwa skrajne stanowiska oraz znalezienia płaszczyzn, na których możliwe jest zastosowanie zaleceń oraz myśli pism hildegardiańskich w kontekście fitoterapii, ale również problemów związanych ze zmianami zachodzącymi w wysokorozwiniętych społeczeństwach.

Summary

The popularity of „Hildegard’s medicine” in Poland has been noticeable for years and contributes both to the creation of native guides and the translation of foreign texts on treatment methods, recipes for herbal mixtures or diets that were to be used in her patients by the saintly Germanic Benedictine. Along with the often uncritical affirmation of the principles presented as coming from Hildegard of Bingen, there are also voices against the same studies as well as *Causae et curae* or *Physica*, the accusations of which are not unfounded. This article is an attempt to answer these two extreme positions and to find areas on which it is possible to apply the recommendations and thoughts of Hildegardian scriptures in the context of phytotherapy, but also problems related to changes taking place in highly developed societies.

„*Księgi Hildegardy, ksieni z Bingen, o źródłach i leczeniu chorób dawniej przechowywane w klasztorze Świętego Maksymiliana z Trewiru, na początku XIX wieku umieszczone w zbiorach Georga Klossa z Frankfurtu, teraz złożone w Bibliotece Królewskiej w Kopenhadze, Carl Jessen ocalił od zapomnienia w Acta Acad[emiae] Vindob[onensis] 45,1. 1862. Str.97-116, [...] – teraz [ja] niosę ku światłu [jako] wierny owoc pracy*” (tł. własne) [1]. Te dość poetyckie słowa należą do Paula Kaisera, który w ramach przedmowy do swojego opracowania średniowiecznego manuskryptu streszcza losy kodeksu zawierającego tekst *Causae et curae* (C+C). W zbliżonym okresie powstały prace nad tekstami Hildegardy, autorzy to Jacques Paul Migne [2] oraz Jean Baptiste François kard. Pitra [3]. Obaj, jako duchowni rzymskokatoliccy, skupiali się na kwestiach teologiczno-filozoficznych, co jest bez wątpienia cenne – Hildegarda była nade wszystko mniszka benedyktyńska i większość pozostawionych przez nią pism dotyczyła właśnie spraw teologicznych, a część pojęć czy wątków pojawia się również w jej pismach medyczno-przyrodniczych. W cytowanym fragmencie P. Kaiser wspomina Carla Jessena jako tego, który tekst Hildegardy „ocalił od zapomnienia”. Mowa o artykule autorstwa dr. Jessena, w którym relacjonuje odkrycie nieznanego dotychczas manuskryptu oraz omawia dowody, że jest on starszy niż dotychczas znany Manuskrypt Paryski, przy okazji zwracając uwagę na odrzucanie roli Hildegardy w kształtowaniu się medycyny na terenach germańskich przez współczesnych mu badaczy oraz ignorowanie możliwości wykorzystania jej tekstów w różnych dziedzinach nauki, jak na przykład lingwistyka czy historia. Znamienne jest zdanie, które można sparafrazować jako „wszyscy odrzucają, ale nikt nie zbadał” [4]. Sam Jessen zaznacza, że w jego czasach dostępne były dwie wersje C+C – jedna wydana w 1533 roku, kolejna w 1544 roku, lecz obie opierały się na tym samym źródle z XV wieku. Jednak, przebywając za granicą, przypadkiem trafił na manuskrypt z XIII wieku będący wówczas własnością Biblioteki Królewskiej w Kopenhadze. Odnalezienie tego średniowiecznego kodeksu zaowocowało pracą P. Kaisera wydaną początkiem XX wieku. Choć obecnie opracowanie sporządzone przez Kaisera jest krytykowane, to stanowi podstawę niemal wszystkich dotychczasowych tłumaczeń C+C z łaciny na języki nowożytnie (niektóre najnowsze opierają się na wydaniu krytycznym przygotowanym przez Siostry Benedyktynki z opactwa w Eibingen, a więc kontynuatorki fundacji św. Hildegardy).

