

Antyoksydanty w naparach ziołowych – rodzaje, mechanizmy działania, znaczenie oraz metody oceny potencjału antyoksydacyjnego

Antioxidants in herbal infusions – types, mechanisms of action, significance, and methods for assessing antioxidant potential

Maja Muszer¹, Mateusz Olek², Nikola Rybarczyk¹, Kinga Barszcz¹,
Julia Adamiak¹, Zofia Dobrowolska³, Tomasz Walski^{3*}, Oliwia Polańska^{3*}

¹ Akademijskie Koło Naukowe BioNanopor działające na Wydziale Podstawowych Problemów Techniki, Katedra Inżynierii Biomedycznej, Politechnika Wrocławska, ul. Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław

² Wydział Nauk Medycznych w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, pl. Traugutta 2, 41-800 Zabrze

³ Katedra Inżynierii Biomedycznej, Politechnika Wrocławska, ul. Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław

*email: tomasz.walski@pwr.edu.pl, oliwia.polanska@pwr.edu.pl

Słowa kluczowe: całkowita pojemność antyoksydacyjna, reaktywne formy tlenu, wolne rodniki, zioła
Key words: total antioxidant capacity, reactive oxygen species, free radicals, herbs

Streszczenie

Wolne rodniki i reaktywne formy tlenu powstają zarówno w wyniku naturalnych procesów metabolicznych, jak i pod wpływem czynników zewnętrznych. Nadmiar tych cząsteczek prowadzi do stresu oksydacyjnego, co może powodować uszkodzenia komórkowe i przyczynić się do rozwoju chorób cywilizacyjnych. Antyoksydanty, zarówno endogenne, jak i egzogenne, odgrywają kluczową rolę w neutralizacji wolnych rodników, chroniąc organizm przed ich szkodliwym działaniem. Szczególną grupę przeciwutleniaczy stanowią związki naturalnie występujące w roślinach, zwłaszcza polifenole obecne m.in. w naparach ziołowych. W artykule przedstawiono mechanizmy działania antyoksydantów, ich klasyfikację i zastosowania w medycynie oraz w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym. Omówiono także metody oceny aktywności przeciwutleniającej oraz potencjalne korzyści zdrowotne wybranych naparów ziołowych.

Abstract

Free radicals and reactive oxygen species are generated both because of natural metabolic processes and due to external factors. Excess of these reactive molecules leads to oxidative stress,

which can cause cellular damage and contribute to the development of various civilization-related diseases. Antioxidants, both endogenous and exogenous, play a crucial role in neutralizing free radicals, thereby protecting the body from their harmful effects. A particularly important group of antioxidants consists of naturally occurring plant-derived compounds, especially polyphenols, which are abundant in herbal infusions. This article discusses the mechanisms of antioxidant action, their classification, and their applications in medicine, the food industry, and pharmaceuticals. Additionally, various methods for assessing antioxidant activity and the potential health benefits of selected herbal infusions are reviewed.

Wprowadzenie

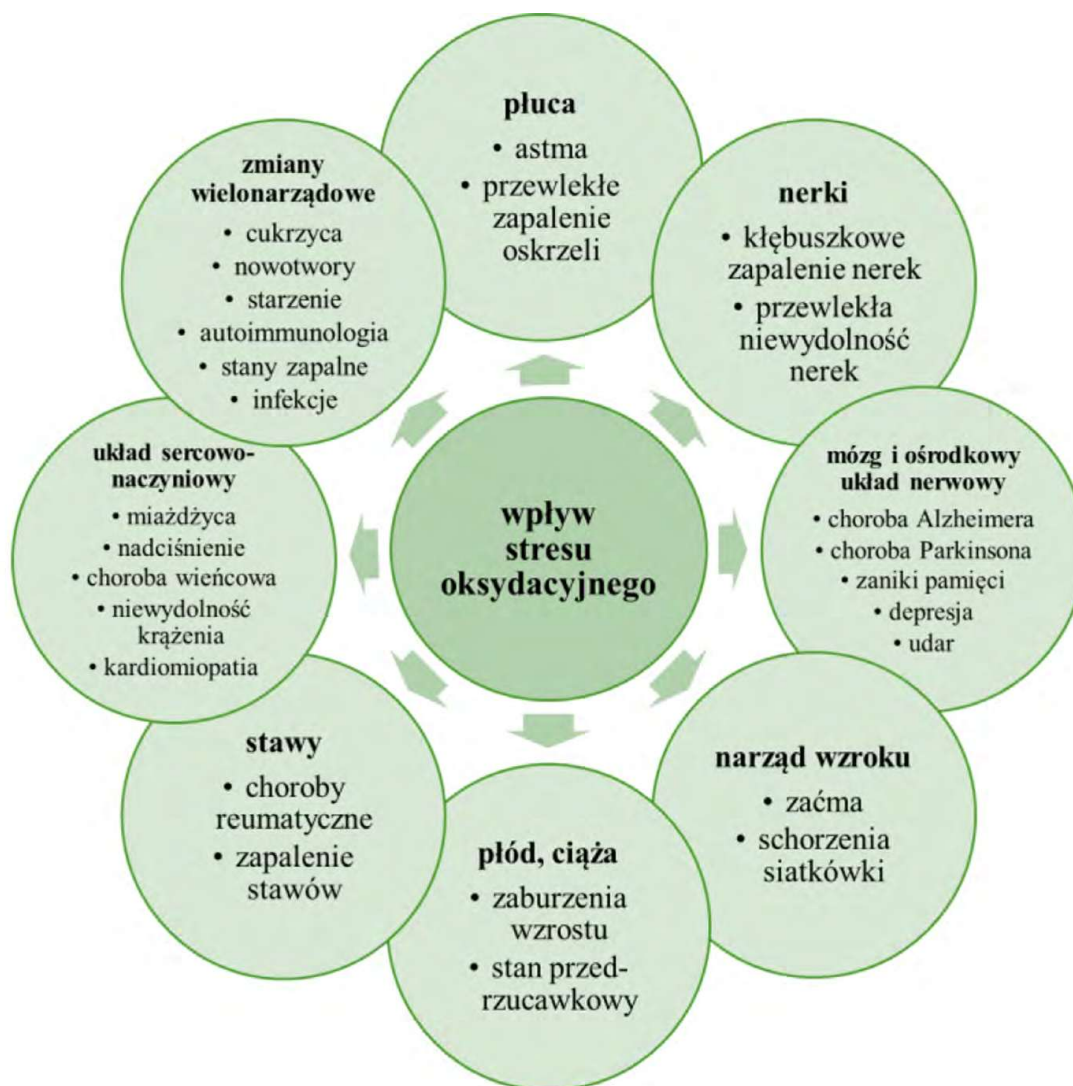
W ostatnich latach obserwuje się rosnące zainteresowanie naturalnymi źródłami związków o właściwościach antyoksydacyjnych, zwłaszcza pochodzenia roślinnego. Wśród nich szczególne miejsce zajmują napary ziołowe, które stanowią łatwo dostępny i powszechny element diety oraz bogate źródło substancji biologicznie aktywnych, zdolnych do neutralizacji wolnych rodników (WR). Ze względu na ich rolę w ograniczaniu stresu oksydacyjnego i profilaktyce chorób cywilizacyjnych, napary te są przedmiotem licznych badań.

