

<https://doi.org/10.56583/frp.2543>

**Barbara Bacler-Żbikowska\***

*Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach*

<https://orcid.org/0000-0003-4139-6307>

**Magdalena Zdybel\*\***

*Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach*

<https://orcid.org/0000-0001-6133-8353>

**Barbara Pilawa\*\*\***

*Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach*

<https://orcid.org/0000-0003-4806-7805>

**Ewa Chodurek\*\*\*\***

*Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach*

<https://orcid.org/0000-0002-1628-9537>

**Gabriela Woźniak\*\*\*\*\***

*Uniwersytet Śląski w Katowicach*

<https://orcid.org/0000-0003-1936-2880>

**Renata Gaj\*\*\*\*\***

*Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich – PIB Poznań,*

*Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu*

<https://orcid.org/0000-0002-8531-7271>

---

\* Barbara Bacler-Żbikowska – doktor nauk farmaceutycznych, adiunkt, pracownik badawczo-dydaktyczny Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej i Zielarstwa.

\*\* Magdalena Zdybel – doktor habilitowany nauk medycznych, adiunkt badawczo-dydaktyczny Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Katedra i Zakład Biofizyki.

\*\*\* Barbara Pilawa – profesor doktor habilitowany nauk fizycznych, kierownik Katedry, profesor badawczo-dydaktyczny Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Katedra i Zakład Biofizyki.

# PORÓWNANIE WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNYCH EKSTRAKTÓW ROŚLINNYCH Z SUROWCÓW LECZNICZYCH POZYSKANYCH Z SIEDLISK ZABURZONYCH NA PRZYKŁADZIE GATUNKÓW Z RODZINY *ERICACEAE*

## Streszczenie

Niniejsza praca przedstawia wstępny kierunek badań nad możliwością wykorzystania siedlisk zaburzonych, jakimi są nasypy i strefy przeciwpożarowe linii kolejowych na siedliska zastępcze dla cennych gatunków leczniczych flory naczyniowej oraz jako potencjalnego źródła surowca leczniczego o działaniu antyoksydacyjnym. Właściwości przeciwutleniające wodnych ekstraktów z liści mącznicy lekarskiej *Arctostaphylos uva-ursi*, borówki brusznicy *Vaccinium vitis-idaea* i borówki czarnej *Vaccinium myrtillus* zbadano za pomocą wolnych rodników DPPH, spektroskopii EPR i spektrofotometrii UV-Vis. Potwierdzono silniejsze właściwości przeciwutleniające ekstraktów wodnych uzyskanych z surowców roślinnych pozyskanych z siedlisk zaburzonych w pasie przeciwpożarowym linii kolejowej. Napary uzyskane z surowców roślinnych pozyskanych z siedlisk zaburzonych neutralizowały wolne rodniki silniej niż napary z odpowiednich aptecznych surowców kontrolnych. Najsilniejsze właściwości przeciwutleniające stwierdzono w przypadku naparu z *Arctostaphylos uva-ursi*, a najslabsze w przypadku naparu z *Vaccinium myrtillus*. Wykazano także, że w przypadku siedlisk zaburzonych napar z *Arctostaphylos uva-ursi* najszybciej wygasza wolne rodniki, natomiast najwolniej oddziałuje z wolnymi rodnikami napar z *Vaccinium vitis-idaea*. Uzyskane wyniki spektroskopowe wskazują na potencjalne możliwości wykorzystania naturalnych surowców pochodzących z siedlisk zaburzonych, o zwiększonej ekspozycji na promieniowanie UV, do produkcji ekstraktów leczniczych o silnych właściwościach przeciwutleniających.

**Słowa kluczowe:** rośliny lecznicze, *Ericaceae*, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Vaccinium vitis-idaea*, *Vaccinium myrtillus*, wolne rodniki, antyoksydanty, EPR, UV-Vis

\*\*\*\* Ewa Chodurek – doktor habilitowany nauk farmaceutycznych, prodziekan WNF, profesor SUM badawczo-dydaktyczny Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Katedra i Zakład Biofarmacji.

\*\*\*\*\* Gabriela Woźniak – doktor habilitowany nauk biologicznych, profesor UŚ, pracownik badawczo-dydaktyczny Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach, Wydział Nauk Przyrodniczych, Instytut Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska.

\*\*\*\*\* Renata Gaj – profesor doktor habilitowany nauk rolniczych, pracownik badawczo-dydaktyczny, Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich -PIB Poznań, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Chemii Rolnej i Biogeochemii Środowiska.

## COMPARISON OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF PLANT EXTRACTS FROM MEDICINAL RAW MATERIALS OBTAINED FROM DISTURBED HABITATS ON THE EXAMPLES OF SPECIES FROM THE ERICACEAE FAMILY

### Abstract

This work presents a preliminary direction of research on the possibility of using disturbed habitats, such as embankments and fire zones of railway lines, as substitute habitats for valuable medicinal species of vascular flora and as a potential source of medicinal raw materials with antioxidant properties. Antioxidant properties of the water extracts from leaves of Bearberry *Arctostaphylos uva-ursi*, Cowberry *Vaccinium vitis-idaea*, and Bilberry *Vaccinium myrtillus*, were examined by the use of DPPH free radicals, EPR spectroscopy and UV-Vis spectrophotometry. Stronger antioxidant properties of water extracts obtained from plant raw materials found in dry areas with increased UV radiation intensity were confirmed. Infusions obtained from the plant materials obtained from disturbed sites neutralized free radicals more strongly than infusions of appropriate control raw materials from normal sites. The strongest antioxidant properties were found in the case of infusion from *Arctostaphylos uva-ursi*, and the weakest in the case of infusion from *Vaccinium myrtillus*. It has also been shown that infusion from *Arctostaphylos uva-ursi* quenches free radicals the fastest, while the slowest interactions with free radicals occur in the case of infusion from *Vaccinium vitis-idaea*. The obtained spectroscopic results indicate the potential possibilities of using natural raw materials from dry areas with increased exposure to UV radiation to produce medicinal extracts with strong antioxidant properties..

**Keywords:** medicinal plants, Ericaceae, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Vaccinium vitis-idaea*, *Vaccinium myrtillus*, free radicals, antioxidants, EPR, UV-Vis

~ \* ~

### Wstęp

Od zarania dziejów rośliny stanowiły dla człowieka podstawowe źródło pokarmu, ale również substancji leczniczych. Wraz z rozwojem przemysłu, głównie chemicznego i odkrywaniem nowych leków syntetycznych, zainteresowanie lekiem naturalnym zaczęło spadać. W ostatnich latach popularność naturalnych substancji wykorzystywanych przez przemysł farmaceutyczny i kosmetyczny stale rośnie, co obserwujemy w wielu rejonach świata<sup>1</sup>. Obecnie w Polsce

<sup>1</sup> B. Bacler-Żbikowska, A. Stebel, *Katalog roślin leczniczych aktualnie dopuszczonych do stosowania w medycynie konwencjonalnej w Polsce: różnorodność gatunkowa, pochodzenie, zastosowanie, problemy zrównoważonego pozyskiwania i ochrona*, „Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach”, Katowice 2023.

około 20% surowca leczniczego pochodzi ze stanowisk naturalnych<sup>2</sup>. Wraz ze wzrostem zainteresowania lekiem naturalnym rośnie presja przemysłu farmaceutycznego na środowisko przyrodnicze. Stwarza to poważne zagrożenie dla występowania niektórych gatunków leczniczych w przyrodzie. Konsekwencją m.in., nadmiernego i niekontrolowanego pozyskiwania surowców leczniczych ze stanowisk naturalnych jest drastyczne zubażanie naturalnych zasobów gatunków leczniczych, w skrajnych przypadkach prowadzące nawet do zaniku stanowisk<sup>3</sup>. Poważnym zagrożeniem naturalnych zasobów roślin leczniczych jest działalność gospodarcza, fragmentacja siedlisk i zaburzenia naturalnych siedlisk, w tym wielu cennych roślin użytkowych, z uwzględnieniem roślin leczniczych. Wiele gatunków adaptuje się do nowych siedlisk zastępczych zmienionych lub powstałych w związku z m.in., eksploatacją surowców mineralnych. Przykładem mogą być ciągi komunikacyjne i ich bezpośrednie otoczenie np. linie kolejowe. Do ich remontu wykorzystuje się surowce mineralne. Linie kolejowe często przecinają siedliska naturalne, w tym siedliska leśne. Sposób utrzymywania przytorzy uniemożliwia jednak odtworzenie siedlisk pierwotnych. Regularne wycinki i czyszczenia podłoża z roślinności sprzyjają zachowaniu otwartego charakteru terenu. Siedliska zastępcze bardzo często stwarzają dla roślin warunki stresogenne. W przypadku nasypów kolejowych i ich najbliższego otoczenia warunki stresogenne są to przede wszystkim intensywne nasłonecznienie, duże wahania temperatur, niedobór składników odżywczych oraz niedobory wody wynikające z małej zawartości składników próchnicznych i dużej przepuszczalności podłoża, a nawet obecności systemów odwadniających, zabezpieczających torowisko przed zalaniem. Wczesniejsze badania wskazują, że warunki stresu środowiskowego przyczyniają się do powstania stresu oksydacyjnego powodującego wzrost w komórkach roślinnych zawartości wolnych rodników. Te z kolei stymulują rośliny do rozmaitych działań mających na celu obniżenie zawartości reaktywnych form tlenu, w tym do wydzielania większej ilości substancji antyoksydacyjnych (przeciwutleniaczy)<sup>4</sup>. Antyoksydanty pochodzenia roślinnego mają szerokie zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym.

<sup>2</sup> J.A. Kozłowski, T. Wielgosz, J. Nawrot, G. Nowak, R. Dawid-Pać, S. Kuczyński, *Zielarnia. Jak czerpać ze skarbów natury*, Poznań 2019.

<sup>3</sup> J. Gawłowska red., *Stan zagrożenia oraz warunki zabezpieczenia naturalnych zasobów roślin leczniczych*, Warszawa 1984; B. Bacler-Żbikowska, *Flora roślin naczyniowych Obniżenia Małej Panwi we wschodniej części Równiny Opolskiej*, „Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach”, Katowice 2015; J. Matras, *Program ochrony leśnych zasobów genowych*, „Zeszyty problemowe postępów nauk rolniczych” 1998, 463, s.123-126.

<sup>4</sup> Z. Starck, *Reakcje roślin na abiotyczne stresy środowiskowe - aklimatyzacja i adaptacja*, „Łąkarstwo w Polsce”, 2005, 8, s. 173-184; G. N. Chupakhina, P. V. Maslennikov, L. N. Skrypnik, N. Y. Chupakhina, R. L. Poltavskaya, P. V. Feduraev, *The influence of the Baltic region conditions on the accumulation of water-soluble antioxidants in plants*, „Russian Chemical Bulletin”, 2014, 63, s. 1946-1953.

Zapobiegają bowiem m.in. procesowi starzenia (działanie *anti-aging*), a także powstawaniu wielu niebezpiecznych dla życia chorób, w tym rozwojowi chorób nowotworowych<sup>5</sup>.