Obserwacja zapisana przez doktora Jessena jest interesująca z dwóch powodów. Jego artykuł wydano w 1862 roku, natomiast początki XIX wieku na terenach niemieckich odznaczały się nowym, pozytywniejszym spojrzeniem na epokę średniowiecza [5]. Ten dysonans mógł być spowodowany faktem, że Hildegarda, jako mniszka, święta Kościoła rzymskokatolickiego (choć jej status wyjaśnił się ostatecznie dopiero w 2012 roku), a nade wszystko mistyczka, mogła nadal być problematyczna w kontekście uznania jej dzieł i wpływu. Dodatkową kwestią będzie

wchodząca w drugiej połowie XIX wieku filozofia pozytywistyczna – pewne oddziaływanie nowych nurtów pokazuje, że zarówno J.B. Pitra jak i J.P. Migne byli duchownymi katolickimi, natomiast P. Kaiser był pastorem luterańskim. Mimo to Hildegarda z Bingen pojawia się przez następne dziesięciolecia w mniej lub bardziej naukowych kontekstach.

Drugi powód, dla którego zwróciłem uwagę na słowa C. Jessena jest bardziej współczesny. „Medycyna Hildegardy” zyskiwała na popularności w parze z powracaniem do medycyny ludowej, ziołarstwa czy innych form niekonwencjonalnego leczenia. Wkraczanie fitoterapii i jej przedstawicieli w przestrzeń badań naukowych, uniwersytetów czy instytucji badawczych niewątpliwie jest dużym osiągnięciem, które jest szansą tak dla środowiska naukowego, jak i ziołolecznictwa. Jednak mniej lub bardziej świadomie ignorowano kwestie pseudonaukowych lub antynaukowych predyspozycji części osób, które zawodowo lub hobbystycznie zaczęły zajmować się szeroko rozumianą medycyną alternatywną. Jednym z efektów takiego stanu rzeczy jest nieprzebrana ilość poradników, warsztatów lub innych form przedstawianych jako uczących „medycyny Hildegardy” – nieraz przedstawianej jako jedynie słusznej lub jako rodzaj panaceum. Część publikacji wręcz próbuje uczynić z Hildegardy „medycyną boską wyrocznię”, której należy słuchać, nie kwestionować, a tym bardziej nie konfrontować z obecnymi badaniami czy ustaleniami naukowymi [6]. Reakcją na tego typu dogmatyczne traktowanie pism medyczno-przyrodniczych średniowiecznej benedyktyнки było powiększające się grono bagatelizujące lub wprost odrzucające owe teksty jako bezwartościowe dla teraźniejszości, nie mające żadnego znaczenia dla współczesnej fitoterapii.

Zasadniczo trudno ocenić, które ze stanowisk ma więcej przedstawicieli, ponieważ pomiędzy stronnictwami mamy jeszcze grupę, która bazuje na Hildegardzie z powodów marketingowo-ekonomicznych, często przeinaczając lub upraszczając pewne kwestie (np. umieszczanie surowców amerykańskich lub stosowanie współczesnej terminologii medyczno-farmaceutycznej). W następnych częściach artykułu omówione zostaną aspekty poruszane w ramach wymienionych stanowisk oraz możliwości zaimplementowania wskazań i filozofii leczenia do współczesnej fitoterapii.

I. Niepewne pochodzenie i przestarzałość pism hildegardiańskich

Kwestionowanie autorstwa jest jednym z najczęściej podnoszonych zarzutów względem tekstów Hildegardy z Bingen. O ile nie dotyczy on tekstów teologiczno-filozoficznych (które stanowią większość dziedzictwa po ksieni klasztoru w Rupertsbergu oraz były trzonem jej działalności), o tyle w przypadku pism medyczno-przyrod-

