

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

### **Antioxidant potential of water extracts from flowers of berry plants**

Agnieszka Wysokińska<sup>1</sup>, Iwona Wawer<sup>2</sup>, Katarzyna Paradowska<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup> Państwowa Akademia Nauk Stosowanych w Krośnie, Rynek 1, 38-400 Krosno

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

---

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

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

---

### **Streszczenie**

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

## Summary

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

## Wstęp

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

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



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

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

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

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

## Materiał i metody

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

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

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

### Przygotowanie ekstraktów

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

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

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

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

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

Źródło: badanie własne.



### **Oznaczanie aktywności przeciwutleniającej**

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

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

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

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

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

### **Oznaczenie aktywności antyoksydacyjnej metodą FRAP (z ang. the ferric reducing ability of plasma; ferric reducing antioxidant power)**

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

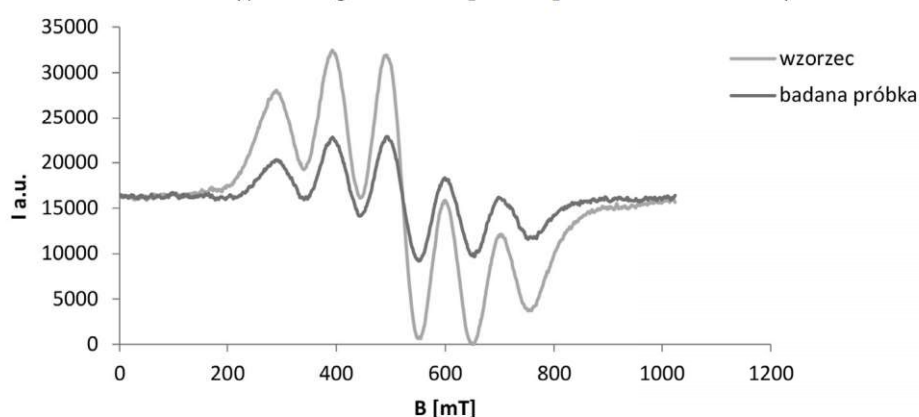
Pomiar wykonano z użyciem spektrofotometru UV-Vis Evolution 60. Do sporządzenia krzywej wzorcowej użyty został wzorcowy roztwór siarczanu (VI) żelaza (II). Równanie krzywej wzorcowej (zależność absorbancji (593 nm) od stężenia  $\text{FeSO}_4$   $\mu\text{mol/L}$ ) to równanie liniowe:  $y = 0,0011x - 0,0852$  gdzie  $y$  – absorbancja (przy długości fali 593 nm),  $x$  – stężenie  $\text{FeSO}_4$  ( $\mu\text{mol/L}$ ).

**Oznaczanie aktywności antyoksydacyjnej z zastosowaniem rodnika ABTS<sup>+</sup> [2,2'-azobis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonian)]**

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

**Oznaczanie całkowitej aktywności przeciwutleniającej z wykorzystaniem testu z rodnikiem DPPH**

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



Rycina 1. Widma EPR dla rodnika DPPH.

Figure 1. EPR spectra of free radicals DPPH.

Źródło: badanie własne.



