

24.04.2019 r.

Mgr Paulina Drózdź
Instytut Badawczy Leśnictwa
Laboratorium Chemii Środowiska Przyrodniczego

Autoreferat rozprawy doktorskiej

„Badanie możliwości wykorzystania produktów ubocznego użytkowania lasu jako źródła antyutleniaczy”

Promotor: prof. dr hab. Krystyna Pyrżyńska

Produkty ubocznego użytkowania lasu to surowce lub produkty nieдрzewne, do których zalicza się: produkty pochodzenia roślinnego (owoce leśne, rośliny lecznicze, przemysłowe i dekoracyjne, korę, żywicę i inne wydzieliny drzew), produkty pochodzenia zwierzęcego (produkty łowiectwa, ślimaki, miód i wosk), grzyby jadalne oraz kopalin (minerały, torf, piasek, żwir). Leśne użytki nieдрzewne były od wieków wykorzystywane przez ludzi jako pożywienie oraz środki lecznicze stosowane w medycynie ludowej. W Polsce silnie zakorzeniona jest tradycja zbierania grzybów i owoców leśnych na własny użytek. W pracy zbadałam próbki roślin leśnych, takich jak: wrzos zwyczajny (*Calluna vulgaris* L.), borówka czernica (*Vaccinium myrtillus* L.), borówka brusznica (*Vaccinium vitis-idaea* L.), kora sosny pospolitej (*Pinus sylvestris* L.) oraz kora dębu (*Quercus robur* L.), które pobrałam z terenu Mazowsza.

Polifenole, wraz z karotenoidami, tokoferolami i witaminą C, zaliczane są do naturalnych składników żywności o charakterze przeciwutleniaczy, czyli związków, które mają zdolność do wstrzymania lub spowalniania procesu utleniania danej substancji. Ich aktywność przeciwutleniająca wiąże się z pierścieniową budową cząsteczki mającej sprzężone wiązania podwójne, jak i z obecnością grup hydroksylowych w tych pierścieniach. Związki polifenolowe to wtórne metabolity roślin, do których zaliczane są: flawonoidy, kwasy fenolowe (pochodne kwasu benzoowego i cynamonowego), antocyjany, stilbeny, lignany i taniny. Działanie przeciwutleniające związków polifenolowych polega na eliminowaniu

reaktywnych form tlenu, neutralizacji wolnych rodników, inhibicji enzymów z grupy oksydaz oraz chelatowaniu jonów metali.

W rozprawie doktorskiej badałam właściwości antyutleniające wybranych produktów ubocznego użytkowania lasu oraz ich skład chemiczny, zwłaszcza pod kątem zawartości związków polifenolowych. Ponadto porównałam efektywność ekstrakcji polifenoli w zależności od rodzaju użytego rozpuszczalnika, temperatury i czasu ekstrakcji. Do ekstrakcji zastosowałam wodę destylowaną, mieszaninę wody i etanolu (40/60, v/v) oraz octan etylu. Dodatkowo sprawdziłam efektywność ekstrakcji z użyciem cieczy jonowych: chlorku 1-butylo-3-metyloimidazoliowego, tetrafluoroboranu 1-butylo-3-metyloimidazoliowego, heksafluorofosforanu 1-butylo-3-metyloimidazoliowego. Oznaczyłam właściwości redukujące za pomocą metody Folina-Ciocalteu i metody CUPRAC, natomiast zdolność do neutralizacji wolnych rodników zbadałam przy użyciu rodnika DPPH[•]. Całkowitą zawartość antocyjanów oznaczyłam przy użyciu różnicowej metody pH, zaś flawonoidów za pomocą metody z jonami Al(III). Technika chromatografii cieczowej połączonej ze spektrometrią mas posłużyła mi do wyznaczenia zawartości wybranych związków polifenolowych w badanych ekstraktach. Zawartość wybranych makro i mikroelementów oznaczyłam techniką ICP-OES.