nicznych niewątpliwie problem w jednoznacznym stwierdzeniu autorstwa pozostaje – jak na obecny stan nauki – w impasie. Faktem jest, że wcześniej wspomniany najstarszy istniejący manuskrypt, jeśli przyjmiemy ścisły początek XIII wieku, powstał około 20 lat po śmierci Hildegardy, wtedy jeszcze obłożonym ekskomuniką, Rupertsbergu (1179) [7], jednak mógł również powstać nawet 100 lat po tym wydarzeniu. W pierwszym przypadku może należeć do bezpośrednich odpisów od oryginalnego kodeksu lub być jednym z pierwszych zebrań mniejszych fragmentów (np. notatek) tak pozostawionych przez zmarłą księżkę, jak i siostry lub nowicjuszki uczące się pod jej opieką. Niewątpliwie Hildegarda była znana w swoich czasach zarówno z wizji oraz działań publicznych (mocno zahaczających o ówczesną politykę), ale również jako utalentowana zielarka, a nawet cudotwórczyni [8]. W takim przypadku nie byłoby dziwne ewentualne zebranie i spisanie w jeden kodeks wszystkiego, co zawierało medyczną wiedzę na tyle szanowanej osoby. Dodatkową kwestią jest to, że manuskrypt posiada wpis nad tekstem, że jest to kodeks klasztoru św. Maksymiliana – sposób zapisu oraz jego styl wskazywałyby na to, że został umieszczony jednocześnie ze sporządzeniem manuskryptu (na tej samej stronie jest on powtórzony, jednak jest raczej późniejszym dodatkiem, możliwe, że G. Kloss oznaczył pochodzenie danej księgi). Tym samym jest prawdopodobne, że całość powstała intencjonalnie dla innego klasztoru, ponieważ wspomniany monastyr mieścił się ponad 100 km od Bingen i też należał do zakonu św. Benedykta, a benedyktyńskie wspólnoty często wymieniały się roślinami oraz informacjami. Oczywiście, jeśli księga powstała z końcem XIII wieku zwiększa się prawdopodobieństwo, że kopenhaski manuskrypt jest stosunkowo późną kompilacją lub kopią. Jedna i druga opcja dają wysokie prawdopodobieństwo, że dzieło jest raczej „dziedzictwem” Hildegardy w znaczeniu pracy kontynuaterek jej badań i doświadczeń. Jednak nadal nie wykluczają w pełni autorstwa samej Hildegardy, gdzie mamy do czynienia po prostu z kopiami jej dzieła, które w wyniku wojen nie dotrwało do naszych czasów (w XVII wieku siostry opuszczają Rupertsberg a klasztor zostaje zniszczony).

Co ważniejsze, kodeks musiał powstać w tym samym środowisku co *Physica* czy pisma teologiczno-filozoficzne Hildegardy, w dodatku w niewielkim przedziale czasowym. Występująca spójność językowa, merytoryczna, używanie tych samych neologizmów oraz pokrywająca się warstwa filozoficzna, która była dość oryginalna w tamtych czasach [9] nie pozostawiają wiele miejsca na inny wniosek. Natomiast przypisanie jego zawartości świętej z Bingen też nie jest bez znaczenia – nie można tego uznać za kaprys lub formę „pseudonimu operacyjnego” grupy mniszek. Imię Hildegardy musiało być kojarzone z pracami medycznymi lub przyrodniczymi, a tym samym z jakąś formą jej działalności, a samo to wskazuje, że ten temat był przez nią poruszany. Jednak, nawet jeśli uznamy za pewne, że C+C nie jest bezpośrednim dziełem Hildegardy, nie zmienia to faktu, że pochodząc z jej

środowiska, od jej uczennic, musi zawierać sporą część tego, co sama przekazała swoim następczyniom, a przynajmniej w warstwie filozofii leczenia zgadzać się z jej poglądami. Dlatego, na płaszczyźnie ziołolecznictwa oraz etyki fitoterapii, mierzenie, ile Hildegardy jest w pismach Hildegardy jest zasadniczo bezowocne – ma natomiast znaczenie w innych naukach. Pewnym wyjściem z sytuacji, w której nie ma ostatecznego rozstrzygnięcia, co do hipotez na temat autorstwa pism medyczno-przyrodniczych, jest mówienie o nurcie czy szkole hildegardiańskiej jako pojęciu szerszym, obejmującym tak samą Hildegardę, jak i ewentualne kontynuatorki jej dzieła. W takim podejściu nie ma wskazanego personalnego autorstwa. Jednak to rozwiązanie jest w pewnej sprzeczności z samą Hildegardą, która nie przedstawia w żadnym z pism (nawet w tych wątpliwych) chęci wyodrębnienia się z ówczesnej medycyny czy tworzenia bardziej lub mniej sformalizowanych instytucji edukacyjno-naukowych czy też medycznych [9].