### **Oznaczanie całkowitej aktywności przeciwutleniającej z wykorzystaniem testu ORAC**

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

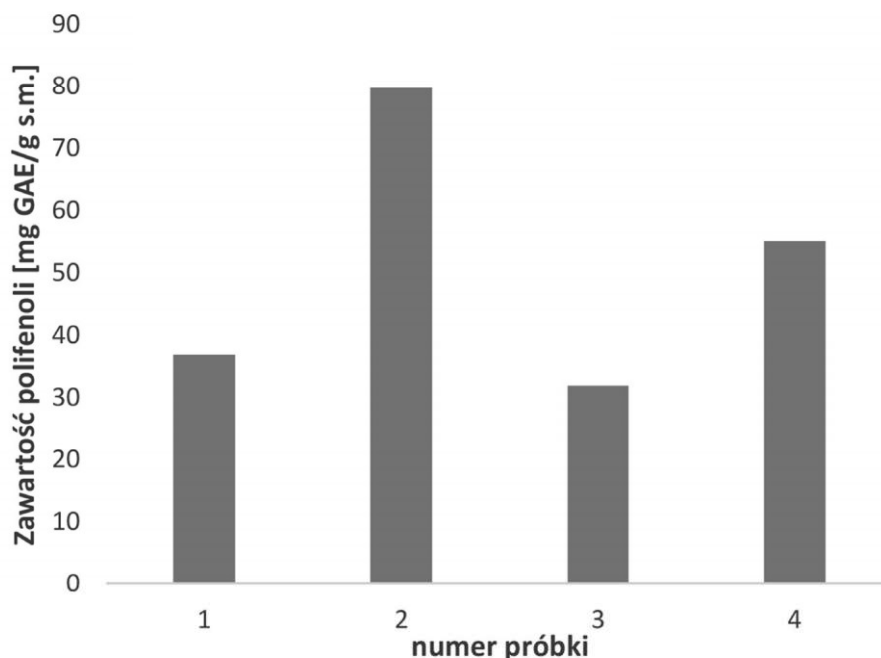
## **Wyniki i dyskusja**

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

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

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

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



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

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

Źródło: badanie własne.

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

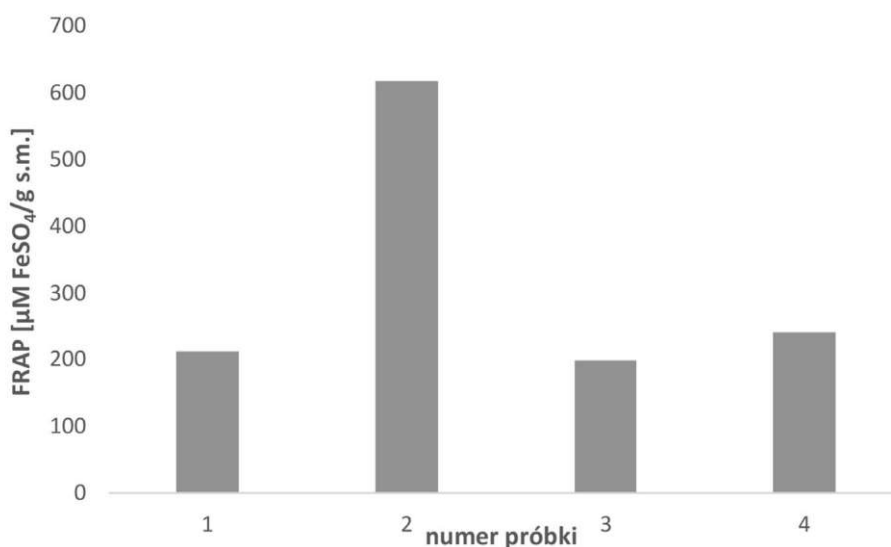
Według Kołodziej i Drożdżał [1], ekstrakty z owoców bzu charakteryzowały się mniejszą zawartością polifenoli niż ekstrakty z kwiatów. W przypadku ekstraktu wodnego z owoców bzu czarnego zawartość polifenoli wynosiła 35,73 mg/g s.m. Ekstrakty wodne z owoców aronii zawierały 19,77 mg GAE/g surowca, co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