Podczas badań terenowych nad naturalnymi zasobami roślin leczniczych Polski południowej odkryto, że nasypy kolejowe i strefa przeciwpożarowa linii kolejowych stała się siedliskiem zastępczym dla cennych roślin leczniczych, w tym rzadkiej i chronionej mącznicy lekarskiej *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., a także spokrewnionych z nią borówki brusznicy *Vaccinium vitis-idaea* L. i borówki czarnej *Vaccinium myrtillus* L., należących do rodziny wrzosowatych *Ericaceae* Juss<sup>6</sup>.

Mącznica lekarska *Arctostaphylos uva-ursi* (ryc. 1 i 2) to zimozielona krzewinka o rozestłanych pędach do 1 m długości, o ulistnieniu skrętoległym. Młode gałązki są delikatnie owłosione. Łopatkowe, skórzaste, ciemnozielone liście, z wierzchu wyraźnie błyszczące o długości od 1,5 do 3 cm mają wyraźnie siateczkowatą nerwicę. Kwiaty wyrastają po 4-5 na krótkich zwisających szypułkach na końcach gałązek. Korona jest jasnoróżowa lub biała, długości 3-4 mm, beczułkowata, z 5 krótkimi ząbkami. Owocami są czerwone jagody o mączystym miąższu, zawierające po 5 nasion<sup>7</sup>.

<sup>5</sup> M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M. T. D. Cronin, M. Mazur, J. Tesler, *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease*, „The International Journal of Biochemistry & Cell Biology” 2007, 39(1), s. 44-84; M. Karbarz, *Źródła powstawania i oddziaływanie środowiskowe wolnych rodników*, „Zeszyty Naukowe SGSP” 2010, 40, s. 59-67; P. Ata, S.T. Majewski, *Fotostarzenie skóry*, „Przegląd Dermatologiczny” 2013, 100(3), s. 178-183; M. Białek, M. Czauderna, *Budowa chemiczna oraz funkcje fizjologiczne wybranych antyoksydantów*, „Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk”, Jabłonna 2016; B. Pilawa, M. Zdybel, E. Chodurek, *Application of electron paramagnetic resonance spectroscopy to examine free radicals in melanin polymers and the human melanoma malignum cells*, w: „Melanin”, red. Blumenberg M., „InTech”, Rijeka 2017; M. Skotnicka, M. Golan, N. Szmukała, *Rola naturalnych przeciwutleniaczy pochodzenia roślinnego w profilaktyce nowotworowej*, „Annales Academiae Medicae Gedanensis”, 2017, 47, s. 119-127; M. Zdybel, E. Chodurek, B. Pilawa, *Effect of simvastatin in different concentrations on free radicals in A-2058 human melanoma malignum cells - EPR studies*, „Journal of Cellular Biochemistry”, 2019, 120(2), s. 2483-2492; H. Alkadi, *A Review on free radicals and antioxidants*, „Infectious Disorders - Drug Targets” 2020, 20(1), s. 16-26; G. Bartosz, *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*, Warszawa 2021.

<sup>6</sup> B. Bacler, *Zasoby gatunkowe cennych roślin leczniczych powiatu włoszczowskiego. Część I - mącznica lekarska *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.*, „Annales Academiae Medicae Silesiensis”, 2009, 63(3), s. 33-37; A. Stebel, B. Bacler-Zbikowska, J. Drobnik, *Interesting locality of medicinal plant *Arctostaphylos uva-ursi* (Ericaceae) in Silesia Province (Poland)*, „Casopis Slezského zemského muzea, Série A, Vědy přírodní”, 2013, 62, s. 190-192; K. Kowalik, B. Bacler-Zbikowska, *Nowe stanowiska *Arctostaphylos uva-ursi* (Ericaceae) na siedliskach antropogenicznych w Obniżeniu Górnej Warty (Wyzyna Woźnicko-Wieluńska)*, „Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica”, 2016, 23(2), s. 362-364.

<sup>7</sup> H. Piękoś-Mirkowa, Z. Mirek, *Rośliny chronione*, Warszawa 2006; L. Witkowska-Żuk, *Atlas roślinności lasów. Flora Polski*, Warszawa 2008.



Rycina 1. Owocująca mącznica lekarska *Arctostaphylos uva-ursi* (fot. B. Bacler-Żbikowska).

*Arctostaphylos uva-ursi* jest gatunkiem o zasięgu cyrkumborealnym, rozprze-strzenionym w Europie (z wyjątkiem najbardziej południowej części), w północnej Azji i Ameryce Północnej. W Polsce osiąga południową i południowo-zachodnią granicę zwartego zasięgu. Występuje głównie w północnej części, ku południu coraz rzadziej, w górach sporadycznie. Rośnie głównie na obrzeżach borów sosnowych, w sosnowych młodnikach, na przydrożnych skarpach, na wrzosowiskach i w murawach bliźniczkowych. W Tatrach i na Jurze Krakowsko-Częstochowskiej występuje bardzo rzadko w miejscach nasłonecznionych, na skałach wapiennych, zwykle na ich szczytach. Liczba jej stanowisk, zwłaszcza na południu, szybko spada<sup>8</sup>. Objęta jest w Polsce ścisłą ochroną gatunkową<sup>9</sup>. Surowcem leczniczym pozyskiwanym z mącznicy lekarskiej jest liść *Uvae ursi folium* stosowany jako *urodesinficiens* w zakażeniach bakteryjnych dróg moczowych m.in. w zapaleniu kłębków nerkowych (*glomerulitis*), miedniczek nerkowych (*pyelitis*), w odmiedniczkowym zapaleniu nerek (*pyelonephritis*) i zapaleniu

<sup>8</sup> J. Gawłowska, *Mącznica lekarska – Arctostaphylos uva-ursi L. w Polsce, jej zasoby i ochrona*. „Ochrona Przyrody”, 1964, 30, s. 23–50; A. Zając, M. Zając red., *Atlas rozmieszczenia roślin naczyniowych w Polsce*, „Pracownia Chorologii Komputerowej Instytutu Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego”, Kraków 2001; H. Piękoś-Mirkowa, Z. Mirek, *Mącznica lekarska Arctostaphylos uva-ursi (L.) Spreng*, w: „Czerwona Księga Karpat Polskich. Rośliny naczyniowe”, red. Z. Mirek i H. Piękoś-Mirkowa, Kraków 2008, 164–165; B. Bacler, *Zasoby gatunkowe cennych roślin leczniczych powiatu włoszczowskiego. Część 1 – mącznica lekarska Arctostaphylos uva-ursi (L.) Spreng*, „Annales Academiae Medicae Silesiensis”, 2009, 63(3), s. 33–37; A. Stebel, B. Bacler-Żbikowska, *Występowanie Arctostaphylos uva-ursi (Ericaceae) w województwie śląskim*, „Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica”, 2019, 26(1), s. 3–13.

<sup>9</sup> Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 października 2014 r. w sprawie ochrony gatunkowej roślin (Dz. U. 2014 poz. 1409).

pęcherza (*cystitis*). Z ważniejszych związków biologicznie czynnych w surowcu stwierdzono obecność glikozydów fenolowych, m.in. arbutyny (do 12%), garbników estrowych (6-20%), kwasów polifenolowych, m.in. chinowego, elagowego i galusowego (do 6%), flawonoidów, m.in. hiperozydu, kwercytyny i mirycetyny (do 1,5%) i trójterpenów, m.in. kwasu ursolowego<sup>10</sup>.

Borówka brusznica *Vaccinium vitis-idaea* (ryc. 2) to zimozielona krzewinka bardzo podobna do *Arctostaphylos uva-ursi* i często w terenie z nią mylona. Zimozielone, całobrzegie, odwrotnie jajowate liście różnią się od mącznicy lekarskiej przede wszystkim unerwieniem liścia. U borówki brusznicy jest ono pierzaste z wyraźnie wgłębionym nerwem głównym w przeciwieństwie do wyraźnie siateczkowatego unerwienia liści mącznicy lekarskiej. Ponadto liście *Vaccinium vitis-idaea* z wierzchu są bardziej matowe, a na spodniej stronie pokryte są licznymi gruczołkami widocznymi jako kropkowanie. Kwiaty pojawiają się na szczytach pędu po kilka w zwisających gronach. Zrosłopłatkowa różowobiała korona z odwiniętymi prawie do połowy ząbkami osiąga długość do 6 mm. Owocem jest czerwona jagoda<sup>11</sup>. *Vaccinium vitis-idaea* występuje w całej Europie oraz strefie klimatu umiarkowanego Azji i Ameryki Północnej. W Polsce pospolicie spotykana jest na niżu i w górach do 2400 m n.p.m.<sup>12</sup>. Jest gatunkiem kwasolubnym, charakterystycznym dla wszystkich borów szpilkowych i mieszanych, ale jest również spotykana w ciepłolubnych dąbrowach i olsach. Rośnie także na torfowiskach i wrzosowiskach<sup>13</sup>. Stosowany w lecznictwie liść borówki brusznicy *Vitis idaeae folium* ma skład bardzo podobny to liścia mącznicy lekarskiej i zawiera głównie glikozydy fenolowe, w tym arbutynę i hydrochinon (do 7%), garbniki katechinowe (do 10%), flawonoidy - kwercetynę i mirycetynę, triterpeny (kwas ursolowy)<sup>14</sup>. Surowiec stosowany jest podobnie jak *Arctostaphylos uva-ursi* w schorzeniach dróg moczowych *urodesinficiens*. Został wprowadzony w Polsce jako zamiennik *Uvae ursi folium* ze względu na zanikanie stanowisk *Arctostaphylos uva-ursi* i w związku z objęciem gatunku ścisłą ochroną, co uniemożliwia pozyskiwanie surowca dla przemysłu farmaceutycznego<sup>15</sup>.

<sup>10</sup> E. Lamer-Zarawska, B. Kowal-Gierczak, J. Niedworok red., *Fitoterapia i leki roślinne*, Warszawa 2014; *Farmakopea Polska XIII*, „Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych”, Warszawa 2023.

<sup>11</sup> L. Rutkowski, *Klucz do oznaczania roślin naczyniowych Polski niżowej*, Warszawa 2004, s. 351; L. Witkowska-Żuk, *Atlas roślinności lasów. Flora Polski*, Warszawa 2008.

<sup>12</sup> Tamże.

<sup>13</sup> W. Matuszkiewicz, *Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych*, Warszawa 2023.

<sup>14</sup> E. Lamer-Zarawska, B. Kowal-Gierczak, J. Niedworok red., *Fitoterapia i leki roślinne*, Warszawa 2014.

<sup>15</sup> D. Frohne, *Leksykon roślin leczniczych*, Wrocław 2010, s. 520-521; E. Lamer-Zarawska, B. Kowal-Gierczak, J. Niedworok red., *Fitoterapia i leki roślinne*, Warszawa 2014; EMA: European Medicines Agency, <https://www.ema.europa.eu/en> [dostęp: 30.12.2023]; ESCOP: European Scientific Cooperative on Phytotherapy, <https://escop.com> [dostęp: 30.12.2023];



Rycina 2. Borówka brusznica *Vaccinium vitis-idaea* (prawy górny róg) w porównaniu z mącznicą lekarską *Arctostaphylos uva-ursi* (lewy dolny róg) na stanowisku pod Włoszczową (fot. B. Bacler-Żbikowska).