Celem niniejszej pracy jest przedstawienie wybranych naparów ziołowych jako źródeł antyoksydantów, omówienie występujących w nich związków oraz zaprezentowanie metod oceny całkowitej pojemności antyoksydacyjnej (CPA). W pierwszej kolejności scharakteryzowano WR i reaktywne formy tlenu (RFT) jako podstawę do zrozumienia mechanizmów działania antyoksydantów. Przegląd opracowano na podstawie aktualnej literatury specjalistycznej.

Wolne rodniki i reaktywne formy tlenu

Naturalne procesy zachodzące w żywych organizmach oraz ekspozycja na różnorodne czynniki zewnętrzne przyczyniają się do powstawania wysoce reaktywnych cząsteczek, do których należą WR oraz RFT. WR oznaczają indywidualne chemiczne zawierające co najmniej jeden niesparowany elektron, odpowiedzialny za ich wysoką reaktywność. Jednym z najprostszych, a zarazem najpowszechniej występujących rodników organicznych jest rodnik metylowy ($\text{H}_3\text{C}\cdot$) [1]. Z kolei jako RFT określa się produkty niecałkowitej redukcji cząsteczki tlenu, charakteryzujące się wysoką reaktywnością, które szybko wchodzi w reakcje z innymi cząsteczkami w komórce. Należą do nich m.in. tlen singletowy ($^1\text{O}_2$) oraz nadtlenek wodoru (H_2O_2). Pewne cząsteczki, takie jak rodnik hydroksylowy ($\text{HO}\cdot$) oraz anionorodnik ponadtlenkowy ($\text{O}_2^{\cdot-}$), ze względu na powstawanie na drodze niecałkowitej redukcji tlenu oraz obecność niesparowanych elektronów, mogą być zakwalifikowane jednocześnie do obu tych grup, jednakże nie wszystkie RFT są WR [1–2].

RFT pojawiają się w organizmie najczęściej jako produkty uboczne metabolizmu mitochondriów (głównie w procesie oddychania), zarówno w warunkach fizjologicznych, jak i patologicznych. WR w organizmie mogą być generowane przez czynniki wewnętrzne, takie jak aktywacja komórek układu odpornościowego, stany zapalne, infekcje, nowotwory, stres czy starzenie. Produkcja WR może również wynikać z ekspozycji organizmu na czynniki zewnętrzne, takie jak zanieczyszczenia środowiskowe, metale ciężkie, niektóre leki, rozpuszczalniki chemiczne, dym papierosowy, alkohol oraz promieniowanie UV lub jonizujące. Po przedostaniu się tych czynników do organizmu są one degradowane lub metabolizowane, w wyniku czego WR są generowane jako produkty uboczne, natomiast promieniowanie może indukować ich powstawanie na drodze mechanizmów fizykochemicznych [3–4].



Rysunek 1. Skutki długotrwałego stresu oksydacyjnego
Figure 1. Effects of Long-Term Oxidative Stress

Źródło: opracowanie własne na podstawie [4].

W niewielkich ilościach WR oraz RFT są niezbędnymi elementami utrzymania homeostazy w komórkach organizmów żywych. Zapewniają właściwy przebieg wielu procesów fizjologicznych, takich jak regulacja procesów redukcji i oksydacji (redoks), odpowiedź układu immunologicznego na patogeny, udział w sygnalizacji komórkowej odpowiedzialnej za kluczowe procesy życiowe (w tym skurcze mięśni gładkich), tworzenie się skrzepów, aktywność neuronów czy podziały komórkowe [4–5]. W sytuacji, gdy produkcja WR oraz RFT przewyższa zdolności antyoksydacyjne organizmu, a homeostaza w komórce zostaje zachwiana, dochodzi do zjawiska zwanego stresem oksydacyjnym. Występujący wówczas nadmiar WR oraz RFT prowadzi do uszkodzenia struktur błon komórkowych oraz podstawowych składników komórki: białek, lipidów, lipoprotein oraz kwasów nukleinowych. Na poziomie tkankowym prowadzi to do rozwoju wielu schorzeń, w tym licznych chorób cywilizacyjnych [4, 6]. Przykłady takich chorób przedstawiono na rysunku 1.

Antyoksydanty

Organizmy dysponują mechanizmami obronnymi, które chronią przed szkodliwym działaniem WR oraz RFT. Kluczową rolę w tych procesach odgrywają **antyoksydanty** [4, 7–9]. Z chemicznego punktu widzenia są to związki, które już w niewielkich stężeniach chronią przed utlenieniem lub znacznie opóźniają proces utleniania substratu [7, 10]. W efekcie możliwe jest zmniejszenie negatywnych skutków działania WR i RFT. Neutralizacja ich nadmiaru, ograniczenie powstawania form reaktywnych lub zatrzymywanie reakcji wolnorodnikowych zapewniają ochronę komórek organizmu przed toksycznym działaniem tych związków oraz możliwymi uszkodzeniami oksydacyjnymi molekuł lub zaburzeniami ich struktury i funkcji. Procesy te pozwalają zapobiegać chorobom i powikłaniom zdrowotnym [4, 7–9, 11].

Mechanizmy działania antyoksydantów

Przeciwutleniacze różnią się zdolnością do neutralizacji WR i RFT. Wskazuje się, że aktywność antyoksydacyjna może być powiązana z liczbą aktywnych grup funkcyjnych (np. hydroksylowych lub aminowych) oraz położeniem tych podstawników. Antyoksydanty działają za pośrednictwem różnorodnych mechanizmów, takich jak „zmiatanie” WR, sekwestracja jonów metali przejściowych, rozkład nadtlenu wodoru lub wodoronadtlenków, wygaszanie aktywnych prooksydantów, wzmacnianie endogennych mechanizmów antyoksydacyjnych, a także naprawa i minimalizacja powstałych uszkodzeń komórkowych [7].

W systemie obrony antyoksydacyjnej w komórkach organizmów wyróżnia się trzy etapy:

- **pierwsza linia obrony** (antyoksydanty prewencyjne) – zapobieganie powstawaniu WR, za co odpowiedzialne są przede wszystkim enzymy antyoksydacyjne oraz białka nieenzymatyczne (m.in. ceruloplazmina, białka hemowe);
- **druga linia obrony** (antyoksydanty interwencyjne, właściwe) – terminacja łańcucha reakcji wolnorodnikowych, za co odpowiedzialne są antyoksydanty małowcząsteczkowe (m.in. witaminy A, C, E, glutation, flawonoidy);
- **trzecia linia obrony** (enzymy antyoksydacyjne naprawcze) – naprawa uszkodzeń spowodowanych działaniem form reaktywnych, za co odpowiedzialne są m.in. enzymy o aktywności oksydoredukcyjnej (m.in. paraoksonaza – redukcja produktów peroksydacji lipidów, tioredoksyna – redukcja mostków disiarczkowych powstałych np. na skutek peroksydacji DNA lub utlenienia grup tiolowych białek) [2, 12].