### Potencjał antyoksydacyjny wodnych ekstraktów z kwiatów roślin jagodowych

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

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



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

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

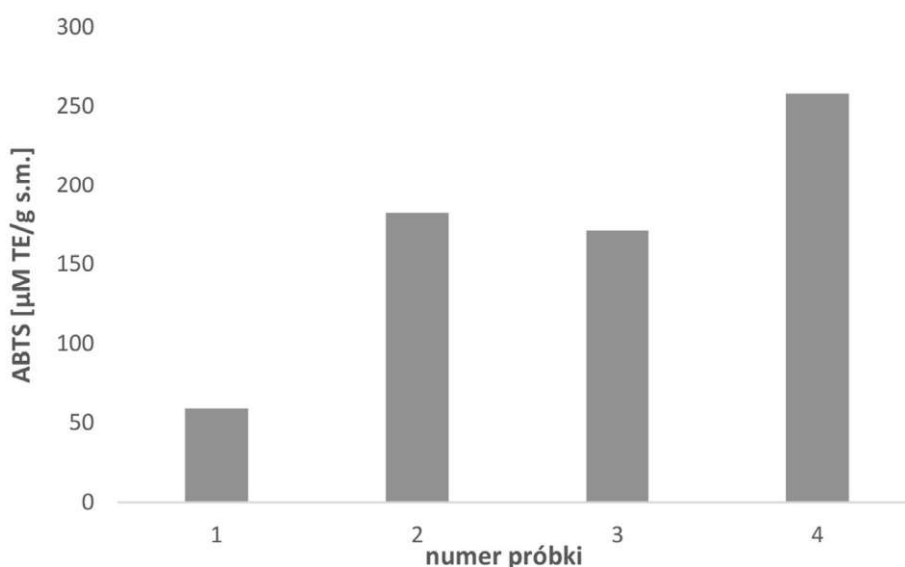
Źródło: badanie własne.

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

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

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

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



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

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

Źródło: badanie własne.

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

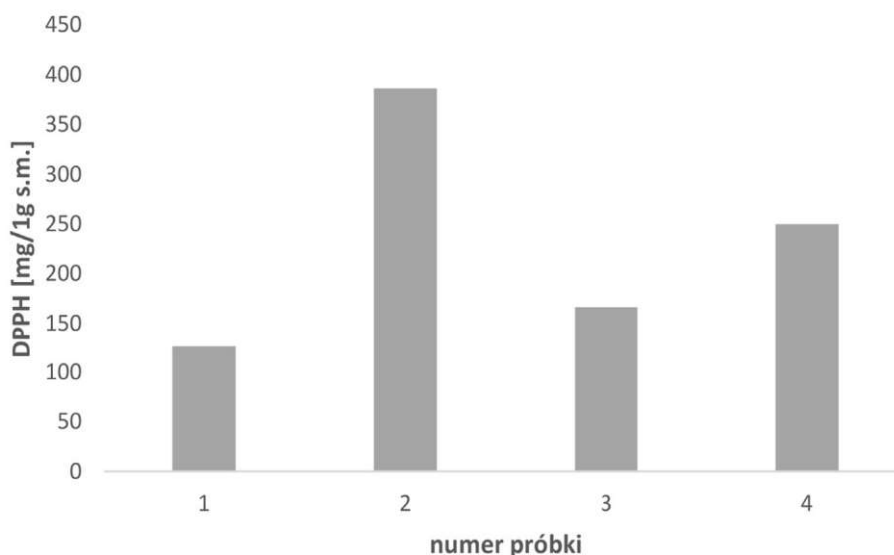


## Potencjał antyoksydacyjny wodnych ekstraktów z kwiatów roślin jagodowych

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

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

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



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

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

Źródło: badanie własne.