Borówka czarna *Vaccinium myrtillus* (ryc. 3) to krzewinka dorastająca do 60 cm wysokości o nagiej silnie rozgałęzionej łodydze. Cienkie, odwrotnie jajowate liście o drobno ząbkowanym brzegu i nerwacji pierzastej opadają na zimę. Kubeczkowate, czerwonozielone kwiaty o 6 mm koronie wyrastają na 5 mm szypułkach w kątach liści. Dwa razy dłuższy od zrosniętych pylnikami pręcików słupek lekko wystaje z korony. Owocem jest czarno zabarwiona jagoda pokryta niebieskawym woskowym nalotem i z czerwono-fioletowym miąższem zawierająca około 20 nasion<sup>16</sup>. Stanowiska borówki czarnej obejmują zwartym zasięgiem północną i środkową Europę oraz wschodnią Azję. W Ameryce Północnej gatunek rośnie na Grenlandii, w południowo-zachodniej części Kanady i w zachodniej części USA<sup>17</sup>. W Polsce *Vaccinium myrtillus* jest gatunkiem pospolitym w całym kraju, jednak jej największe skupienia znajdują się na południu. Są również miejsca w naszym kraju, gdzie gatunek nie występuje tj. m.in. na Żuławach Wiślanych, i lokalnie na Podlasiu i Mazowszu<sup>18</sup>.

*Farmakopea Polska XIII*, „Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych”, Warszawa 2023.

<sup>16</sup> L. Rutkowski, *Klucz do oznaczania roślin naczyniowych Polski niżowej*, Warszawa 2004, s. 351; H. Strzelec, J. Kowalski red., *Encyklopedia zielarstwa i ziołolecznictwa*, Warszawa 2000.

<sup>17</sup> POWO: Plants of the World Online “Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew”, <http://www.plantsoftheworldonline.org/> [dostęp: 30.12.2023].

<sup>18</sup> A. Zając, M. Zając red., *Atlas rozmieszczenia roślin naczyniowych w Polsce*, „Pracownia Chorologii Komputerowej Instytutu Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego”, Kraków 2001.



*Vaccinium myrtillus* jest związana z siedliskami kwaśnymi, piaszczystymi, zwykle ubogimi w składniki odżywcze<sup>19</sup>. Jest gatunkiem charakterystycznym dla borów szpilkowych, jodłowych, sosnowych i świerkowych, lasów iglastych. Gatunek można spotkać również w buczynach, grądach, olsach i na wrzosowiskach<sup>20</sup>.



Rycina 3. Owocująca borówka czarna *Vaccinium myrtillus* (fot. B. Bacler-Żbikowska).

Liść borówki czarnej *Myrtilli folium* zawiera głównie garbniki katechinowe (do 20%), procyjanidyny, flawonoidy (pochodne kwercetyny i kemferolu), irydoidy, związki triterpenowe, fenolokwasy (m.in. chinowy, kawowy, salicylowy), alkaloidy chinolizydynowe (myrtynę i i epimyrtynę), garbniki, glukokininę (neomyrtylinę) oraz sole mineralne<sup>21</sup>. Przed odkryciem insuliny liście *Vaccinium myrtillus* były jednym z najczęściej stosowanych preparatów do obniżenia poziomu cukru. Badania naukowe nie potwierdziły jednak skuteczności wyciągów z liści borówki czarnej w leczeniu cukrzycy<sup>22</sup>. Obecnie wyciągi z *Myrtilli folium* stosuje się tradycyjnie odkażająco w stanach zapalnych układu moczowego (*diureticum*,

<sup>19</sup> M. Krauze-Baranowska red., *Fitofarmaceutyki oparte na dowodach naukowych kompendium leczniczych produktów ziołowych*, Warszawa 2022.

<sup>20</sup> L. Witkowska-Żuk, *Atlas roślinności lasów. Flora Polski*, Warszawa 2008; W. Matuszkiewicz, *Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych*, Warszawa 2023.

<sup>21</sup> H. Strzelec, J. Kowalski red., *Encyklopedia zielarstwa i ziołolecznictwa*, Warszawa 2000; J. Drozd, E. Anuszewska, *Czarna jagoda – perspektywy nowych zastosowań w profilaktyce i wspomaganiu leczenia chorób cywilizacyjnych*, „Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego i Narodowego Instytutu Leków w Warszawie”, Rzeszów 2013, 2, s. 226-235; D. Frohne, *Leksykon roślin leczniczych*, Wrocław 2010, s. 520-521.

<sup>22</sup> D. Frohne, *Leksykon roślin leczniczych*, Wrocław 2010, s. 520-521; A. Helmstadter, N. Schuster, *Vaccinium myrtillus as an antidiabetic medicinal plant-research through the age*, „Die Pharmazie”, 2010, 65(5), s. 315-321.

*urodesinfiens*) i w niezycie przewodu pokarmowego (*antidiarhoicum*), zewnętrznie przy stanach zapalnych skóry i śluzówek (*antiphlogisticum, bacteriostaticum*) oraz na hemoroidy (*adstringens*)<sup>23</sup>.

Wszystkie opisane surowce wykazują właściwości antyoksydacyjne<sup>24</sup>.

## Cel badań

Niniejsza praca przedstawia wstępną koncepcję badań oraz pilotażowe wyniki dotyczące możliwości wykorzystania siedlisk zaburzonych, jakimi są nasypy i strefy przeciwpożarowe linii kolejowych na siedliska zastępcze dla cennych gatunków leczniczych flory naczyniowej oraz jako potencjalnego źródła surowca leczniczego o działaniu antyoksydacyjnym.

## Materiał i metody

Nazwy polskie i łacińskie gatunków oraz przynależność do rodziny botanicznej przyjęto za Mirek i in. 2020<sup>25</sup>. Nazwy łacińskie surowców za Farmakopeę Polską XIII<sup>26</sup>.

W pracy porównano właściwości antyoksydacyjne naparów uzyskanych z liści trzech gatunków roślin z rodziny *Ericaceae* tj. mącznicy lekarskiej *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., borówki brusznicy *Vaccinium vitis-idaea* L. i borówki czarnej *Vaccinium myrtillus* L. dostępnych komercyjnie (próba kontrolna) oraz pozyskanych z siedlisk zaburzonych (próba badawcza). Próby badawcze pochodzą ze stanowiska między Włoszczową a Międzyzlesiem (woj. świętokrzyskie, GPS: N 50°52'41" E 19°57'23") na skraju boru sosnowego i drogi serwisowej w pasie przeciwpożarowym linii kolejowej, 15 m od torowiska. Materiał badawczy został pobrany do badań w sierpniu, czyli okresie optymalnym dla pozyskiwania surowca leczniczego jakim są liście. Ze względu na to, że mącznica lekarska w Polsce objęta jest ścisłą ochroną gatunkową na zbiór surowca uzyskano zgodę

<sup>23</sup> B-E. van Wyk, M. Wink, *Rośliny lecznicze świata*, Wrocław 2008; M.E. Senderski, *Prawie wszystko o ziołach*, Podkowa Leśna 2017.

<sup>24</sup> M. Then, K. Szentmihályi, Gere A., Jasztrab Sz., Szöke E., *Antioxidant Properties of Myrtilli Folium, Phaseoli Fructus Sine Seminibus and Drug Mixture Extracts*, „Acta Alimentaria” 2005, 34(2), s. 169-176; L. Raudone, G. Vilckicyte, L. Pitkauskaitė, R. Raudonis, R. Vainoriene, V. Motiekaitė, *Antioxidant Activities of Vaccinium vitis-idaea L. Leaves within Cultivars and Their Phenolic Compounds*, „Molecules” 2019, 24, s. 844; P. Sugier, Ł. Sęczyk, D. Sugier, R. Krawczyk, M. Wójcik, J. Czarnecka, S. Okoń, A. Plak, *Chemical Characteristics and Antioxidant Activity of Arctostaphylos uva-ursi L. Spreng. at the Southern Border of the Geographical Range of the Species in Europe*, „Molecules” 2021, 26, s. 7692.

<sup>25</sup> Z. Mirek, H. Piękoś-Mirkowa, A. Zając, M. Zając, *Vascular plants of Poland. An annotated checklist*, „Instytut Botaniki im. W. Szafera, Polska Akademia Nauk”, Kraków 2020.

<sup>26</sup> *Farmakopea Polska XIII*, „Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych”, Warszawa 2023.

RDOŚ w Kielcach. Surowce roślinne zebrano w ilości po 2 g dla każdego gatunku. Surowce przechowywano w postaci suchej zgodnie z zasadami przechowywania roślinnych surowców leczniczych przez okres 7 miesięcy do momentu realizacji analiz spektroskopowych.

Ekstrakt wodny uzyskano z rozdrobnionego w moździerzu porcelanowym surowca roślinnego umieszczonego w zlewce szklanej zalanego wodą destylowaną podgrzaną do temperatury 90°C, a następnie mieszanego. Układ znajdował się pod przykryciem przez 15 minut. W czasie tym kilkukrotnie mieszano zalany wodą surowiec. Po 15 minutach napar przesączano w celu rozdzielenia od pozostałości roślinnej. Następnie napary ostudzono do temperatury pokojowej, w której przeprowadzono badania ich właściwości antyoksydacyjnych.

Badania oddziaływania testowanych naparów roślinnych z wolnymi rodnikami wykonano z wykorzystaniem stabilnych wolnych rodników DPPH (1,1-difenylo-2-pikrylohydrazyl), które standardowo stosowane są w diagnostyce medycznej jako wzorzec w badaniach antyoksydantów. Modelowe wolne rodniki DPPH zakupiono w Firmie Sigma-Aldrich.

Oddziaływania wolnych rodników DPPH z naparami roślinnymi zbadano z wykorzystaniem dwóch metod: spektroskopii elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR) i spektrofotometrii UV-Vis. Widma EPR wolnych rodników DPPH rejestrowano z częstotliwością promieniowania mikrofalowego 9,3 GHz (pasmo X). Widma UV-Vis DPPH mierzono w zakresie długości fal elektromagnetycznych od 450 nm do 600 nm. Oddziaływania DPPH z antyoksydantami powodują zmniejszenie widm EPR i widm UV-Vis.