Antyoksydanty w medycynie i przemyśle

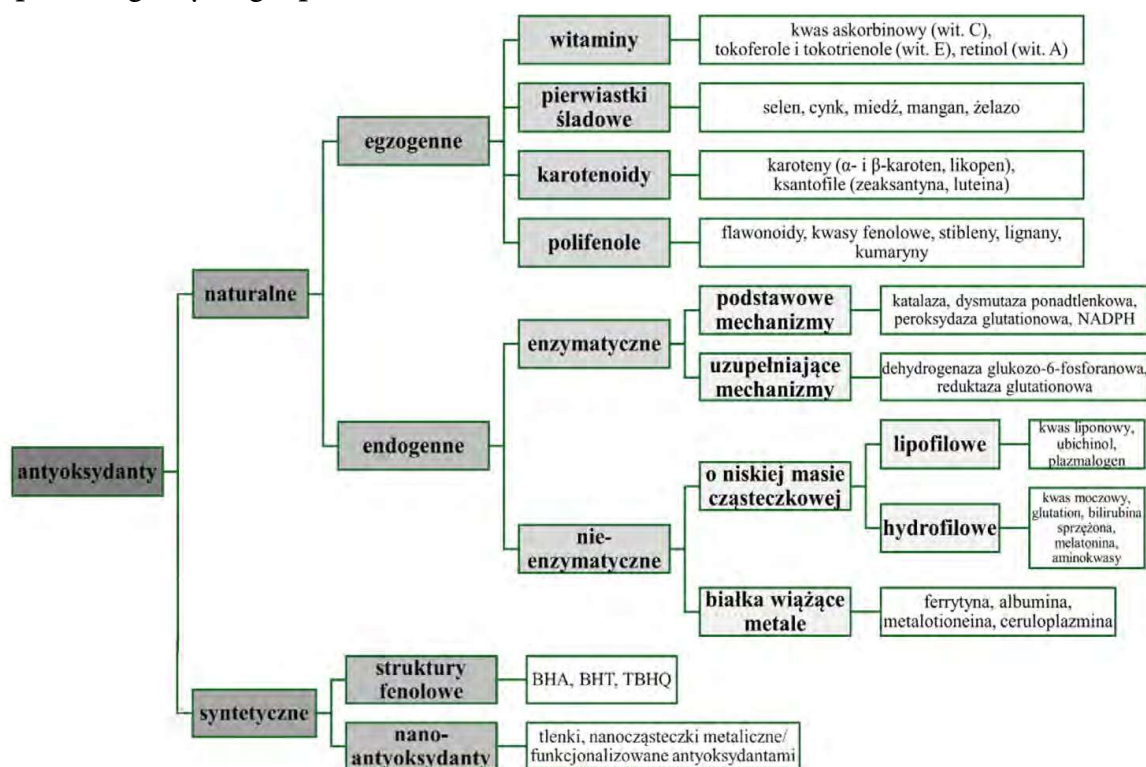
Przedstawiona powyżej charakterystyka działania antyoksydantów przekłada się na ich szerokie znaczenie i zastosowanie w medycynie oraz w przemyśle. W medycynie antyoksydanty pomagają w leczeniu chorób układu krążenia, takich jak miażdżyca, przerost serca, kardiomiopatia, niewydolność serca, przebudowa komórek, uszkodzenie niedokrwiennie-reperfuzyjne i zawał mięśnia sercowego [13]. Badania wykazały, że dieta bogata w antyoksydanty zmniejsza ryzyko zachorowania na określone nowotwory [9, 14], a ich włączenie do radioterapii jest istotne ze względu na obecność WR, które są wytwarzane w trakcie terapii onkologicznych [14]. W dermatologii antyoksydanty zapobiegają uszkodzeniom komórek i tkanek. Stosuje się je również w przemyśle kosmetycznym i farmaceutycznym, gdyż zapobiegają utlenianiu niestabilnych składników substancji leczniczych [15].

W przemyśle spożywczym dodatek antyoksydantów chroni żywność przed procesem utleniania, który prowadzi do pogorszenia smaku, zapachu, koloru i właściwości odżywczych. Dzięki temu żywność jest dłużej zdatna do spożycia. Przykładowo dodatek antyoksydantów zapobiega jełczeniu tłuszczów [16], a także zwiększa stabilność olejów spożywczych, które naturalnie ich nie zawierają [7].

Klasyfikacja antyoksydantów i ich źródła

Zgodnie z podstawowym kryterium antyoksydanty dzieli się na związki naturalne i sztuczne [7, 17]. Wśród przeciwutleniaczy naturalnych wyróżnia się przeciwutleniacze egzogenne (dostarczane z zewnątrz wraz z dietą) oraz endogenne (wytwarza-

ne w organizmie, *in situ*). Antyoksydanty endogenne mogą mieć charakter enzymatyczny lub nieenzymatyczny [5, 7, 17]. W poszczególnych grupach antyoksydantów występują związki o różnorodnych mechanizmach działania, co determinuje specyficzne funkcje każdego z nich w organizmie oraz to, który z nich może zostać użyty w reakcji z określonym WR lub RFT [2, 18]. W reakcji na stres oksydacyjny uczestniczy cała grupa antyoksydantów, gdyż ten sam WR lub RFT może oddziaływać na różne struktury docelowe w organizmie [2]. Na rysunku 2 schematycznie przedstawiono klasyfikację antyoksydantów oraz wskazano przykłady związków w poszczególnych grupach.