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

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

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

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

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

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

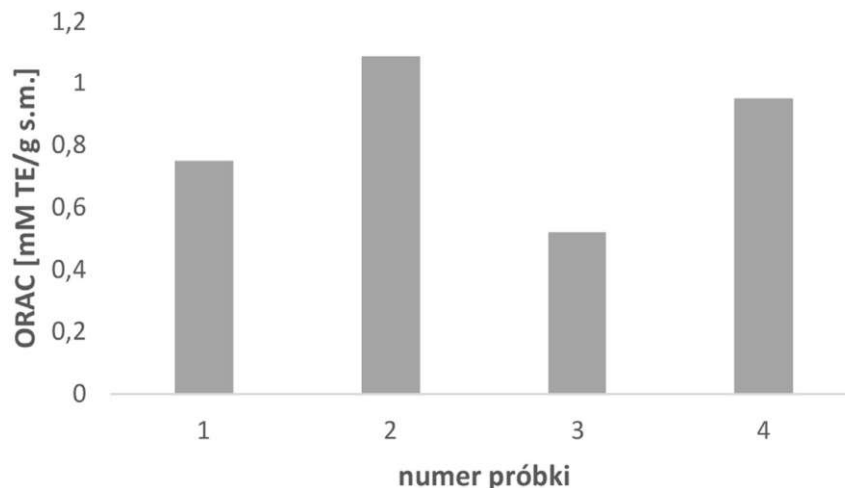
Źródło: badanie własne.

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

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



### Potencjał antyoksydacyjny wodnych ekstraktów z kwiatów roślin jagodowych



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

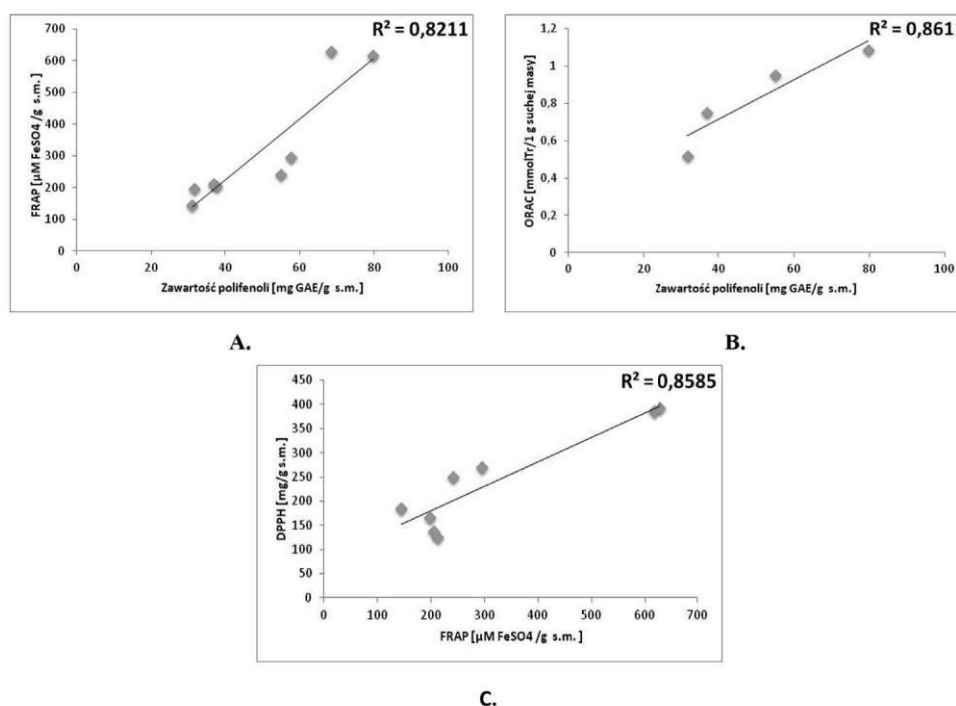
**Figure 6.** ORAC test for water extracts, where: 1 – elderberry, 2 – aronia, 3 – redcurrant, 4 – blackcurrant

Źródło: badanie własne.

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

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

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



**Rycina 7.** Zestaw korelacji: **A.** między całkowitą zawartością polifenoli a testem FRAP, **B.** między całkowitą zawartością polifenoli a testem ORAC oraz **C.** między testem FRAP a testem DPPH.  
**Figure 7.** Correlation set: **A.** between total polyphenol content and FRAP test, **B.** between total polyphenol content and ORAC test, and **C.** between FRAP test and DPPH test.

Źródło: badanie własne.

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



## Podsumowanie

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

## Literatura

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

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

Do cytowania:

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