W ramach argumentów za pozostawieniem pism medyczno-przyrodniczych ksieni Rupertsbergu na półkach z manuskryptami pojawia się stosunkowo często opinia, że są one przestarzałe czy receptury lub sposoby leczenia w niej zawarte są bezwartościowe dla współczesnego systemu leczenia. Nie można zanegować faktu, że wiele spośród surowców wymienionych w ramach C+C oraz *Physica* obecnie nie ma zastosowania w fitoterapii – trzeba przy tym pamiętać, że Hildegarda omawia również minerały, kamienie czy produkty odzwierzęce [10], których nie da się w sposób spójny włączyć do ziołolecznictwa. Mimo to nie można powiedzieć, że żaden z surowców nie jest obecnie stosowany lub nie ma go w Farmakopei (Polskiej lub np. Niemieckiej). Przykładem może być żywica benzoesowa (łac. *Styrax*, dawniej żywica bendzinowa), która po 1954 roku (Farmakopea Polska III) nie posiadała u nas swojej monografii, jednak w obecnie nas obowiązującej Farmakopei Polskiej XII posiada już dwie – rozdziela się ze względu na skład: żywicę benzoesową (pozyskiwaną z *Styrax tonkinensis*) oraz żywicę benzoesową sumatrzańską (z *Styrax benzoin*). Dodajmy, że o ile w Polsce nie jest ona składnikiem leków, o tyle w Anglii czy Francji jest znanym składnikiem tabletek do ssania czy kremów dermatologicznych. Poza lecnictwem jest również obecna w kosmetykach oraz produktach do aromaterapii [11].

II. „Sam Bóg objawił to Hildegardzie”

Drugie podejście do pism medyczno-przyrodniczych Hildegardy z Bingen jest konglomeratem medycyny, zielarstwa oraz teologii z filozofią. Traktuje ono słowa zapisane na kartach średniowiecznych kodeksów jako coś nieomyślnego, jednocześnie wielokrotnie podkreślając, że Hildegarda była mistyczką, implikując tym samym, że wszystko, co zostało zapisane w C+C oraz *Physica* było podyktowane przez Boga

i jest wyrazem Jego wszechwiedzy [6]. Kwestia powoływania się konkretnie na katolicyzm czy szerzej chrześcijaństwo nie jest obowiązkowa w tych tekstach, choć zazwyczaj zahacza o jakieś formy teistyczne. Opracowania tego typu, przeciwstawiając sobie tezy z zakresu dietetyki, psychologii lub medycyny względem fragmentów wyciągniętych z C+C lub *Physica*, dewaluuja te pierwsze, natomiast nadają autorytatywny charakter słowom średniowiecznych pism. Niewątpliwie wpisują się one w nurt myślenia powstały przy zderzeniu się medycyny i ziołolecznictwa, a odżywiający odkąd szeroko rozumiana „medycyna alternatywna” zaczęła się kojarzyć z czymś całkowicie bezpiecznym, pewnym i „naturalnym”. Choć nie jest on w swojej mitologizacji jednolity (część będzie odnosić się do „Natury”, część do jakichś istot wyższych, część do energii wszechświata etc.), jego typy wiążą się zawsze z apriorycznym uznaniem pewnych autorytetów z innej płaszczyzny niż naukowa, właśnie na płaszczyźnie nauki czy badań naukowych.

Co do zasady światopogląd czy wiara nie są „problemem” dla naukowca czy samej nauki (w tym przypadku nauk ścisłych) – są to płaszczyzny, które równolegle przebiegając, nie powodują kolizji. W przypadku omawianego stronnictwa czyta się opracowania, które próbują siłowo porównać lub uszeregować wartość twierdzeń, ale na poparte badaniami argumenty lub tezy mają jedynie słowa „lecz Hildegarda napisała tak, a ona ma wiedzę od Boga, więc mylić się nie mogła”. Przyznać należy, że gdy ma się w rękach tego typu teksty na temat „medycyny Hildegardy” czytelnik czuje się jak w obliczu tekstów związanych z jakimś fanatyzmem. Trudno jest określić, czy to zespolenie leczniczo-religijne związane jest z pomieszaniem płaszczyzn, gdzie jedna przykrywa drugą, czy też jest to rodzaj wybiegu z pogranicza marketingu i psychologii, mającego ułatwić zbywanie wszelkiej krytyki – krytyczne słowo względem pism jest równoznaczne z negowaniem mistycyzmu Hildegardy lub nawet dobroci, wszechwiedzy czy istnienia Boga. Znamienne jest w tym, że twierdzenia autorów nie potrzebują żadnej argumentacji, utwierdzenia w rzeczywistości, natomiast nawet najlepiej uargumentowana i przebadana teza naukowa w zderzeniu z „wiedzą Hildegardy” przegrywa jako mniej wartościowa, ponieważ ta druga nie jest z tego świata.

