

Sprawozdanie z projektu rozwojowego pt.:

**PRZYDATNOŚĆ WYBRANYCH POPULACJI
DZIKO ROSNĄCYCH ROŚLIN
LECZNICZYCH Z RODZINY RÓŻOWATYCH
DLA PRZEMYSŁU ZIELARSKIEGO, ZE
SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM
WYSTĘPUJĄCYCH W NICH ZWIĄZKÓW
FENOLOWYCH I STEROLOWYCH**

Numer projektu rozwojowego: R12 068 03

Numer umowy: 0606/R/P01/2007/03

TOM III

Projekt zrealizowany w:

**SZKOLE GŁÓWNEJ GOSPODARSTWA WIEJSKIEGO W WARSZAWIE
NA WYDZIALE OGRODNICTWA I ARCHITEKTURY KRAJOBRAZU
W KATEDRZE ROŚLIN WARZYWNYCH I LECZNICZYCH**

Warszawa, 2010 r.

IV. Optymalizacja warunków ekstrakcji surowców uzyskanych z wiązówki bulwkowej, kuklika pospolitego, śliwy tarniny, jeżyny fałdowanej i maliny właściwej.....3

| | |
|---|----|
| 1. METODYKA..... | 4 |
| 1.1. Materiał roślinny..... | 4 |
| 1.2. Metody ekstrakcji i rozpuszczalniki..... | 4 |
| 1.3. Analiza HPLC..... | 6 |
| 1.4. Oznaczenie straty masy po suszeniu..... | 8 |
| 1.5. Statystyczna analiza wyników..... | 9 |
| 1.6. Oznaczenia i symbole..... | 9 |
| 2. WYNIKI..... | 10 |
| 2.1. Wiązówka bulwa..... | 10 |
| 2.2. Kuklik pospolity..... | 20 |
| 2.3. Śliwa tarnina..... | 25 |
| 2.4. Jeżyna fałdowana..... | 32 |
| 2.5. Malina właściwa..... | 37 |

V. Ocena aktywności przeciwutleniającej ekstraktów uzyskanych z surowców wiązówki bulwkowej, kuklika pospolitego, śliwy tarniny, jeżyny fałdowanej i maliny właściwej43

| | |
|--|----|
| 1. METODYKA..... | 44 |
| 1.1. Materiał badawczy..... | 44 |
| 1.2. Metody badawcze..... | 44 |
| 1.3. Statystyczna analiza wyników..... | 46 |
| 2. WYNIKI..... | 47 |
| 2.1. Wiązówka bulwkowa..... | 47 |
| 2.2. Kuklik pospolity..... | 51 |
| 2.3. Śliwa tarnina..... | 54 |
| 2.4. Jeżyna fałdowana..... | 57 |
| 2.5. Malina właściwa..... | 60 |
| 2.6. Porównanie aktywności wyciągów otrzymanych z poszczególnych surowców..... | 63 |
| 3. PODSUMOWANIE..... | 64 |
| 4. LITERATURA..... | 65 |

IV. Optymalizacja warunków ekstrakcji surowców uzyskanych z wiązówki bulwkowej, kuklika pospolitego, śliwy tarniny, jeżyny fałdowanej i maliny właściwej

1. Metodyka

1.1. Materiał roślinny

Ekstrakcji poddano następujące surowce zielarskie:

1. kwiaty, ziele oraz organy podziemne **wiązówki bulwkowej**; pierwsze dwa surowce zostały zebrane podczas kwitnienia roślin a ostatni po zakończeniu wegetacji. Surowce pozyskano z roślin uprawianych na polu doświadczanym KRWiL SGGW w Wilanowie; temperatura suszenia: 35°C
2. ziele i organy podziemne **kuklika pospolitego**; ziele zostało zebrane podczas kwitnienia roślin, a organy podziemne jesienią po zakończeniu wegetacji roślin; surowce te pozyskano z roślin uprawianych na polu doświadczanym KRWiL SGGW w Wilanowie; temperatura suszenia: 35°C
3. kwiaty i owoce **śliwy tarniny**; surowiec zebrano ze stanowisk dziko rosnących populacji a następnie ujednolicono; temperatura suszenia: 40°C
4. liście i owoce **jeżyny faldowanej**; surowiec zebrano ze stanowisk dziko rosnących populacji a następnie ujednolicono; temperatura suszenia: 40°C
5. liście i owoce **maliny właściwej**; surowiec zebrano ze stanowisk dziko rosnących populacji a następnie ujednolicono; temperatura suszenia: 40°C

Zebrane surowce zostały oczyszczone i wysuszone w komorowej, konwekcyjnej suszarce laboratoryjnej. Wysuszone ziele, kwiaty i organy podziemne umieszczano w oddzielnych papierowych torbach. Do czasu prowadzenia badań surowce przechowywano w suchym, przewiewnym i zacienionym pomieszczeniu. Bezpośrednio przed ekstrakcją surowiec został rozdrobniony w młynku laboratoryjnym.