Podczas pomiarów zastosowano spektrometr EPR Firmy Radiopan (Poznań) z modulacją pola magnetycznego 100 kHz oraz system szybkiej numerycznej akwizycji danych Rapid Scan Unit Firmy Jagmar (Kraków). Widma EPR DPPH rejestrowano z niską mocą mikrofalową wynoszącą 2,2 mW, aby uniknąć efektu nasycenia linii. Całkowita moc mikrofalowa wytwarzana przez klistron wynosiła 70 mW. Widma EPR mierzono z tłumieniem mikrofalowym 15 dB. Widma EPR mierzono dla DPPH w 0,05% metanolewym roztworze wzorcowym oraz dla DPPH oddziałującego z testowanymi naparami. W badaniach zastosowano 0,05% metanolewy roztwór DPPH. Do badań EPR napary rozcieńczano 2-krotnie. Podczas pomiarów cienkościenne rurki kapilarne o średnicy wewnętrznej 1 mm z wzorcowym metylowym roztworem DPPH oraz z roztworem DPPH po dodaniu naparu, były zlokalizowane w rezonatorze spektrometru w polu magnetycznym. Indukcję pola magnetycznego  $B$  oraz częstotliwość promieniowania mikrofalowego wyznaczono miernikami Firmy EPRAD (Poznań). Dla widm EPR wolnych rodników DPPH zarejestrowanych w postaci pierwszej pochodnej absorpcji wyznaczono amplitudę linii ( $A$ ), rezonansową indukcję magnetyczną  $B_r$  oraz współczynnik rozszczepienia spektroskopowego  $g$ . Współczynnik  $g$  wyznaczono

z warunku elektronowego rezonansu paramagnetycznego<sup>27</sup>. Amplituda (A) linii EPR wolnych rodników DPPH rośnie ze wzrostem liczby wolnych rodników w roztworze metanolowym. Wskutek oddziaływania DPPH z antyoksydantem amplituda linii DPPH maleje<sup>28</sup>. W pracy wyznaczono względne amplitudy ( $A/A_{DPPH}$ ) linii EPR DPPH, gdzie  $A_{DPPH}$  oznacza wartość amplitudy linii DPPH w roztworze wzorcowym. Wartość względnej amplitudy linii EPR DPPH oddziałującego z antyoksydantem jest mniejsza od 1 ( $A/A_{DPPH} < 1$ ). Względna amplituda dla roztworu wzorcowego DPPH wynosi 1 ( $A/A_{DPPH} = 1$ ). Widma EPR mierzone i analizowano z użyciem programów spektroskopowych Firmy Jagmar (Kraków) oraz programów LabVIEW 8.5 (National Instruments, USA), Excel 2021 (Microsoft, USA) i Origin 2015 (OriginLab, USA).

Pomiary widm UV-Vis DPPH w roztworze metanolowym oraz po dodaniu naparu do roztworu wykonano z wykorzystaniem spektrofotometru Evolution 220 Firmy Thermo-Scientific (USA). Widma UV-Vis mierzone w postaci absorbancji. Wyznaczono absorbancję przy długości fali wynoszącej 515 nm. Widma UV-Vis mierzone i analizowano z użyciem programu Thermo Insight (USA). Dla widm UV-Vis wyznaczono wartości względnej absorbancji ( $Abs/Abs_{DPPH}$ ), gdzie  $Abs_{DPPH}$  oznacza absorbancję metanolowego roztworu wzorcowego DPPH, a Abs to absorbancja dla DPPH w kontakcie z naparem. Względna absorbancja dla roztworu wzorcowego DPPH wynosi 1 ( $Abs/Abs_{DPPH} = 1$ ). Względna absorbancja DPPH w kontakcie z antyoksydantem jest mniejsza od 1 ( $Abs/Abs_{DPPH} < 1$ ). Wyniki badań metodą EPR i UV-Vis przedstawiono z użyciem programów Excel 2021 (Microsoft, USA) oraz Origin 2015 (OriginLab, USA). Analizy błędów dokonano metodą różniczki zupełnej.

## Wyniki badań i dyskusja

Badania oddziaływań z wolnymi rodnikami naparów z liści pozyskanych z trzech gatunków roślin leczniczych tj. mącznicy lekarskiej *Arctostaphylos uva-ursi*, borówki brusznicy *Vaccinium vitis-idaea* i borówni czarnej *Vaccinium myrtillus* potwierdziły ich antyoksydacyjne właściwości. Napary z surowców kontrolnych oraz napary z surowców pozyskanych z siedlisk zaburzonych wygaszały wolne rodniki DPPH. Wskutek oddziaływania wolnych rodników z antyoksydantami

<sup>27</sup> J. Stankowski, W. Hilczer, *Wstęp do spektroskopii rezonansów magnetycznych*, Warszawa 2005; K. Dyrek, *Elektronowy rezonans paramagnetyczny*, w: *Fizyczne metody badań w biologii, medycynie i ochronie środowiska*, red. A. Z. Hryniewicz, E. Rokita, Warszawa 2013, s. 136-159.

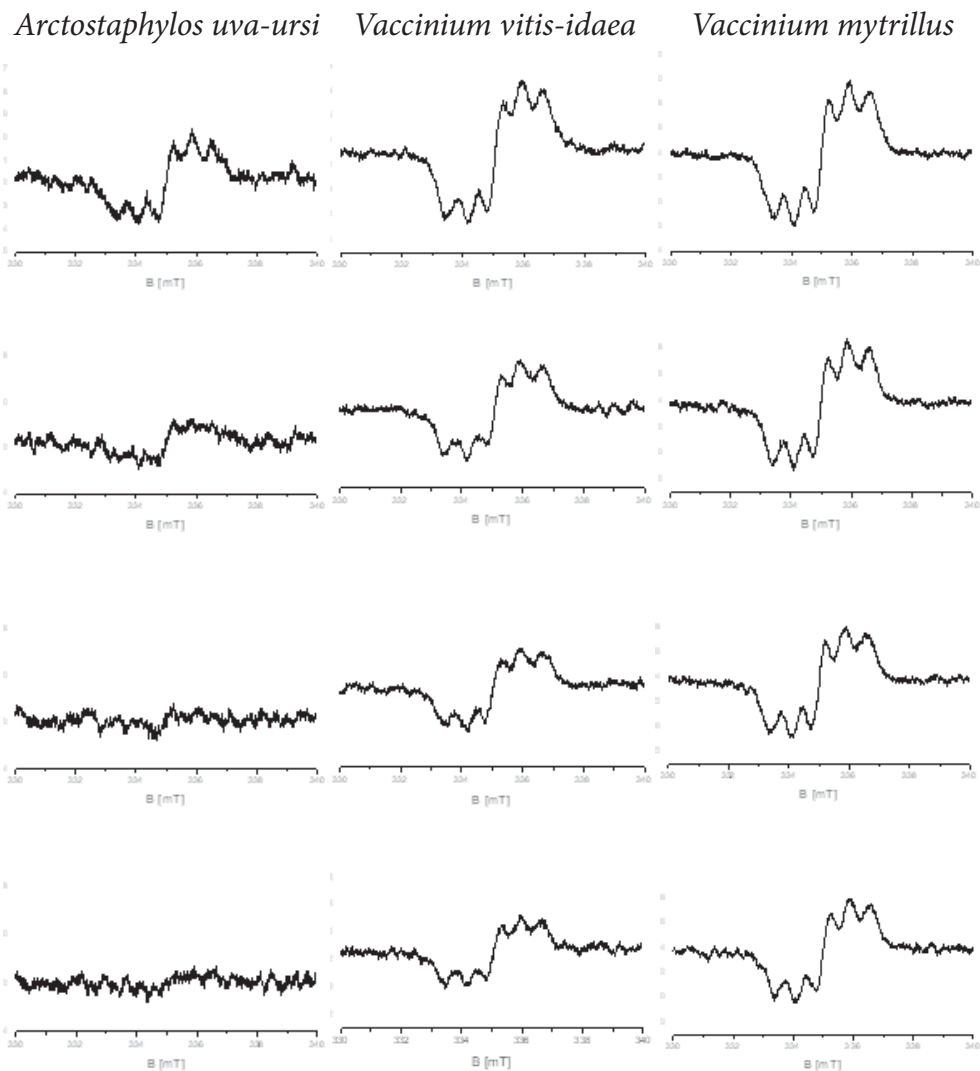
<sup>28</sup> G. Tirzis, G. Bartosz, *Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights*, „Acta Biochimica Polonica” 2010, 57(1), s. 139-142; B. Pilawa, P. Ramos, *Spektroskopia EPR. Ćwiczenia dla studentów analityki medycznej i medycyny*, „Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach”, Katowice 2017; G. Bartosz, *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*, Warszawa 2021.

maleją widma EPR, ponieważ zmniejsza się liczba niesparowanych elektronów w układzie<sup>29</sup>. Zjawisko to zaobserwowano w przypadku wszystkich badanych naparów. Mniejsza absorpcja promieniowania mikrofalowego, relatywnie do absorpcji mikrofal przez roztwór wzorcowy DPPH, wystąpiła po dodaniu poszczególnych naparów do roztworu metanolowego DPPH. Początkowo widma EPR, o wartości współczynnika  $g$  równej 2,0036, wolnych rodników DPPH po dodaniu do roztworu testowanych naparów malały. Przykładowo na rycinie 4 pokazano widma EPR wolnych rodników DPPH oddziałujących z naparami z *Arctostaphylos uva-ursi*, *Vaccinium vitis-idaea* i *Vaccinium myrtillus* z prób badawczych dla rosnących czasów oddziaływania: 5 minut (a), 20 minut (b), 40 minut (c) oraz 80 minut (d). Widma te maleją ze wzrostem czasu kontaktu DPPH z naparem, po czym utrzymują stałą wielkość. Etap zmniejszania widm EPR DPPH odnosi się do reakcji neutralizowania wolnych rodników oraz spadku liczby niesparowanych elektronów. W kolejnym etapie, kiedy widma EPR utrzymują stałą wielkość, zachodzi stabilizacja reakcji pomiędzy DPPH i naparami, a liczba niesparowanych elektronów nie zmienia się.

Zbadano także kinetykę oddziaływania wolnych rodników DPPH z naparami z testowanych surowców roślinnych. Monitorowano zmiany ilości wolnych rodników po dodaniu do roztworu metanolowego DPPH poszczególnych naparów. Wpływ czasu oddziaływania ( $t$ ) z wolnymi rodnikami na względną amplitudę ( $A/A_{\text{DPPH}}$ ) widm EPR DPPH w kontakcie z naparami z liści *Arctostaphylos uva-ursi*, *Vaccinium vitis-idaea* i *Vaccinium myrtillus*, dla surowców kontrolnych oraz dla surowców pozyskanych z siedlisk zaburzonych, przedstawiono odpowiednio na rycinach 5 i 6. Względna amplituda ( $A/A_{\text{DPPH}}$ ) widm EPR DPPH maleje ze wzrostem czasu oddziaływania z naparami, a następnie po osiągnięciu wartości minimalnej utrzymuje stałą wartość (ryc. 5 i 6).