Pozostaje pominąć w tym momencie szkodę jaką wyrządza się takim podejściem Hildegardzie i jej pismom. Przede wszystkim jest to podejście niebezpieczne – nie tylko ze względów na antynaukowe treści – które uniemożliwia rozwój wiedzy choćby względem samych pism czy Hildegardy. Dodatkowo bezkrytycznie polega on na tekście, który jest trudny i niejednoznaczny do przetłumaczenia – wielokrotnie niemożliwe jest stwierdzenie, co dokładnie (jaką roślinę lub inny surowiec) miała na myśli autorka pod daną nazwą, tym samym nie jest możliwe zastosowanie tego tekstu 1:1. Część roślin, które jesteśmy w stanie zidentyfikować, aktualnie wycofuje się ze stosowania, ponieważ posiada substancje toksyczne lub

wąskość indeksu terapeutycznego powoduje, że nie nadaje się do „amatorskiego” stosowania [12, 13]. Częste są sytuacje, w których po zastosowaniu starych receptur może pogorszyć się stan chorego – np. w mieszankach na poprawę pracy układu pokarmowego wystąpią rośliny o działaniu hepatotoksycznym. Z tego względu nie jest możliwe bezrefleksyjne traktowanie zaleceń lub mieszanek ksieni rupertsberdzkiej.

Starym zwyczajem było nazywanie roślin od imion świętych lub związanych z religią [14]. Również w swoich tekstach Hildegarda używa ludowych nazw nawiązujących do różnych świętych lub przymiotów Boga. Jednak ani w C+C ani w *Physica* nie powołuje się na swoje wizje lub jakąś wiedzę niedostępną innym. Na tle swojej epoki jest swoiście nadgorliwa w wyjaśnianiu doboru mniej oczywistych surowców (aczkolwiek wyjaśnienia często opierają się na symbolizmie lub podobieństwie). Przy czym pamiętać trzeba o tym, co zostało omówione wyżej – personalne autorstwo Hildegardy względem tekstów medyczno-przyrodniczych nie jest jasne i jest poddawane w wątpliwość. Tym samym arbitralne „kanonizowanie” tych pism przez postać świętej Hildegardy jest nielogiczne i w przyszłości może się okazać, że całkowicie bezzasadne.

Dla zrozumienia trudności w odczytaniu C+C oraz *Physica* zatrzymajmy się na chwilę wyłącznie na zawartym w nim języku. Tekst jest zapisany mieszanką łaciny oraz języka niemieckiego (a dokładniej jednej z jego historycznych form, niewątpliwie zawierającej regionalizmy danej społeczności [15]). Hildegarda używa również charakterystycznych dla siebie neologizmów lub kalek słownych. Używane słownictwo nie jest precyzyjne, ponieważ nie ma jeszcze sformalizowanej systematyki, a pierwsza powstanie na tyle odległe czasowo, że próby przeniesienia użytych nazw i odpowiadających im gatunkom są obarczone dużym prawdopodobieństwem błędu. Dodatkowo pisma te nie są zielnikami, więc nie dostarczają za dużo przydatnych opisów co do identyfikacji botanicznej. Specyfika językowa jest z jednej strony utrudnieniem dla współczesnego badacza, z drugiej częściowo stanowi argument za spójnością autorstwa z innymi pismami Hildegardy. Ogólną cechą średniowiecznych tekstów (również oficjalnych) jest niepoprawność względem łaciny klasycznej. Jednak, nawet jeśli używano form niestylizacyjnych lub używano złej końcówki, to trzymano się istniejących w łacinie form. W C+C błędy idą dalej i nie raz w zapisie użyto końcówek w ogóle nieistniejących.