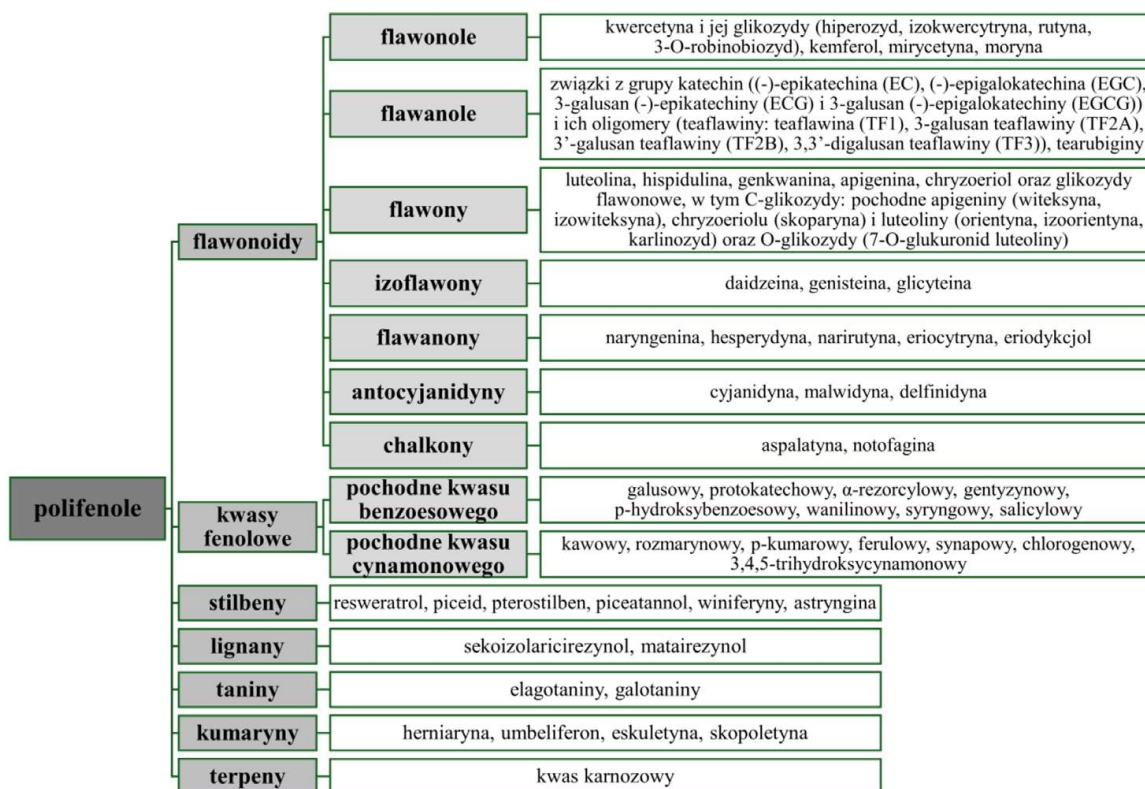
Rysunek 2. Klasyfikacja antyoksydantów wraz z przykładami dla poszczególnych grup (NADPH – zredukowany fosforan dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego, BHA – butylowany hydroksyanizol, BHT – butylowany hydroksytoluen, TBHQ – tert-butylhydrochinon)

Figure 2. Classification of antioxidants with examples for each group (NADPH – reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, BHA – butylated hydroxyanisole, BHT – butylated hydroxytoluene, TBHQ – tert-butylated hydroquinone)

Źródło: opracowanie własne na podstawie [7].

Mając na uwadze nieenzymatyczny charakter antyoksydantów naturalnych, można także dokonać ich podziału na metaboliczne i odżywcze. Antyoksydanty metaboliczne (należące do endogennych), takie jak kwas liponowy, glutation, melatonina, kwas moczowy, transferyna oraz białka chelatujące, są wytwarzane na drodze przemian metabolicznych w organizmie. Natomiast antyoksydanty odżywcze (należące do egzogennych) nie mogą być wytwarzane w organizmie, lecz

muszą zostać dostarczone z pożywieniem. Są to m.in. witamina E, witamina C, karotenoidy, flawonoidy, pierwiastki śladowe (takie jak selen, mangan i cynk) oraz kwasy tłuszczowe omega-3 i omega-6 [5]. Największą grupę stanowią polifenole. Ich szczegółowy podział przedstawiono na rysunku 3.



Rysunek 3. Klasyfikacja polifenoli wraz z przykładami

Figure 3. Classification of polyphenols with examples

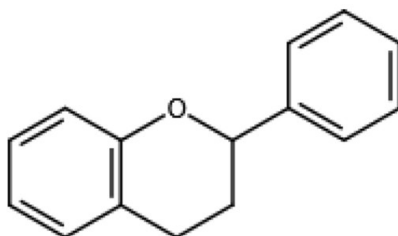
Źródło: opracowanie własne na podstawie [19–29].

Ważnym źródłem antyoksydantów w diecie jest żywność pochodzenia roślinnego [17]. Innym sposobem dostarczania przeciwutleniaczy są suplementy, w których związki antyoksydacyjne uzyskiwane są na drodze ekstrakcji z materiału pochodzenia naturalnego lub syntezy chemicznej [5]. Źródłem antyoksydantów mogą być również mikroorganizmy, m.in. bakterie, grzyby oraz porosty. Organizmy te szybko rozmnażają się i rosną w kontrolowanych warunkach, co może przekładać się na ich efektywne zastosowanie w medycynie i przemyśle jako źródła substancji przeciwutleniających [7]. Suplementacja antyoksydantami, zwłaszcza przy uwzględnieniu odpowiednich dawek, od wielu lat jest przedmiotem zainteresowania i dyskusji [5, 7, 17, 30].

Naturalne przeciwutleniacze pochodzą przede wszystkim z roślin. Największą grupę antyoksydantów tego pochodzenia stanowią polifenole, wykazujące dużą aktywność przeciwrodnikową i przeciwutleniającą. Istotnym źródłem związków tej grupy są napary ziołowe [7, 11, 31], których właściwości i działanie antyoksydacyjne omówiono szerzej w dalszej części pracy.

Antyoksydanty występujące w naparach

Flawonoidy stanowią jedną z najliczniejszych grup polifenoli obecnych w naparach ziołowych. Podstawą struktury flawonoidów jest układ flawanu, złożony z trzech pierścieni. W związkach tych między dwoma pierścieniami benzenowymi znajduje się heterocykliczny pierścień pironu lub piranu. Strukturę chemiczną flawanu przedstawiono na rysunku 4. Układ ten może ulegać modyfikacjom w wyniku hydroksylacji, glikozylacji oraz metoksylacji, polegających na przyłączeniu odpowiednio grup hydroksylowych, reszt cukrowych oraz grup metoksyłowych do atomów węgla budujących pierścienie. Prowadzi to do dużej różnorodności tych związków. Obecność grup hydroksylowych warunkuje właściwości antyoksydacyjne tych pochodnych, przy czym ich aktywność wzrasta wraz z liczbą wprowadzonych grup –OH [32–34].



Rysunek 4. Budowa chemiczna układu flawanu – podstawy struktury chemicznej flawonoidów
Figure 4. Chemical structure of the flavan core – the basis of the chemical structure of flavonoids

Źródło: opracowanie własne na podstawie [34].

Każdy rodzaj naparu wykazuje wiele korzyści zdrowotnych. Najczęściej są to właściwości przeciwzapalne, przeciwbakteryjne oraz wspomagające układ trawienny. W tabeli 1 przedstawiono wybrane rodzaje naparów ziołowych wraz z ich prozdrowotnymi właściwościami oraz zawartymi antyoksydantami.

Tabela 1. Wybrane napary oraz ich właściwości zdrowotne wraz z przykładowymi antyoksydantami, które w nich występują

Table 1. Selected infusions and their health benefits along with examples of antioxidants they contain

Nazwa	Właściwości	Antyoksydanty
Mięta	<ul style="list-style-type: none"> – łagodzenie zaburzeń trawiennych – działanie przeciwbakteryjne, przeciwnowotworowe, przeciwwirusowe i przeciwinfekcyjne – łagodzenie skurczów mięśni 	<p>FLAWONOIDY:</p> <ul style="list-style-type: none"> – flawony (luteolina i jej pochodne, apigenina) – flawanony (ericytryna, hesperydyna, pochodne naryngeniny, eriodykcjoli) – flawonole (kwercetyna, rutyna) <p>KWASY FENOLOWE:</p> <ul style="list-style-type: none"> – kwas rozmarynowy <p>SKŁADNIKI OLEJKÓW ETERYCZNYCH:</p> <ul style="list-style-type: none"> – terpeny (mentol, eukaliptol) – terpenoidy (menton)

Antyoksydanty w naparach ziołowych – rodzaje, mechanizmy działania...