Kwiaty wrzосу są bogatym źródłem kwasu chlorogenowego, ferulowego i *p*-hydroksybenzoesowego, a także flawonoidów, w tym katechiny, epikatechiny, kwercetyny, kwercetryny oraz apigeniny. Najwięcej w ekstraktach wrzosowych jest kwasu chlorogenowego, ponad 1 mg/g. Analiza chromatograficzna wykazała obecność w ekstraktach z kwiatów wrzосу tricetinu (5,7,3',4',5'-pentahydroksy flawonu), który nie został do tej pory zidentyfikowany we wrzosie i który występuje w największym stężeniu w kwiatach wrzосу leśnego. Wrzosity leśne charakteryzują się większą różnorodnością polifenoli, zwłaszcza w porównaniu do białej odmiany ogrodowej. Najwyższe efektywności procesu ekstrakcji związków polifenolowych uzyskałam przy użyciu cieczy jonowych, 60% roztworu etanolu oraz octanu etylu. Także podniesienie temperatury ekstrakcji do 55°C spowodowało wzrost jej efektywności. Najwyższe wyniki dla całkowitej zawartości flawonoidów i antocyjanów uzyskałam dla wodno-etanolowych (40/60, v/v) ekstraktów z fioletowych kwiatów wrzосу ogrodowego oraz z kwiatów wrzосу zebranych z terenu Nadleśnictwa Wyszaków. Wrzosity te charakteryzowały się także najwyższymi właściwościami

redukującymi oraz najsilniejszymi zdolnościami do neutralizacji rodników DPPH'. Wrzos, zarówno leśny, jak i ogrodowy może być alternatywnym źródłem antyutleniaczy w odniesieniu do popularnie stosowanych ziół.

Ekstrakty z owoców borówek zawierają kwasy fenolowe: kwas *p*-hydroksybenzoesowy, galusowy, kawowy, chlorogenowy, *p*-kumarowy, ferulowy i protokatechowy oraz flawonoidy: kwercetynę, katechinę, epikatechinę i mirycetynę. Najuboższe w związki polifenolowe okazały się ekstrakty z owoców borówki wysokiej, które zawierają głównie kwas chlorogenowy. Największą różnorodnością pod względem zawartości jak i rodzaju związków polifenolowych charakteryzują się owoce borówki brusznicy, w których oznaczyłam najwięcej kwasu ferulowego, katechiny i epikatechiny w porównaniu do borówki czarnej i wysokiej. Antocyjany są dominującą grupą związków polifenolowych zawartych w jagodach, ich najbogatszym źródłem są owoce borówki czernicy zawierające 10-krotnie więcej tych związków niż ekstrakty z owoców borówki brusznicy i borówki wysokiej. Za silne właściwości antyutleniające borówki czernicy odpowiada duża zawartość antocyjanów w ich owocach, natomiast borówki brusznicy kwasy hydroksycynamonowe, w tym zwłaszcza kwas chlorogenowy. Najwyższe efektywności ekstrakcji polifenoli z jagód uzyskałam przy użyciu cieczy jonowych jako ekstrahentów. Owoce borówek leśnych zawierają takie makroelementy jak: potas, wapń i magnez oraz mikroelementy: mangan i cynk.

Kory dębu i sosny są źródłem związków polifenolowych z grupy katechin, występujących zarówno w formie aglikonów jak i związanej w postaci glikozydów, estrów czy proantocyjanidynów. Katechina stanowiła ponad 50% całkowitej zawartości polifenoli oznaczonych w ekstrakcie z kory sosny. Ekstrakty z kory dębu zawierają dużą ilość kwasu *p*-hydroksybenzoesowego, katechiny, epikatechiny oraz kwasu protokatechowego i galusowego. Ponadto ekstrakty te charakteryzowały się wyższymi zdolnościami redukującymi w porównaniu do ekstraktów z kory sosny. Najwyższe wyniki uzyskałam dla ekstraktów przygotowanych przy użyciu octanu etylu oraz roztworu wodno-etanolowego (40/60, v/v). Porównując zawartość flawonoidów w badanych ekstraktach wyraźnie widać, że kory sosny i dębu są najbogatszym źródłem flawonoidów, niezależnie od tego z jakiego miejsca została pobrana próbka. Kora dębu zawiera bardzo dużo wapnia, potasu, magnezu oraz manganu. Stężenie potasu w korze sosny jest na podobnym poziomie jak w korze dębu, zaś zawartość pozostałych metali jest niższa.

Przeprowadzone przeze mnie badania pokazały, że rośliny leśne ze względu na obecność znacznej ilości związków polifenolowych o właściwościach prozdrowotnych mogą być składnikiem zdrowej diety, a także mogą być wykorzystywane jako składniki farmaceutyków i nutraceutyków.

Wyniki zawarte w rozprawie doktorskiej zostały opublikowane w 8 pracach oryginalnych oraz w formie rozdziałów w 1 zagranicznej i w 3 krajowych monografiach tematycznych.