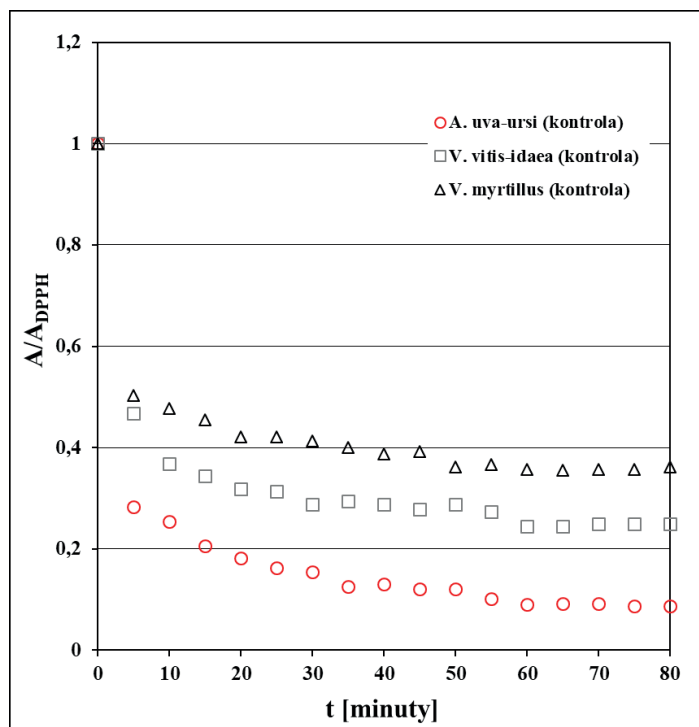
Oddziaływania wolnych rodników DPPH z naparem z *Vaccinium myrtillus* próby kontrolnej i badawczej stabilizują się po 50 minutach (ryc. 5 i 6). W tym przypadku względna amplituda ( $A/A_{\text{DPPH}}$ ) widm EPR DPPH osiąga wartość minimalną po 50 minutach i nie zmienia się w kolejnym przedziale czasowym. Względna amplituda ( $A/A_{\text{DPPH}}$ ) widm EPR DPPH w kontakcie z naparem z *Vaccinium vitis-idaea* i *Arctostaphylos uva-ursi* próby kontrolnej osiąga wartość minimalną dopiero po 60 minutach (ryc. 5). Oddziaływania antyoksydacyjne z wolnymi rodnikami naparów z *Vaccinium myrtillus* próby kontrolnej zachodzą szybciej aniżeli oddziaływania naparów z próby kontrolnej *Vaccinium vitis-idaea*, czy *Arctostaphylos uva-ursi*.

<sup>29</sup> G. Tirzis, G. Bartosz, *Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights*, „Acta Biochimica Polonica” 2010, 57(1), s. 139-142; B. Pilawa, P. Ramos, *Spektroskopia EPR. Ćwiczenia dla studentów analityki medycznej i medycyny*, „Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach”, Katowice 2017; G. Bartosz, *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*, Warszawa 2021.



Rycina 4. Widma EPR wolnych rodników DPPH oddziałujących z naparami z *Arctostaphylos uva-ursi*, *Vaccinium vitis-idaea* i *Vaccinium myrtilus* pochodzącymi z siedliska zaburzonego dla czasów oddziaływania: 5 minut (a), 20 minut (b), 40 minut (c) oraz 80 minut (d).

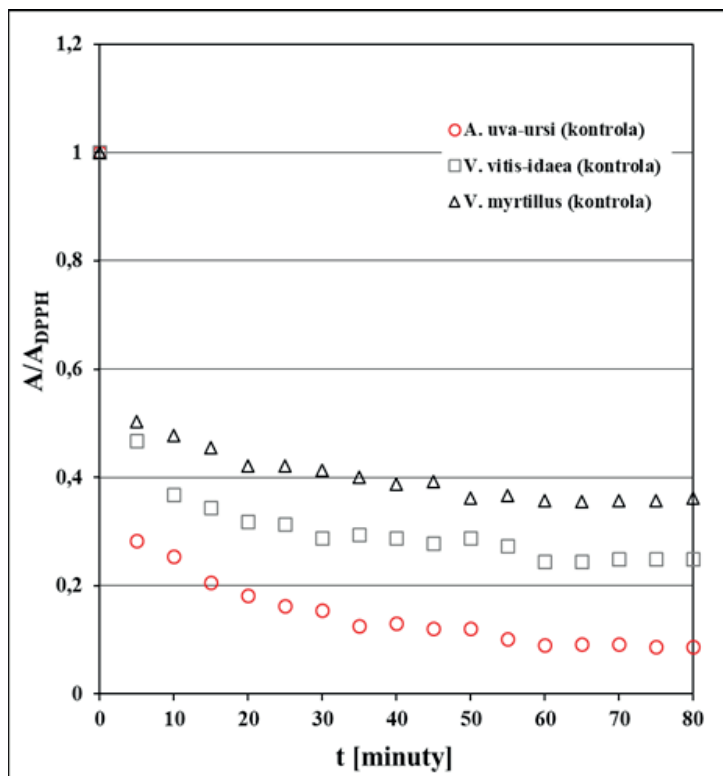
W przypadku surowców z próby badawczej najszybciej oddziałuje z wolnymi rodnikami DPPH napar z *Arctostaphylos uva-ursi*, a najwolniej oddziałuje z wolnymi rodnikami napar z *Vaccinium vitis-idaea*. Względna amplituda ( $A/A_{\text{DPPH}}$ ) widm EPR DPPH w kontakcie z naparem z *Arctostaphylos uva-ursi* oraz *Vaccinium vitis-idaea* osiąga wartość minimalną odpowiednio po 45 minutach i po 65 minutach (ryc. 6). Względna amplituda ( $A/A_{\text{DPPH}}$ ) widm EPR DPPH



Rycina 5. Wpływ czasu oddziaływania ( $t$ ) z wolnymi rodnikami na względną amplitudę ( $A/A_{DPPH}$ ) widm EPR DPPH w kontakcie z naparami z liści z *Arctostaphylos uva-ursi*, *Vaccinium vitis-idaea* i *Vaccinium myrtillus* dla surowców kontrolnych.  $A$  - amplituda widm EPR DPPH oddziałującego z naparem,  $A_{DPPH}$  - amplituda widma EPR DPPH w roztworze wzorcowym. Zaznaczono wartość  $A/A_{DPPH}$  wynoszącą 1 odnoszącą się do roztworów wzorcowych.

w kontakcie z naparem z *Vaccinium myrtillus* osiąga wartość minimalną po 50 minutach (ryc. 6).

Kinetykę oddziaływania wolnych rodników DPPH z naparami z poszczególnych surowców roślinnych kontrolnych i badawczych, porównano na rycinie 7 a-c jako zmiany względnej amplitudy ( $A/A_{DPPH}$ ) widm EPR DPPH ze wzrostem czasu ( $t$ ). Kinetyki oddziaływań wolnorodnikowych mają podobny charakter, ale czas stabilizacji wielkości widm EPR DPPH, a tym samym czas osiągnięcia stabilizacji oddziaływań DPPH z naparem, jest jednakowy tylko w przypadku *Vaccinium myrtillus* próby kontrolnej oraz badawczej i wynosi on 50 minut (ryc. 7 c). Czas osiągnięcia stabilizacji oddziaływań DPPH z naparem z *Arctostaphylos uva-ursi* z próby badawczej (45 minut) jest znacznie krótszy w porównaniu z czasem dla *Arctostaphylos uva-ursi* z próby kontrolnej (60 minut) (ryc. 7 a). Czas osiągnięcia stabilizacji oddziaływań DPPH z naparem z *Vaccinium vitis-idaea* z próby badaw-



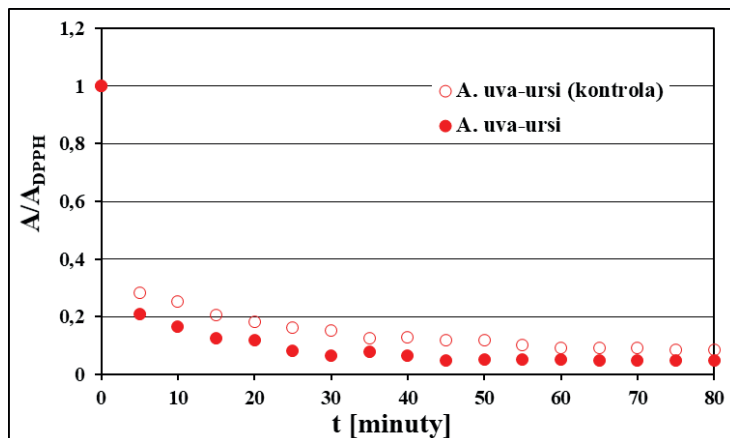
Rycina 6. Wpływ czasu oddziaływania (t) z wolnymi rodnikami na względną amplitudę ( $A/A_{DPPH}$ ) widm EPR DPPH w kontakcie z naparami z liści z *Arctostaphylos uva-ursi*, *Vaccinium vitis-idaea* i *Vaccinium myrtillus* dla surowców pozyskanych z siedlisk zaburzonych. A - amplituda widm EPR DPPH oddziałującego z naparem,  $A_{DPPH}$  - amplituda widma EPR DPPH w roztworze wzorcowym. Zaznaczono wartość  $A/A_{DPPH}$  wynoszącą 1 odnoszącą się do roztworów wzorcowych.

czej (65 minut) jest dłuższy w porównaniu z czasem dla *Vaccinium vitis-idaea* z próby kontrolnej (60 minut) (ryc. 7 b).

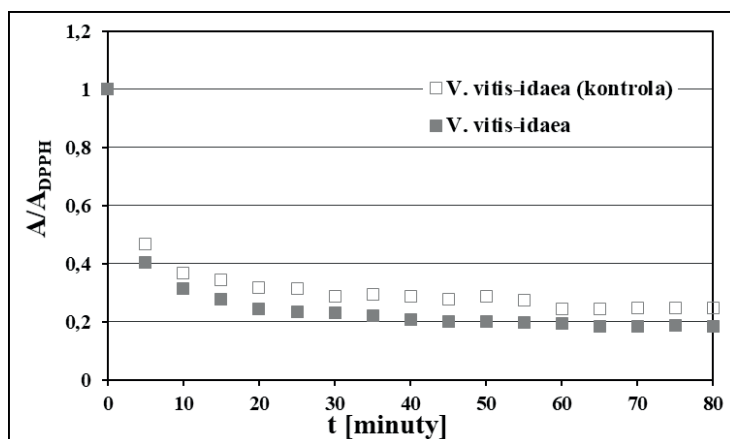
Wszystkie kinetyki oddziaływania wolnych rodników DPPH z badanymi naparami wykazują przebieg złożony (ryc. 5-7). Względna amplituda ( $A/A_{DPPH}$ ) widm EPR DPPH wskutek oddziaływań z naparem z *Arctostaphylos uva-ursi* próby kontrolnej maleje ze wzrostem czasu do 35 minut, następnie nie zmienia się aż do 50 minut, potem maleje aż do 60 minut, a od 60 minut nie zmienia się ze wzrostem czasu oddziaływania (ryc. 5, 7 a). Względna amplituda ( $A/A_{DPPH}$ ) widm EPR DPPH wskutek oddziaływań z naparem z *Vaccinium vitis-idaea* próby kontrolnej maleje do 30 minut oddziaływania, nie zmienia się od 30 do 50 minut oddziaływania, potem maleje aż do 60 minut, powyżej 60 minut nie zmienia się (ryc. 5, 7 b). Względna amplituda ( $A/A_{DPPH}$ ) widm EPR DPPH wskutek oddziaływań z naparem z *Vaccinium myrtillus* próby kontrolnej maleje ze wzrostem czasu



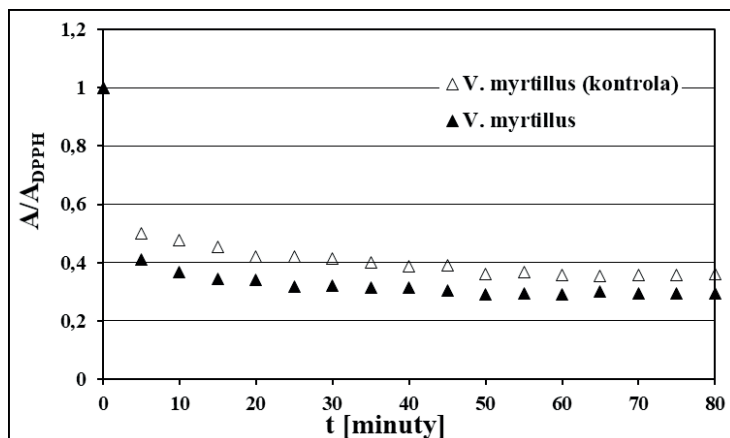
a)



b)



c)



Rycina 7. Porównanie kinetyki oddziaływania z wolnymi rodnikami DPPH naparów z surowców kontrolnych i badawczych.  $A/A_{DPPH}$  – względna amplituda widm EPR DPPH,  $t$  – czas oddziaływania.