Hipotezę wyjaśniającą ten stan rzeczy jest to, że pomyłki powstały podczas szybkiego zapisywania ze słuchu. Tym samym wskazywałoby to, że skrybą była osoba ze słabą znajomością języka, a więc jedna z żyjących w klasztorze sióstr (mimo obecności łaciny w nauce mniszek ich umiejętności językowe nie były tak rozległe jak mnichów i ograniczały się bardziej do fonetyki oraz podstaw rozumienia tekstu czytanego [7]). Jednak zapis mocno kontrastuje z treścią – rozbudowane opisy świa-

ta, stosowane analogie czy odwołania wskazują na bardzo dobre wykształcenie oraz znajomość różnych tekstów (w tym zapisanych łaciną klasyczną). C+C charakteryzuje się też większym podobieństwem do ówczesnych opracowań tego typu (zaczyna się od kwestii teologicznych, takich jak kosmogonia, miejsca człowieka w świecie oraz duchowych powodów chorób czy nieszczęść, a kończy na *stricte* leczniczych wskazaniach, recepturach czy spisach surowców). To przemawia na niekorzyść autorstwa, gdyż wpisuje się w ówczesną modę naukową, w przeciwieństwie do pozostałych pism Hildegardy. Kolejną cechą wskazującą na brak personalnego autorstwa jest kontrast pomiędzy długością omawiania poszczególnych tematów oraz pewna losowość ich ponownego poruszania. Mnogość powtórzeń w jednych przypadkach stoi obok lakonicznych, jakby urwanych fragmentów. Część wydaje się wręcz „przegadana”. To wszystko wskazywałoby na to, że są to słowa Hildegardy, ale nieintencjonalnie podyktowane do jednego, ciągłego tekstu, lecz próba zachowania po niej wiedzy, która w warunkach klasztornych przekazywana była w dużej mierze ustnie, często przy łóżkach chorych (stąd byłyby błędy wynikające z pośpiechu przy zapisie). *Physica* pozostawia mniej wątpliwości, ponieważ język jest bardziej poprawny, a sam tekst ma wiele cech indywidualnych – mocno różni się od wspomnianej wyżej utartej w tym okresie formy pism medycznych czy przyrodniczych, a zarazem zachowuje spójność względem pism teologiczno-filozoficznych, które niewątpliwie są autorstwa Hildegardy.

III. Pomiędzy przeszłością a przyszłością

Pozostaje odpowiedzieć na pytanie, które musi sobie zadać każdy współczesny zielarz pracujący ze starymi księgami czy recepturami lub ogólnie z dawną wiedzą zielarską. Jak dla dobra nauki i społeczeństwa korzystać z tego, co przeszłe, jednocześnie nie popadając w rodzaj idolatrii? Z drugiej strony, czy brak rozstrzygnięcia co do autorstwa wpływa na ewentualne próby pogodzenia starego z nowym? Myślę [przyp. autora], że aby odpowiedzieć na te pytania, trzeba spojrzeć na trzy różne płaszczyzny.

Niewątpliwie w kontekście nauki praca zarówno z manuskryptami, starodrukami, jak i opracowaniami z XIX i XX wieku stanowi doskonałe źródło badań językoznawczych i historycznych (zwłaszcza historii zielarstwa). Sama próba jak najdokładniejszego odtworzenia pism, przystosowania ich do współczesnej wiedzy czy opracowania na tle pozostałego dziedzictwa Hildegardy daje dużą przestrzeń dla badaczy i naukowców. Przestrzeń ta ma wiele do zaoferowania, w szczególności dla polskiej nauki, gdzie jest mało rzetelnych publikacji, które byłyby niezwykle cenne względem wykładniczo rosnącej ilości różnych treści luźno związanych z oryginałem.

Sama fitoterapia czy dziedziny związane z lecznictwem korzystają z części roślin, które stosowała Hildegarda. Nie zawsze w takich samych chorobach, aczkolwiek warto przyglądać się starym zielnikom czy receptariuszom w poszukiwaniu roślin, które – kiedyś stosowane – obecnie mogą być zapomniane lub pomijane. Dodatkowo praca polegająca na zbadaniu, dostosowaniu i opracowaniu receptur oraz porad może zarówno zasilić w sporą ilość materiału źródłowego, jak i dać pewien impuls do łączenia tego, co było z tym, co jest. W rezultacie porzucenia dualizmu myślowego, w którym sztucznie rozgranicza się zielarstwo i fitoterapię, a rozpoczęcia patrzenia na ciągłość historyczną dziedziny, która nadal rozwija się. Jest to własność każdej nauki, w tym również interdyscyplinarnego zielarstwa.