Nazwa	Właściwości	Antyoksydanty
Melisa	<ul style="list-style-type: none"> - działanie uspokajające i przeciwłękowe - poprawa jakości snu - ochrona serca (przed arytmia i uszkodzeniami na skutek niedokrwienia) - właściwości przeciwzapalne, przeciwwirusowe i przeciwnowotworowe - wsparcie w chorobach neurodegeneracyjnych (np. choroba Alzheimera), a także ochrona przed wrzodami żołądka - wspieranie zdrowia nerek i wątroby - neuroprotekcja 	<p>FLAWONOIDY:</p> <ul style="list-style-type: none"> - flawonole (kwercetyna) - flawony (luteolina, apigenina) <p>KWASY FENOLOWE:</p> <ul style="list-style-type: none"> - kwas rozmarynowy, kawowy, galusowy, chlorogenowy, ferulowy, p-kumarowy <p>SKŁADNIKI OLEJKÓW ETERYCZNYCH:</p> <ul style="list-style-type: none"> - terpeny i terpenoidy (cytral: neral i geranial, linalool, geraniol, mentol) <p>- TANINY i witamina E</p>
Pokrzywa	<ul style="list-style-type: none"> - działanie przeciwzapalne - wspomaganie leczenia anemii - zastosowanie w leczeniu chorób zapalnych (np. artretyzmu) - wspomaganie układu odpornościowego - zapobieganie chorobom serca i nowotworowym - zmniejszenie ryzyka niedoboru mikroskładników 	<p>FLAWONOIDY:</p> <ul style="list-style-type: none"> - flawony (luteolina, apigenina) - flawanole (katechina, EC, ECG, EGCG) - flawonole (kemferol, mirycetyna) <p>KWASY FENOLOWE:</p> <ul style="list-style-type: none"> - kwas syringowy, kawowy, ferulowy, galusowy, chlorogenowy <p>KUMARYNY:</p> <ul style="list-style-type: none"> - eskuletyna, skopoletyna <p>KAROTENOIDY:</p> <ul style="list-style-type: none"> - karoteny (β-karoten) - ksantofile (luteina, zeaksantyna) <p>- witaminy A i C</p>
Rumianek	<ul style="list-style-type: none"> - działanie przeciwzapalne, przeciwbakteryjne, przeciwskurczowe oraz przeciwnowotworowe - łagodzenie problemów żołądkowo-jelitowych (kolka, niestrawność, wrzody) - leczenie chorób skóry (egzema, oparzenia, rany) - wsparcie w leczeniu przeziębienia i grypy - działanie uspokajające i wspomagające sen - zmniejszenie ryzyka chorób serca 	<p>FLAWONOIDY:</p> <ul style="list-style-type: none"> - flawony (apigenina, luteolina) - flawonole (kwercetyna) <p>KUMARYNY:</p> <ul style="list-style-type: none"> - herniaryna, umbeliferon <p>SKŁADNIKI OLEJKÓW ETERYCZNYCH:</p> <ul style="list-style-type: none"> - terpeny i terpenoidy (α-bisabolol, chamazulen)

Nazwa	Właściwości	Antyoksydanty
Szałwia	<ul style="list-style-type: none"> - leczenie łagodnej niestrawności - redukcja nadmiernego pocenia się - łagodzenie stanów zapalnych gardła - właściwości przeciwcukrzycowe (hipoglikemiczne) - właściwości przeciwzapalne - działanie antybakteryjne 	<p>FLAWONOIDY:</p> <ul style="list-style-type: none"> - flawony (glukuronid-7-O-luteoliny [wersja PL]) - flawanony (hesperetyna) - flawony (hispidulina, genkwanina) <p>SKŁADNIKI OLEJKÓW ETERYCZNYCH:</p> <ul style="list-style-type: none"> - terpeny (tujon, eukaliptol, kamfora) - witamina E

Źródło: opracowanie własne na podstawie [6, 35–44, 48].

Aby ocenić właściwości przeciwutleniające wybranych związków chemicznych, powszechnie określa się ich CPA. Parametr ten może znaleźć zastosowanie także w badaniach naparów ziołowych [49–50]. W tym celu wykorzystuje się wiele testów, których przykłady opisano w dalszej części pracy.

Metody wyznaczania CPA

Techniki służące do wyznaczania CPA dzieli się na spektroskopowe, elektrochemiczne oraz chromatograficzne. Techniki spektroskopowe opierają się na reakcjach rodnikowych, kompleksach przeciwutleniaczy lub kationach rodnikowych, które mogą oddawać atom wodoru. Reakcje te są ilościowo monitorowane za pomocą takich metod jak kolorymetria, zanik fluorescencji, chemiluminescencja, widma emisji oraz widma wzbudzenia i emisji fluorescencji. Techniki elektrochemiczne są rzadziej stosowane, a do najpopularniejszych z nich należą woltamperometria cykliczna oraz miareczkowanie biamperometryczne. Metody chromatograficzne są powszechnie stosowane do rozdzielania i identyfikacji przeciwutleniaczy przed zastosowaniem metod spektrofotometrycznych lub elektrochemicznych, które służą dalszej ocenie CPA [51]. Ze względu na dostępność i szerokie zastosowanie w praktyce laboratoryjnej szczególną uwagę warto zwrócić na metody spektroskopowe:

- **Test DPPH** (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl) jest techniką wykorzystującą stabilny WR 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl, który, ze względu na nieparzysty elektron, wykazuje silną absorpcję przy 517 nm, co nadaje roztworowi ciemnofioletową barwę. Gdy elektron zostanie sparowany, absorpcja zanika, a odbarwienie roztworu jest stechiometryczne w stosunku do pobranych elektronów [52]. DPPH jest odbarwiany przez cysteinę, glutation, kwas askorbinowy, tokoferol, związki polihydroksyaromatyczne oraz aminy aromatyczne. Grupy

–SH białek są utleniane, ale nie w sposób stechiometryczny. DPPH nie ma wystarczająco wysokiego potencjału redoks, aby utlenić glukozę, i w zwykłych warunkach nie utlenia puryn, pirymidyn ani związków aromatycznych z tylko jedną grupą hydroksylową [52]. Test ten można z powodzeniem przekształcić w metodę elektrochemiczną, stosując miareczkowanie biamprometryczne, co pozwala na uzyskanie wyższej dokładności [53]. Należy jednak zauważyć, że metoda spektroskopowa jest łatwiejsza w zastosowaniu, stąd jej częstsze użycie.