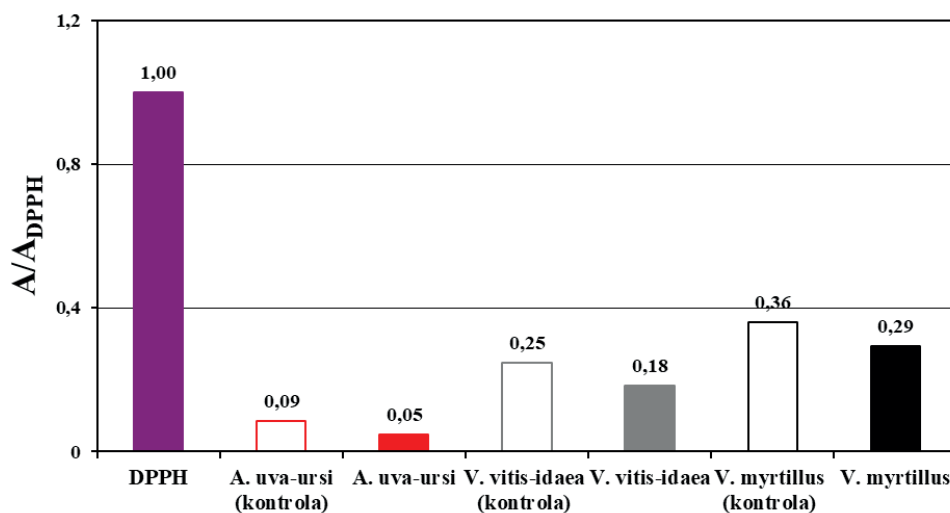
do 30 minut, po czym dalej maleje do 50 minut, ale wolniej, a w czasie powyżej 50 minut utrzymuje stałą wartość (ryc. 5, 7 c). Podobnie jak dla naparów z surowców kontrolnych, oddziaływania wolnych rodników DPPH z naparami z surowców pozyskanych z siedlisk zaburzonych, do momentu stabilizacji zachodzą w kilku etapach (ryc. 6, 7). Przykładowo względna amplituda ( $A/A_{\text{DPPH}}$ ) widm EPR DPPH w kontakcie z naparem z *Arctostaphylos uva-ursi* z siedlisk zaburzonych maleje ze wzrostem czasu do 30 minut, następnie nie zmienia się aż do 40 minut, następnie maleje aż do 45 minut, po czym nie ulega dalszym zmianom ze wzrostem czasu oddziaływania (ryc. 6, 7 a). Kilkuetapowy przebieg zmian względnej amplitudy ( $A/A_{\text{DPPH}}$ ) widm EPR DPPH ze wzrostem czasu może być spowodowany złożonym układem antyoksydacyjnym w testowanych naparach.

Na rycinach 5 i 6 widoczna jest taka sama kolejność wykresów przedstawiających dane dla poszczególnych naparów z surowców kontrolnych oraz surowców pozyskanych z siedlisk zaburzonych. Najniżej znajduje się wykres względnej amplitudy ( $A/A_{\text{DPPH}}$ ) widm EPR DPPH ze wzrostem czasu oddziaływania dla naparów z *Arctostaphylos uva-ursi*, pośrodku zlokalizowany jest wykres dla naparów z *Vaccinium vitis-idaea*, a najwyżej występuje wykres dla naparów z *Vaccinium myrtillus*. Kolejność ta wynika z różnic wielkości oddziaływania naparów z poszczególnych surowców roślinnych z wolnymi rodnikami DPPH. Najsilniejsze oddziaływania wolnorodnikowe cechują napar z *Arctostaphylos uva-ursi*, a najmniejsze napar z *Vaccinium myrtillus*, niezależnie od źródła uzyskania surowca.

W celu analizy wielkości oddziaływań antyoksydacyjnych wszystkich testowanych naparów, na rycinie 8 porównano wartości minimalne względnych amplitud ( $A/A_{\text{DPPH}}$ ) widm EPR wolnych rodników DPPH w kontakcie z poszczególnymi naparami z surowców kontrolnych i surowców pozyskanych z siedlisk zaburzonych. Wartości minimalne względnych amplitud ( $A/A_{\text{DPPH}}$ ) widm EPR DPPH rosną w kierunku: napar z *Arctostaphylos uva-ursi* < napar z *Vaccinium vitis-idaea* < napar z *Vaccinium myrtillus*. Tendencja ta jest obserwowana zarówno dla naparów z surowców kontrolnych, jak i dla naparów z surowców z siedlisk zaburzonych. W przypadku naparów z surowców kontrolnych i naparów z surowców z siedlisk zaburzonych wielkość oddziaływań z wolnymi rodnikami DPPH rośnie w kierunku napar z *Vaccinium myrtillus* < napar z *Vaccinium vitis-idaea* < napar z *Arctostaphylos uva-ursi*. Najsilniejsze oddziaływania antyoksydacyjne w obydwu grupach surowców wykazuje napar z *Arctostaphylos uva-ursi*, a najsłabsze napar z *Vaccinium myrtillus*.

Na podstawie badań z wykorzystaniem spektroskopii EPR wykazano, że w przypadku wszystkich stosowanych surowców roślinnych oddziaływania z wolnymi rodnikami są silniejsze dla naparów sporządzonych z surowców pochodzących z siedlisk zaburzonych. Wartości minimalne względnych amplitud ( $A/A_{\text{DPPH}}$ ) widm EPR DPPH w kontakcie z naparem z *Arctostaphylos uva-ursi*,

*Vaccinium vitis-idaea* i *Vaccinium myrtillus* z siedlisk zaburzonych są mniejsze od odpowiadających im wartości minimalnych względnych amplitud ( $A/A_{DPPH}$ ) widm EPR DPPH w kontakcie z naparem kontrolnym (ryc. 8). Przykładowo wartość minimalna względnej amplitudy ( $A/A_{DPPH}$ ) dla DPPH w kontakcie z naparem z *Arctostaphylos uva-ursi* z siedlisk zaburzonych wynosi 0,05, podczas gdy wartość tego parametru dla DPPH w kontakcie z naparem z *Arctostaphylos uva-ursi* próby kontrolnej wynosi 0,09. Wykazano, że napary z *Arctostaphylos uva-ursi*, *Vaccinium vitis-idaea* i *Vaccinium myrtillus* z siedlisk zaburzonych silniej wygaszają wolne rodniki w porównaniu z naparami z odpowiadających im surowców kontrolnych.



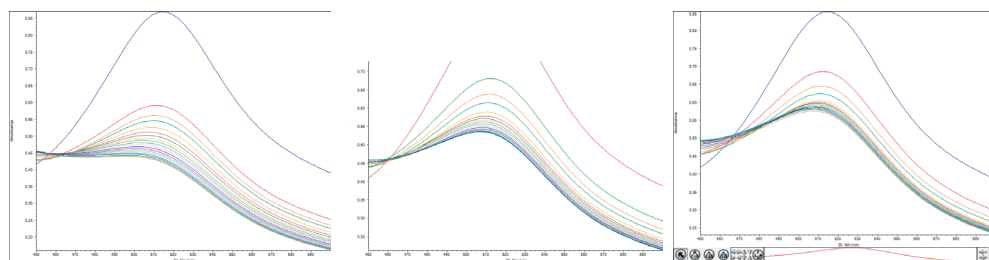
Rycina 8. Porównanie wartości minimalnych względnych amplitud ( $A/A_{DPPH}$ ) [ $\pm 0,01$ ] widm EPR DPPH oddziałujących z naparami z surowców kontrolnych i surowców pozyskanych z siedlisk zaburzonych. Dane dla czasu oddziaływania DPPH z naparami wynoszącego 80 minut.

Wyniki badań metodą UV-Vis oddziaływań wolnych rodników DPPH z naparami z *Arctostaphylos uva-ursi*, *Vaccinium vitis-idaea* i *Vaccinium myrtillus*, dla surowców kontrolnych i badawczych, zostały zamieszczone na rycinach 9-13. Na rycinie 9 widoczne jest wygaszanie widm UV-Vis DPPH wraz ze wzrostem czasu oddziaływania z naparami z *Arctostaphylos uva-ursi*, *Vaccinium vitis-idaea* i *Vaccinium myrtillus* z siedlisk zaburzonych. Widma UV-Vis DPPH były wygaszane przez wszystkie testowane napary.

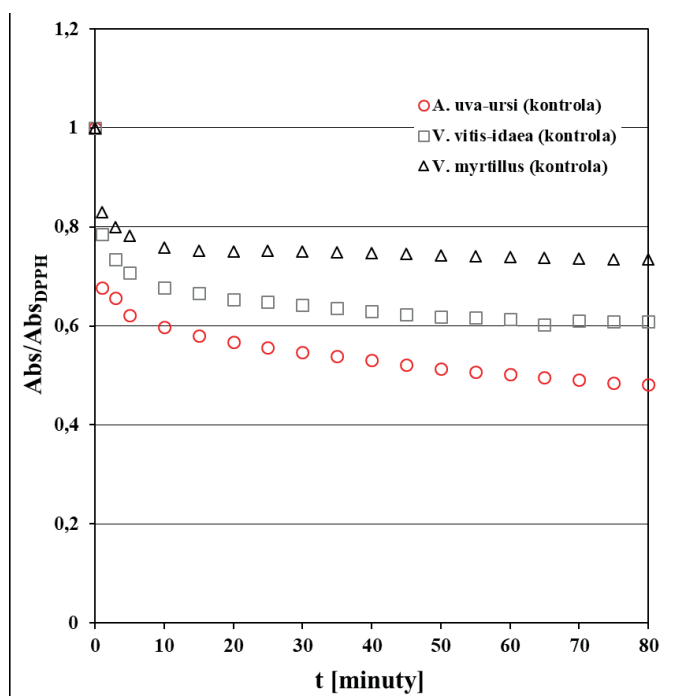
Wpływ czasu oddziaływania z wolnymi rodnikami na względną absorbancję ( $Abs/Abs_{DPPH}$ ) widm UV-Vis DPPH wskutek reakcji z naparami z liści *Arctostaphylos uva-ursi*, *Vaccinium vitis-idaea* i *Vaccinium myrtillus* dla surowców kontrolnych i surowców pozyskanych z siedlisk zaburzonych pokazano na rycinach 10

i 11. Kinytyki oddziaływania z wolnymi rodnikami DPPH naparów z surowców kontrolnych i surowców pozyskanych z siedlisk zaburzonych porównano na rycinie 12 a-c. Wartości minimalne względnych absorbancji ( $Abs/Abs_{DPPH}$ ) widm UV-Vis DPPH oddziałujących z naparami z surowców kontrolnych i badawczych zestawiono na diagramie słupkowym na rycinie 13.