Zielarstwo traktuje człowieka oraz jego chorobę holistycznie, podobne spojrzenie posiadają także tzw. alternatywne metody leczenia. Medycyna również posiadała tę cechę, jednak z czasem zaczęła zatracać ją na rzecz specjalizacji [8]. Hildegarda, podążając za anatomią i fizjologią Hipokratesa oraz Galena, stosuje podobne podejście, ale ową „całościowość” rozumie szerzej. Tak jak pozostali nie odrywa choroby od ciała, a ciała od pacjenta, pacjenta natomiast od jego życia, jednak dodatkowo patrzy na życie w różnych jego aspektach. Niewątpliwie część ujęć terapeutycznych brzmi archaicznie, trochę dewocyjnie i raczej mało atrakcyjnie (np. cnoty, posty, pojednanie), ale jeśli wyjdzie się poza dosłowność i zachowa otwarty umysł na mentalność tamtych czasów jest się w stanie zrozumieć ówczesne praktyki na bardziej ogólnej płaszczyźnie. Część tych zaleceń można spotkać w takich dziedzinach, jak psychologia, dietetyka czy w ramach współczesnych nurtów filozofii – trzeba tylko pamiętać, że Hildegarda nie była psychologiem czy dietetykiem i nieuprawnione jest przenoszenie współczesnej terminologii na jej osobę. Mimo to pewne intuicje czy wskazania niewątpliwie mają szanse na rozwinięcie się w ramach tych dziedzin, a w kontekście współczesnych problemów społecznych, cywilizacyjnych czy środowiskowych mogą być ważnym źródłem do reinterpretacji tych tekstów na terazniejszość.

Literatura

- [1] Kaiser P., *Hildegardis Causae et Curae*, B.G. Teubneri, Lipsiae 1903.
- [2] Migne J.-P., *S. Hildegardis abbatissae opera omnia*, Garnier fratres, Parisiis 1882.
- [3] Pitra J.B., *Analecta sacra spicilegio solesmensi parata*, t. VIII nova s. *Hildegardis opera*, A. Jouby et Roger Bibliopolis, Parisiis 1882.
- [4] Jessen C., *Über Ausgaben und Handschriften der medicinisch-naturhistorischen Werke der heiligen Hildegard*, [w:] *Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften. Mathematisch-Naturwissenschaftliche classe*, (red.) Karl Gerold Sohn, K. K. Hof, Wien 1862.

- [5] Samsonowicz H., Dziedzictwo średniowiecza, Zakład Narodowy im. Ossolińskich, Wrocław 2009.
- [6] Posch H., Co to jest medycyna Hildegardy?, Czuwajmy, Kraków 2001.
- [7] Gies F., Gies J. Życie średniowiecznej kobiety, Wydawnictwo Znak Horyzont, Kraków 2019.
- [8] Szumowski W., Historia medycyny filozoficznie ujęta, Wydawnictwo Marek Derewiecki, Warszawa 2017.
- [9] Hildegarda z Bingen, Causae et curae: o przyczynach i leczeniu chorób, Polskie Centrum św. Hildegardy, Legnica 2021.
- [10] Hildegarda z Bingen, Physica: uzdrawiające dzieło stworzenia – naturalna siła oddziaływania rzeczy, Polskie Centrum św. Hildegardy, Legnica 2021.
- [11] Bilek J., Bilek M., Resina benzoe – żywica benzoesowa, 2021, Resina benzoe – żywica benzoesowa (aptekarski.com) (stan na 15.08.2022).
- [12] Lamer-Zarawska E. i in., Fitoterapia i leki roślinne, PZWL, Warszawa 2014.
- [13] Senderski M. E., Prawie wszystko o ziołach i ziołolecznictwie, Mateusz E. Senderski, Podkowa Leśna 2017.
- [14] Matławska I., Rośliny poświęcone świętym i ich zastosowanie, Herbalism, 2020, 1(6), s. 130-142.
- [15] Krasuski J., Historia Niemiec, Ossolineum, Wrocław 2008.

Do cytowania:

Fröhlich S., Między świątynią a laboratorium – pisma ksieni Hildegardy z Bingen we współczesnej fitoterapii, Herbalism, 2022, 1(8), s. 101-200.