- **Test ABTS** (2,2'-azobis(3-etylo-benzotiazolino-6-sulfonian)) opiera się na zdolności przeciwutleniacza do stabilizacji barwnego rodnika kationowego ABTS^{•+}, który może być wcześniej utworzony w wyniku utleniania ABTS przez metemoglobinę i nadtlenek wodoru [54]. W obecności antyoksydantów i donorów wodoru absorbancja tego kationu rodnikowego jest wygaszana w stopniu zależnym od CPA dodanego płynu, w przypadku braku związków zakłócających. Zmodyfikowana technika generowania kationorodnikowego chromoforu ABTS^{•+} obejmuje bezpośrednio wytwarzanie zielononiebieskiego chromoforu i prowadzenie pomiaru absorbancji przy 734 nm w reakcji między ABTS a nadsiarczanem potasu [1]. Test ten często jest określany jako TEAC (ang. Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), ponieważ szybkość reakcji jest zazwyczaj wyznaczana na podstawie krzywej wzorcowej Troloxu (analog witaminy E) jako standardu antyoksydacyjnego [55].
- **Test FRAP** (ang. Ferric Reducing Antioxidant Power) opiera się na redukcji kompleksu jonu żelaza (III)–TPTZ (2,4,6-tri(2-pirydylo)-1,3,5-triazyna) przez przeciwutleniacze w niskim pH. Powstały kompleks żelaza (II) z ligandem tworzy intensywną granatową barwę. Absorbancję tego kompleksu przy długości fali 593 nm można zmierzyć w celu oceny ilości zredukowanego żelaza, co koreluje z ilością przeciwutleniaczy [51, 56–57]. Istnieje również test **CUPRAC** (ang. CUPric Reducing Antioxidant Capacity), będący modyfikacją FRAP, w której jony żelaza zastępuje się jonami miedzi, które absorbują przy długości fali 450 nm [55].
- **Test ORAC** (ang. Oxygen Radical Absorbance Capacity) opiera się na zdolności przeciwutleniaczy do hamowania utleniania substratów przez egzogenne utleniacze. 2,2'-azobis-(2-amidynopropan) dichlorowodorek (AAPH) jest silnym utleniaczem, który może inicjować powstawanie rodników nadtlenkowych. Do detekcji rodników w tym teście wykorzystuje się sondy fluorescencyjne, takie jak B-fikoerytryna, fluoresceina oraz H2DCFDA. Gdy rodniki nadtlenkowe reagują z tymi sondami, obserwuje się spadek fluorescencji. Z tego względu stężenie przeciwutleniaczy jest odwrotnie proporcjonalne proporcjonalne do szybkości jej wygaszania [57].

- **Test TRAP** (ang. Total Reactive Antioxidant Potential) opiera się na zdolności przeciwutleniaczy do hamowania reakcji między rodnikami nadtlenkowymi a cząsteczkami docelowymi. Wykorzystuje on chemiluminescencję do monitorowania reakcji z rodnikami nadtlenkowymi, przy czym wartość TRAP jest określana na podstawie czasu, przez który próbka wygasza sygnał chemiluminescencji [51]. Rodniki nadtlenkowe są generowane przez związek azotu przez związek azowy (AAPH), a w procesie tym mierzy się zużycie tlenu, co pozwala określić zdolność antyoksydacyjną próbki [56].

Wady i zalety powyższych testów wraz z krótką charakterystyką podsumowano w tabeli 2.

Tabela 2. Podsumowanie przedstawionych testów wraz z ich zaletami i wadami

Table 2. Summary of the tests presented along with their advantages and disadvantages

Test	Charakterystyka	Zalety	Wady
DPPH	<ul style="list-style-type: none"> – stabilny wolny rodnik WR – pochłania światło przy 517 nm – zanik barwy oznacza neutralizację rodnika przez przeciwutleniacze 	<ul style="list-style-type: none"> – prosty i łatwy w zastosowaniu – stabilność DPPH 	<ul style="list-style-type: none"> – stechiometria reakcji zależna od struktury antyoksydantu
ABTS	<ul style="list-style-type: none"> – oparty na wygaszaniu rodnika kationowego ABTS^{•+} przez przeciwutleniacze – pomiar absorbancji przy 734 nm 	<ul style="list-style-type: none"> – może być stosowany do antyoksydantów hydrofilowych i lipofilowych, – prosty, szybki i bardzo czuły 	<ul style="list-style-type: none"> – stabilność rodnika ABTS^{•+} wymaga odpowiednich warunków przechowywania
FRAP	<ul style="list-style-type: none"> – oparty na redukcji żelaza przez przeciwutleniacze, prowadzący do powstania kompleksu żelaza (II) – maksymalna absorpcja przy 593 nm 	<ul style="list-style-type: none"> – szybki, tani i stosunkowo prosty test 	<ul style="list-style-type: none"> – odczynnik FRAP nie jest stabilny przez dłuższy czas – przygotowanie próbek jest czasochłonne
ORAC	<ul style="list-style-type: none"> – mierzy zdolność przeciwutleniaczy do hamowania utleniania substratów – fluorescencja wygasa proporcjonalnie do ilości WR 	<ul style="list-style-type: none"> – stosowany w żywności – wysoka powtarzalność wyników 	<ul style="list-style-type: none"> – ograniczony do hydrofilowych przeciwutleniaczy i rodników nadtlenkowych
TRAP	<ul style="list-style-type: none"> – oparty na chemiluminescencji, ocenia zdolność przeciwutleniaczy do wygaszania sygnału po generacji rodników nadtlenkowych przez AAPH 	<ul style="list-style-type: none"> – wysoka specyficzność i czułość, – stosowany w badaniach osocza i płynów biologicznych 	<ul style="list-style-type: none"> – złożony, czasochłonny – wymaga zaawansowanej aparatury

Źródło: opracowanie własne na podstawie [52, 55, 58–60].

Każdy z opisanych testów posiada zarówno zalety, jak i ograniczenia, które mogą wpływać na dokładność i powtarzalność uzyskanych wyników. Niektóre testy charakteryzują się wysoką czułością i selektywnością, podczas gdy inne wyróżniają się prostotą wykonania i krótszym czasem analizy. Wybór odpowiedniego testu powinien uwzględniać specyfikę badanej próbki, zakres zastosowania oraz wymagania dotyczące precyzji pomiarów.

CPA może być wyrażana w różny sposób, w zależności od zastosowanej metody badawczej. Najczęściej stosuje się jednostki oparte na ekwiwalentach standardów, np. Troloxu, co umożliwia porównywanie różnych próbek [55]. Ponadto istnieją parametry pomocnicze służące do oceny poziomu potencjału antyoksydacyjnego. W niektórych testach aktywność antyoksydacyjna może być wyrażona jako procent inhibicji reakcji rodnikowej, odpowiadający zdolności badanego antyoksydantu do przeciwdziałania reakcji utleniania (np. liczbie wygaszonych rodników DPPH w tej metodzie) [10]. Z kolei wartość IC_{50} , definiowana jako stężenie próbki powodujące 50% zahamowanie aktywności rodnika, stanowi parametr porównawczy siły działania przeciwutleniającego – im niższa jej wartość, tym wyższa aktywność antyoksydacyjna [61].