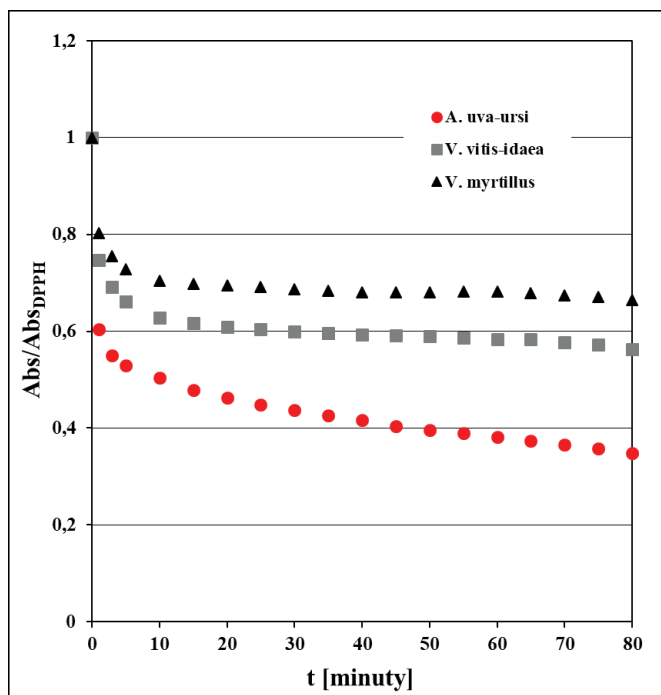
*Arctostaphylos uva-ursi*    *Vaccinium vitis-idaea*    *Vaccinium myrtillus*



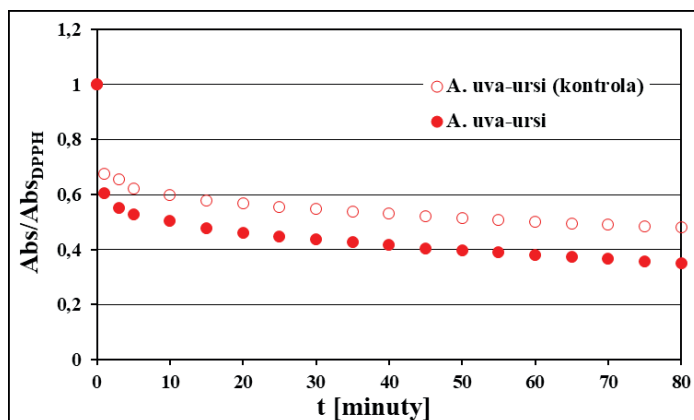
Rycina 9. Zmiana widm UV-Vis DPPH oddziałującego z naparem z *Arctostaphylos uva-ursi*, *Vaccinium vitis-idaea* i *Vaccinium myrtillus* z siedlisk zaburzonych ze wzrostem czasu.

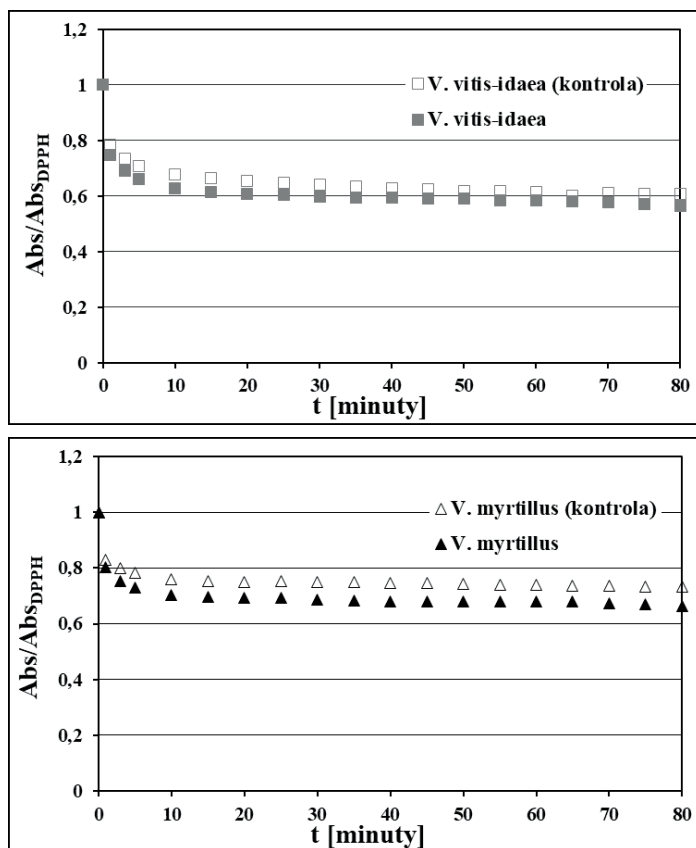


Rycina 10. Wpływ czasu oddziaływania (t) z wolnymi rodnikami na względną absorbancję ( $Abs/Abs_{DPPH}$ ) widm UV-Vis DPPH w kontakcie z naparami z liści *Arctostaphylos uva-ursi*, *Vaccinium vitis-idaea* i *Vaccinium myrtillus* dla surowców kontrolnych. Abs – absorbancja dla DPPH oddziałującego z naparem,  $Abs_{DPPH}$  – absorbancja dla DPPH w roztworze wzorcowym. Zaznaczono wartość  $Abs/Abs_{DPPH}$  wynoszącą 1 odnoszącą się do roztworów wzorcowych.

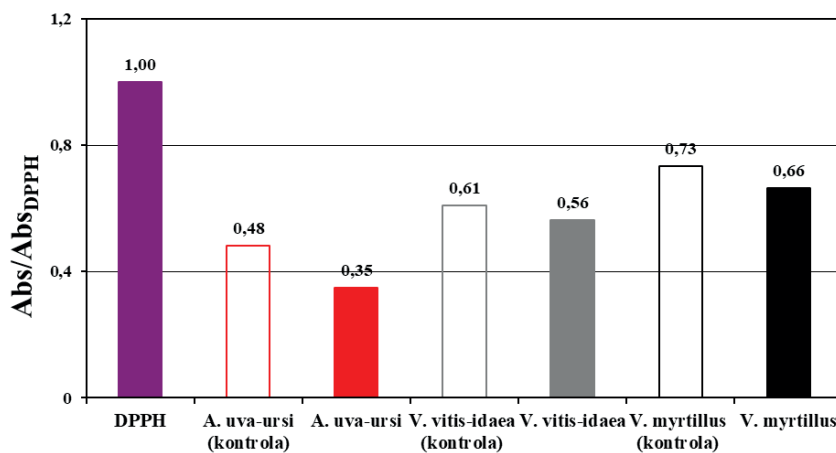


Rycina 11. Wpływ czasu oddziaływania (t) z wolnymi rodnikami na względną absorbancję ( $Abs/Abs_{DPPH}$ ) widm UV-Vis DPPH w kontakcie z naparami z liści *Arctostaphylos uva-ursi*, *Vaccinium vitis-idaea* i *Vaccinium myrtillus* dla surowców pozyskanych z siedlisk zaburzonych. Abs – absorbancja dla DPPH oddziałującego z naparem,  $Abs_{DPPH}$  – absorbancja dla DPPH w roztworze wzorcowym. Zaznaczono wartość  $Abs/Abs_{DPPH}$  wynoszącą 1 odnoszącą się do roztworów wzorcowych.





Rycina 12. Porównanie kinetyki oddziaływania z wolnymi rodnikami DPPH naparów z surowców kontrolnych i badawczych.  $Abs/Abs_{DPPH}$  – względna absorbancja widm UV-Vis DPPH,  $t$  – czas oddziaływania.



Rycina 13. Porównanie wartości minimalnych względnych absorbancji ( $Abs/Abs_{DPPH}$ ) [ $\pm 0,01$ ] widm UV-Vis DPPH oddziałujących z naparami z surowców kontrolnych i badawczych. Dane dla czasu oddziaływania DPPH z naparami wynoszącego 80 minut.

Badania oddziaływań wolnych rodników DPPH z naparami z *Arctostaphylos uva-ursi*, *Vaccinium vitis-idaea* i *Vaccinium myrtillus*, przeprowadzone z wykorzystaniem spektrofotometrii UV-Vis dla surowców kontrolnych i surowców pozyskanych z siedlisk zaburzonych, potwierdziły wyniki uzyskane z zastosowaniem spektroskopii EPR. Wszystkie ekstrakty wodne w postaci naparów wykazywały właściwości antyoksydacyjne. Kinetyki zmian widm UV-Vis DPPH są podobnego rodzaju jak kinetyki zmian widm EPR. Wyniki uzyskane metodą UV-Vis potwierdziły silniejsze właściwości antyoksydacyjne naparów z surowców pochodzących z siedlisk zaburzonych.

## Podsumowanie

Badania wskazują, że zawartość m.in. antocyjanów, katechin, flawonoidów wzrasta w roślinach, gdy są one wystawione na bezpośrednie działanie promieni słonecznych. Prawdopodobnie związki te biorą udział w ochronie rośliny przed stresem biotycznym jakim jest nadmiar światła słonecznego, w tym promieniowania UV. Wzrost ich zawartości w surowcu jest efektem mechanizmu obronnego przed stresem wywołanym przez nadmiar światła, czy suszę. Przeprowadzone w niniejszej pracy porównawcze badania z wykorzystaniem spektroskopii EPR i spektrofotometrii UV-Vis potwierdziły silniejsze właściwości antyoksydacyjne ekstraktów wodnych uzyskanych z surowców roślinnych występujących na siedliskach zaburzonych, suchych, o zwiększonym natężeniu promieniowania UV. Napary z *Arctostaphylos uva-ursi*, *Vaccinium vitis-idaea* i *Vaccinium myrtillus*, pozyskane z siedlisk zaburzonych, silniej neutralizowały wolne rodniki aniżeli napary z odpowiednich surowców kontrolnych pochodzących z siedlisk naturalnych. Potwierdzeniem większej zawartości antyoksydantów w surowcach z siedlisk zaburzonych jest silniejsze wygaszanie widm EPR i UV-Vis DPPH przez napary sporządzone z tych materiałów roślinnych.

Najsilniejsze właściwości antyoksydacyjne stwierdzono w przypadku naparu z *Arctostaphylos uva-ursi*, a najsłabsze w przypadku naparu z *Vaccinium myrtillus*. Wykazano także, że w przypadku siedlisk zaburzonych napar z *Arctostaphylos uva-ursi* najszybciej wygasza wolne rodniki, podczas gdy najwolniejsze oddziaływanie z wolnymi rodnikami zachodzą w przypadku naparu z *Vaccinium vitis-idaea*. Złożony przebieg kinetyki oddziaływań wolnorodnikowych wskazuje na występowanie kilku rodzajów antyoksydantów w testowanych naparach roślinnych. Uzyskane rezultaty badań metodą EPR i UV-Vis wskazują na potencjalne możliwości wykorzystania naturalnych surowców z terenów suchych o podwyższonej ekspozycji na promieniowanie UV do wytwarzania ekstraktów leczniczych o silnych właściwościach antyoksydacyjnych. Potwierdzono przydatność

spektroskopii EPR oraz spektrofotometrii UV-Vis w poszukiwaniach surowców roślinnych o właściwościach antyoksydacyjnych dla celów leczniczych.

## Wnioski

W sytuacjach, kiedy gospodarka człowieka i związane z nią prace terenowe wymagają zniszczenia stanowisk rzadkich i zagrożonych roślin leczniczych, takich jak *Arctostaphylos uva-ursi*, wykorzystanie surowców zielarskich na badanym stanowisku dałoby możliwość pozyskania surowca z niszczonej populacji do celów leczniczych lub do badań naukowych. Podobnie jak u *Arctostaphylos uva-ursi*, w przypadku *Vaccinium vitis-idaea* i *Vaccinium myrtillus*, ekstrakty uzyskane z surowca roślinnego z terenów, na których panują warunki zaburzone, wykazują silniejsze właściwości antyoksydacyjne w porównaniu z ekstraktami z surowców roślinnych pochodzących z siedlisk naturalnych.

## Podziękowania

Wsparcie finansowe badań zapewnił Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach (numery grantów: PCN-1-008/N/2/F, BNW-1-020/K/3/F).

## References

### Bibliografia

- Alkadi H., *A Review on free radicals and antioxidants*, „Infectious Disorders - Drug Targets” 2020, 20(1), s. 16-26.
- Ata P., Majewski S.T., *Fotostarzenie skóry*, „Przegląd Dermatologiczny”, 2013, 100(3), s. 178-183.
- Bacler B., *Zasoby gatunkowe cennych roślin leczniczych powiatu włoszczowskiego. Część 1 – mącznica lekarska *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.*, „Annales Academiae Medicae Silesiensis”, 2009, 63(3), s. 33-37.
- Bacler-Żbikowska B., *Flora roślin naczyniowych Obniżenia Małej Panwi we wschodniej części Równiny Opolskiej*, „Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach”, Katowice 2015.
- Bacler-Żbikowska B., Stebel A., *Katalog roślin leczniczych aktualnie dopuszczonych do stosowania w medycynie konwencjonalnej w Polsce: różnorodność gatunkowa, pochodzenie, zastosowanie, problemy zrównoważonego pozyskiwania i ochrona*, „Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach”, Katowice 2023.
- Bartosz G., *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*, Warszawa 2021.
- Białek M., Czauderna M., *Budowa chemiczna oraz funkcje fizjologiczne wybranych antyoksydantów*, „Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk”, Jabłonna 2016.
- Chupakhina G.N., Maslennikov P.V., Skrypnik L.N., Chupakhina N.Yu., Poltavskaya R.L., Feduraev P.V., *The influence of the Baltic region conditions on the accumulation of water-soluble antioxidants in plants*, „Russian Chemical Bulletin” 2014, 63, s. 1946-1953.



- Drozd J., Anuszewska E., *Czarna jagoda – perspektywy nowych zastosowań w profilaktyce i wspomaganiu leczenia chorób cywilizacyjnych*, „Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego i Narodowego Instytutu Leków w Warszawie”, Rzeszów 2013, 2, s. 226-235.
- Dyrek K., *Elektronowy rezonans paramagnetyczny*, w: „Fizyczne metody badań w biologii, medycynie i ochronie środowiska”, red. Hrynkiewicz A.Z., Rokita E., Warszawa 2013, s. 136-159.
- EMA: European Medicines Agency, <https://www.ema.europa.eu/en> [dostęp: 30.12.2023].
- ESCOP: European Scientific Cooperative on Phytotherapy, <https://escop.com> [dostęp: 30.12.2023].
- Farmakopea Polska XIII*, „Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych”, Warszawa 2023.
- Frohne D., *Leksykon roślin leczniczych*, Wrocław 2010, s. 520-521.
- Gawłowska J., *Mącznica lekarska – Arctostaphylos uva-ursi L. w Polsce, jej zasoby i ochrona*, „Ochrona Przyrody”, 1964, 30, s. 23-50.
- Gawłowska J. red., *Stan zagrożenia oraz warunki zabezpieczenia naturalnych zasobów roślin leczniczych*, Warszawa 1984.
- Helmstadter A., Schuster N., *Vaccinium myrtillus as an antidiabetic medicinal plant-research through the age*, „Die Pharmazie”, 2010, 65(5), s. 315-321.
- Karbarz M., *Źródła powstawania i oddziaływanie środowiskowe wolnych rodników*, „Zeszyty Naukowe SGSP”, 2010, 40, s. 59-67.
- Kowalik K. Bacler-Żbikowska B., *Nowe stanowiska Arctostaphylos uva-ursi (Ericaceae) na siedliskach antropogenicznych w Obniżeniu Górnej Warty (Wyżyna Woźnicko-Wieluńska)*, „Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica”, 2016, 23(2), s. 362-364.
- Kozłowski J. A., Wielgosz T., Nawrot J., Nowak G., Dawid-Pač R., Kuczyński S., *Zielarnia. Jak czerpać ze skarbów natury*, Poznań 2019.
- Krauze-Baranowska M. red., *Fitofarmaceutyki oparte na dowodach naukowych kompendium leczniczych produktów ziołowych*, Warszawa 2022.
- Lamer-Zarawska E., Kowal-Gierczak B., Niedworok J. red., *Fitoterapia i leki roślinne*, Warszawa 2014.
- Matras J., *Program ochrony leśnych zasobów genowych*, „Zeszyty problemowe postępów nauk rolniczych”, 1998, 463, s.123-126.
- Matuszkiewicz W., *Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych*, Warszawa 2023.
- Mirek Z., Piękoś-Mirkowa H., Zając A., Zając M., *Vascular plants of Poland. An annotated checklist*, „Instytut Botaniki im. W. Szafera, Polska Akademia Nauk”, Kraków 2020.
- Piękoś-Mirkowa H., Mirek Z., *Rośliny chronione*, Warszawa 2006.
- Piękoś-Mirkowa H., Mirek Z., *Mącznica lekarska Arctostaphylos uva-ursi (L.) Spreng.*, w: „Czerwona Księga Karpat Polskich. Rośliny naczyniowe”, red. Z. Mirek i Piękoś-Mirkowa H., Kraków 2008, 164-165.
- Pilawa B., Ramos P., *Spektroskopia EPR. Ćwiczenia dla studentów analityki medycznej i medycyny*, „Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach”, Katowice 2017.
- Pilawa B., Zdybel M., Chodurek E., *Application of electron paramagnetic resonance spectroscopy to examine free radicals in melanin polymers and the human melanoma malignum cells*, w: „Melanin”, red. Blumenberg M., „InTech”, Rijeka 2017.
- POWO: Plants of the World Online “Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew”, <http://www.plantsoftheworldonline.org/> [dostęp: 30.12.2023].
- Raudone L., Vilkickyte G., Pitkauskaitė L., Raudonis R., Vainoriene R., Motiekaityte V., *Antioxidant Activities of Vaccinium vitis-idaea L. Leaves within Cultivars and Their Phenolic Compounds*, „Molecules”, 2019, 24, s. 844.
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 października 2014 r. w sprawie ochrony gatunkowej roślin (Dz. U. 2014 poz. 1409).

- Rutkowski L., *Klucz do oznaczania roślin naczyniowych Polski niżowej*, Warszawa 2004, s. 351.
- Senderski M.E., *Prawie wszystko o ziołach*, Podkowa Leśna 2017.
- Skotnicka M., Golan M., Szmukała N., *Rola naturalnych przeciwutleniaczy pochodzenia roślinnego w profilaktyce nowotworowej*, „Annales Academiae Medicae Gedanensis”, 2017, 47, s. 119-127.
- Stankowski J., Hilczer W., *Wstęp do spektroskopii rezonansów magnetycznych*, Warszawa 2005.
- Starck Z., *Reakcje roślin na abiotyczne stresy środowiskowe - aklimatyzacja i adaptacja*, „Łąkarstwo w Polsce”, 2005, 8, s. 173-184.
- Strzelec H., Kowalski J. red., *Encyklopedia zielarstwa i ziołolecznictwa*, Warszawa 2000.
- Stebel A., Bacler-Żbikowska B., Drobniak J., *Interesting locality of medicinal plant *Arctostaphylos uva-ursi* (Ericaceae) in Silesia Province (Poland)*, „Časopis Slezského zemského muzea, Série A, Vědy přírodní”, 2013, 62, s. 190-192.
- Stebel A., Bacler-Żbikowska B., *Występowanie *Arctostaphylos uva-ursi* (Ericaceae) w województwie śląskim*, „Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica”, 2019, 26(1), s. 3-13.
- Sugier P., Sęczyk Ł., Sugier D., Krawczyk R., Wójcik M., Czarnecka J., Okoń S., Plak A., *Chemical Characteristics and Antioxidant Activity of *Arctostaphylos uva-ursi* L. Spreng. at the Southern Border of the Geographical Range of the Species in Europe*, „Molecules”, 2021, 26, s. 7692.
- Then M., Szentmihályi K., Gere A., Jasztrab Sz., Szöke E., *Antioxidant Properties of *Myrtilli Folium*, *Phaseoli Fructus Sine Seminibus* and Drug Mixture Extracts*, „Acta Alimentaria”, 2005, 34(2), s. 169-176.
- Tirzis G., Bartosz G., *Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights*, „Acta Biochimica Polonica”, 2010, 57(1), s. 139-142.
- Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M. T. D., Mazur M., Tesler J., *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease*, „The International Journal of Biochemistry & Cell Biology”, 2007, 39(1), s. 44-84.
- van Wyk B-E., Wink M., *Rośliny lecznicze świata*, Wrocław 2008.
- Witkowska-Żuk L., *Atlas roślinności lasów. Flora Polski*, Warszawa 2008.
- Zajac A., Zajac M. red., *Atlas rozmieszczenia roślin naczyniowych w Polsce*, „Pracownia Chorologii Komputerowej Instytutu Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego”, Kraków 2001.
- Zdybel M., Chodurek E., Pilawa B., *Effect of simvastatin in different concentrations on free radicals in A-2058 human melanoma malignum cells - EPR studies*, „Journal of Cellular Biochemistry”, 2019, 120(2), s. 2483-2492.