Podsumowanie

Naparom ziołowym przypisuje się liczne właściwości prozdrowotne, które są związane z obecnymi w nich antyoksydantami. Dzięki zdolności do neutralizacji WR i RFT mogą one odgrywać istotną rolę w ochronie organizmu przed stresem oksydacyjnym, który przyczynia się do rozwoju wielu chorób. Regularne spożywanie naparów ziołowych może wspierać funkcjonowanie układu sercowo-naczyniowego, nerwowego oraz immunologicznego, a także wykazywać działanie przeciwnowotworowe i przeciwnowotworowe.

Przedstawione w artykule informacje podkreślają znaczenie naparów jako naturalnego źródła antyoksydantów oraz wskazują na konieczność dalszych badań nad ich składem, biodostępnością i mechanizmami działania. Lepsze zrozumienie tych aspektów może przyczynić się do bardziej efektywnego wykorzystania naparów ziołowych w profilaktyce zdrowotnej.

PODZIĘKOWANIA

Wkład autora T. W. został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki (UMO-2022/47/D/ST7/02938).

Literatura

- [1] Nakai K., Kozo D., What are reactive oxygen species, free radicals, and oxidative stress in skin diseases? *International Journal of Molecular Sciences* 2021, 22(19), s. 10799.
- [2] Łuczewska A., Reactive oxygen species-physiological and pathological function in the human body, *Reumatologia*, 2007, 45(5), s. 284–289.
- [3] Puzzino G., Irrera N., Cucinotta M., Pallio G., Mannino F., Arcoraci V., Squadrito F., Altavilla D., Bitto A., Oxidative stress: harms and benefits for human health, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, s. 8416763.
- [4] Phaniendra A., Jestadi D. B., Free radicals: Properties, sources, targets, and their implication in various diseases, *Indian Journal Clinical Biochemistry*, 2015, 30, s. 11–26.
- [5] Pham-Huy L. A., He H., Free radicals, antioxidants in disease and health, *International Journal of Biomedical Science*, 2008, 4(2), s. 89–96.
- [6] Ağagündüz D., Determination of the total antioxidant and oxidant status of some galactagogue and herbal teas, *Food Science and Human Wellness*, 2020, 9(4), s. 377–382.
- [7] Flieger J. i wsp., Antioxidants: classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles, *Materials*, 2021, 14(15), s. 4135.
- [8] Abali E. E., Flieger W., Baj J., Maciejewski R., Lippincott illustrated reviews: Biochemistry, (red. wyd. pol.) D. Chlubek, Edra Urban & Partner, Wrocław 2024.
- [9] Bańkowski E., Biochemia. Podręcznik dla studentów uczelni medycznych, Edra Urban & Partner, Wrocław 2004.
- [10] Zych I., Krzepińko A., Pomiar całkowitej zdolności antyoksydacyjnej wybranych antyoksydantów i naparów metodą redukcji rodnika DPPH, *Chemia Dydaktyka Ekologia Metrologia*, 2010, 1(15), s. 51–54.
- [11] Puzanowska-Tarasiewicz H. i wsp., Antyoksydanty a reaktywne formy tlenu, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2010, 1, s. 9–14.
- [12] Falkowski M., Kuźmicka L., Tarasiewicz M., Stres oksydacyjny w jamie ustnej – przyczyny i konsekwencje [w:] *Holistyczny wymiar współczesnej medycyny*. T. 1, (red.) E. Krajewska-Kułak C. Łukaszuk, J. Lewko, W. Kułak, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku 2015.
- [13] Jain A., Mehra N. K., Swarnakar N. K., Role of antioxidants for the treatment of cardiovascular diseases: Challenges and opportunities, *Current Pharmaceutical Design*, 2015, 21, s. 4441–4455.
- [14] Fuchs-Tarlovsky V., Role of antioxidants in cancer therapy, *Nutrition*, 2013, 29(1), s. 15–21.
- [15] Addor F., Antioxidants in dermatology, *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 2017, 92(3), s. 356–362.
- [16] Karre L., Lopez K., Getty K. J., Natural antioxidants in meat and poultry products, *Meat Science*, 2013, 94(2), s. 220–227.

- [17] Wnęk D., Antyoksydanty – rola, podział i właściwości, 2023, <https://www.mp.pl/pacjent/dieta/zasady/331612,antyoksydanty-rola-podzial-i-wlasciwosci> (22.04.2025).
- [18] Chandra P., Sharma R. K., Arora D. S., Antioxidant compounds from microbial sources: A review, *Food Research International*, 2020, 129, s. 108849.
- [19] Das A. K., Islam N., Faruk O., Dungani A. R., Review on tannins: extraction processes, applications and possibilities, *South African Journal of Botany*, 2020, 135, s. 58–70.
- [20] Chan E. W. C., Soh E. Y., Tie P. P., Law Y. P., Antioxidant and antibacterial properties of green, black, and herbal teas of *Camellia sinensis*, *Pharmacognosy Research*, 2011, 3(4), s. 266–272.
- [21] Ambigaipalan P., Oh W. Y., Shahidi F., Epigallocatechin (EGC) esters as potential sources of antioxidants, *Food Chemistry*, 2020, 309, s. 125609.
- [22] Leung L. K., Su Y., Chen R., Zhang Z., Huang Y., Chen Z. Y., Theaflavins in black tea and catechins in green tea are equally effective antioxidants, *The Journal of Nutrition*, 2001, 131(9), s. 2248–2251.
- [23] Pobłocka-Olech L., Marcinkowska K., Krauze-Baranowska M., Naryngenina i jej pochodne – flawanony o wielokierunkowej aktywności farmakologicznej, 2006, www.czytelniamedyczna.pl (22.04.2025).
- [24] Sarnowska M., Gawron-Gzella A., Rooibos (*Aspalathus linearis* (Burm. f.) R. Dahlgren) – substancje biologicznie aktywne i działanie farmakologiczne, *Postępy Fitoterapii*, 2016, 3, s. 189–199.
- [25] Sokół-Łętowska A., Kucharska A., Comparison of the quality of mint teas available in the retail network, *Herbalism*, 2020, 1(6), s. 32–43.
- [26] Domańska A., Mertas A., Król W., Flawonoidy jako środki przeciwzapalne w leczeniu chorób przyzębia, *Postępy Fitoterapii*, 2008, 1, s. 32–36.
- [27] Wilczyńska A., Retel M., Oszacowanie pobrania związków fenolowych z dietą z uwzględnieniem udziału miodów pszczelich, *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 2011, 92(4), s. 709–712.
- [28] Kozłowska M., Czeakała Ł., Stilbenes and their role in disease resistance, *Progress in Plant Protection*, 2017, 57(1), s. 27–35.
- [29] Włodarczyk M., Fitochemia. Struktury substancji pochodzenia naturalnego: skrypt do nauki farmakognozji dla studentów farmacji, Katedra i Zakład Farmakognozji Akademii Medycznej we Wrocławiu, Wrocław 2007.
- [30] Murray R. K., Granner D. K., Rodwell V. W., *Biochemia Harpera ilustrowana*, PZWL, Warszawa 2017.
- [31] Yan Z., Zhong Y., Duan Y., Chen Q., Li F., Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits, *Animal Nutrition*, 2020, 6(2), s. 115–123.
- [32] Bešlo D., Golubić N., Rastija V., Agić D., Karnaš M., Šubarić D., Lučić B., Antioxidant activity, metabolism, and bioavailability of polyphenols in the diet of animals, *Antioxidants*, 2023, 12(6), s. 1141.
- [33] Flórez M., Cazón P., Vázquez M., Antioxidant extracts of nettle (*Urtica dioica*) leaves: Evaluation of extraction techniques and solvents, *Molecules*, 2022, 27(18), s. 6015.

- [34] Sadowska M., Świdorski F., Kromołowska R., Polifenole – źródła naturalnych przeciwutleniaczy, *Postępy Technik Przetwórstwa Spożywczego*, 2011, 1, s. 108–111.
- [35] McKay D., Blumberg J., A Review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.), *Phytotherapy research*, 2006, 20(8), s. 619–633.
- [36] Inarejos-Garcia A. M., Heil J., Martorell P., Álvarez B., Llopis S., Helbig I., Liu J., Quebbeman B., Nemeth T., Holmgren D., Morlock G. E., Effect-directed, chemical and taxonomic profiling of peppermint proprietary varieties and corresponding leaf extracts, *Antioxidants*, 2023, 12(2), s. 476.
- [37] Draginic N., Andjic M., Jeremic J., Zivkovic V., Kocovic A., Tomovic M., Bozin B., Kladar N., Bolevich S., Jakovljevic V., Milosavljevic I., Anti-inflammatory and antioxidant effects of *Melissa officinalis* extracts: A comparative study, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2022, 2(1), e126561.
- [38] Miraj S., Rafieian-Kopaei M., Kiani S., *Melissa officinalis* L: A review study with an antioxidant prospective, *Journal of Evidence-based Complementary & Alternative Medicine*, 2017, 22(3), s. 385–394.
- [39] Lana Y. M., Sarguul H. S., Aveen N. A., *Melissa officinalis* gastroprotective and antioxidant efficacy, *Journal of Functional Foods*, 2023, 105, s. 105550.
- [40] Shonte T. T., Duodu K. G., de Kock H. L., Effect of drying methods on chemical composition and antioxidant activity of underutilized stinging nettle leaves, *Heliyon*, 2020, 6(5), e03938.
- [41] Bhusal K. K., Magar S. K., Thapa R., Lamsal A., Bhandari S., Maharjan R., Shrestha S., Shrestha J., Nutritional and pharmacological importance of stinging nettle (*Urtica dioica* L.): A review, *Heliyon*, 2022, 8(6), e09717.
- [42] Repajić M., Cegledi E., Zorić Z., Pedisić S., Elez Garofulić I., Radman S., Palčić I., Dragović-Uzelac V., Bioactive compounds in wild nettle (*Urtica dioica* L.) leaves and stalks: Polyphenols and pigments upon seasonal and habitat variations, *Foods*, 2021, 10(1), s. 190.
- [43] Srivastava J. K., Shankar E., Gupta S., Chamomile: A herbal medicine of the past with a bright future, *Molecular medicine reports*, 2010, 3(6), s. 895–901.
- [44] Gerolis L. G. L., Lameiras F. S., Krambrock K., Neves M. J., Effect of gamma radiation on antioxidant capacity of green tea, yerba mate, and chamomile tea as evaluated by different methods, *Radiation Physics and Chemistry*, 2017, 130, s. 177–185.
- [45] Tomac I., Budić L., Bobovec J., Jakobek L., Matić P., Determination of sage tea polyphenols and their antioxidant effects using an electrochemical DNA-based biosensor, *Beverages*, 2023, 9(3), s. 76.
- [46] Walch S. G., Tinzoh L. N., Zimmermann B. F., Antioxidant capacity and polyphenolic composition as quality indicators for aqueous infusions of *Salvia officinalis* L. (sage tea), *Frontiers in Pharmacology*, 2011, 2, s. 79.
- [47] İlyasoglu H., Zemzemoğlu T. E. A., Effect of brewing conditions on sensorial and antioxidant properties of sage tea, *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 2022, 25, s. 214–221.

- [48] Poullos E., Giaginis C., Vasios G. K., Current state of the art on the antioxidant activity of sage (*Salvia* spp.) and its bioactive components, *Planta medica*, 2020, 86(4), s. 224–238.
- [49] Ağagündüz D., Determination of the total antioxidant and oxidant status of some galactagogue and herbal teas, *Food Science and Human Wellness*, 2020, 9(4), s. 377–382.
- [50] Zhao C. N., Tang G. Y., Cao S. Y., Xu X. Y., Gan R. Y., Liu Q., Mao Q. Q., Shang A., Li H. B., Phenolic profiles and antioxidant activities of 30 tea infusions from green, black, oolong, white, yellow and dark teas, *Antioxidants*, 2019, 8(7), s. 215.
- [51] Pisoschi A., Negulescu G., Methods for total antioxidant activity determination: A review, *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 2012.
- [52] Blois M. S., Antioxidant determinations by the use a stable free radical, *Nature*, 1958, s. 1199–1200, 11(1).
- [53] Pisoschi A. M., Cheregi M. C., Danet A. F., Total antioxidant capacity of some commercial fruit juices: Electrochemical and spectrophotometrical approaches, *Molecules*, 2009, 14(1), s. 480–493.
- [54] Miller N. J., Rice-Evans C., Davies M. J., Gopinathan V., Milner A., A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates, *Clinical Science*, 1993, 84(4) s. 407–412.
- [55] Silvestrini A., Meucci E., Ricerca B. M., Mancini A., Total antioxidant capacity: biochemical aspects and clinical significance, *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(13), 10978.
- [56] Usda J. M., Oxidative stress status in vivo total antioxidant capacity: Comparison of different analytical methods, *Free Radical Biology & Medicine*, 1999, 27(11–12), s. 1173–1181.
- [57] Gupta S., Meucci E., Ricerca B. M., Mancini A., Total antioxidant capacity – relevance, methods and clinical implications, *Andrologia*, 2021, 53(2), e13624.
- [58] Molyneux P., The use of the stable radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Journal of Science & Technology*, 2004, 26(2), s. 211–219.
- [59] Rice-Evans C. A., Miller N. J., Bolwell P. G., Bramley P. M., Pridham J. B., The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids, *Free Radical Research*, 1995, 22(4), s. 375–383.
- [60] Chanput W., Krueyos N., Ritthiruangdej P., Anti-oxidative assays as markers for anti-inflammatory activity of flavonoids, *International Immunopharmacology*, 2016, 40, s. 170–175.
- [61] Ye Y., Krueyos N., Ritthiruangdej P., Quality analysis and antioxidant activity of different types of tea powder, *Food Production, Processing and Nutrition*, 2024, 6(36).