1.2. Metody ekstrakcji i rozpuszczalniki

W przeprowadzonych doświadczeniach zastosowano trzy metody ekstrakcji: ekstrakcję ciągłą wyczerpującą w uniwersalnym systemie ekstrakcyjnym Büchi B-811, ekstrakcję periodyczną pod chłodnicą zwrotną w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:10 i 1:20 oraz ekstrakcję periodyczną wspomaganą ultradźwiękami w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:10 i 1:20. Ekstrakcje prowadzono wodnymi roztworami etanolu o stężeniu 96%, 70% i 40% oraz wodą destylowaną. Czynniki i poziomy czynników przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Zestawienie czynników i ich poziomów w doświadczeniach

| Czynnik | Poziomy czynnika |
|--------------------------|--|
| Metoda ekstrakcji | S – ekstrakcja ciągła wyczerpująca w uniwersalnym systemie ekstrakcyjnym Büchi B-811 C10 – ekstrakcja periodyczna pod chłodnicą zwrotną w stosunku 1:10 C20 – ekstrakcja periodyczna pod chłodnicą zwrotną w stosunku 1:20 U10 – ekstrakcja periodyczna wspomagana ultradźwiękami w stosunku 1:10 U20 – ekstrakcja periodyczna wspomagana ultradźwiękami w stosunku 1:20 |
| Rozpuszczalnik | EtOH 96% – 96% roztwór etanolu EtOH 70% – 70% roztwór etanolu EtOH 40% – 40% roztwór etanolu Woda – woda destylowana |

1.2.1. Ekstrakcja ciągła wyczerpująca w uniwersalnym systemie ekstrakcyjnym Büchi B-811

Ekstrakcję przeprowadzono w zmodyfikowanym i zautomatyzowanym aparacie Soxhleta firmy Büchi. Rozdrobnione bezpośrednio przed ekstrakcją surowce o masie 5 g umieszczano w gilzach wykonanych z bibuły celulozowej. Do pojemników ekstrakcyjnych wlewano po 100 ml rozpuszczalnika. Ilość cykli dla roztworów etanolu wynosiła 25, a dla wody 20. Po ekstrakcji następował etap przepłukania gilz rozpuszczalnikiem a następnie rozpuszczalnik był odparowywany w tym samym urządzeniu. Ekstrakcja wraz z płukaniem i odparowaniem rozpuszczalników trwała około 4 godzin. Otrzymany ekstrakt przenoszono ilościowo do próbek na 25 ml i uzupełniano odpowiednim rozpuszczalnikiem do objętości 25 ml.

Doświadczenie wykonano w 3 powtórzeniach.

1.2.2. Ekstrakcja periodyczna pod chłodnicą zwrotną

Zastosowano dwustopniową ekstrakcję pod chłodnicą zwrotną. Każdą próbkę materiału roślinnego ekstrahowano dwukrotnie, każdorazowo po 25 (ekstrakcja w stosunku 1:10) lub 50 ml rozpuszczalnika (ekstrakcja w stosunku 1:20).

Rozdrobnione bezpośrednio przed ekstrakcją surowce o masie 5 g umieszczano w kolbie okrągłodennej, a następnie zalano pierwszą porcją rozpuszczalnika (25 lub 50 ml). Kolbę umieszczano w płaszczu grzejnym i podłączano do chłodnicy zwrotnej. Ekstrakcja trwała 30 minut od momentu wrzenia rozpuszczalnika. Otrzymane ekstrakty przesączały do kolb stożkowych a pozostałość poekstrakcyjną zalewano drugą porcją (25 lub 50 ml) tego samego rozpuszczalnika i ekstrahowano kolejne 30 minut od

momentu wrzenia rozpuszczalnika. Drugą porcję ekstraktu sączono i łączono z ekstraktem otrzymanym poprzednio.

Odparowanie rozpuszczalników prowadzono w wyparce rotacyjnej Rotovaporator® R-205 firmy Büchi wyposażonej w pompę próżniową Büchi Vac® V-500, kontroler próżni Büchi V-800 oraz łaźnię grzejącą Büchi B-490. Stosowano warunki zalecane przez producenta – temperatura wody w łaźni 60°C, temperatura skroplin 40°C, temperatura wody chłodzącej 20°C. Dla ekstraktów etanolowo-wodnych ustawiano ciśnienie 175 mbar (17500 Pa) a później 72 mbar (7200 Pa), a dla ekstraktów wodnych 72 mbar (7200 Pa). Prędkość obrotowa kolby wynosiła 100 obrotów na minutę. Otrzymany ekstrakt przenoszono ilościowo do próbek na 25 ml i uzupełniano odpowiednim rozpuszczalnikiem do objętości 25 ml.

Doświadczenie wykonano w 3 powtórzeniach.

1.2.3. Ekstrakcja periodyczna wspomagana ultradźwiękami

Zastosowano dwustopniową ekstrakcję wspomaganą ultradźwiękami. Każdą próbkę materiału roślinnego ekstrahowano dwukrotnie, każdorazowo po 25 (ekstrakcja w stosunku 1:10) lub 50 ml rozpuszczalnika (ekstrakcja w stosunku 1:20).

Do kolby stożkowej odważano 5 g surowca, zalewano pierwszą porcją rozpuszczalnika (25 lub 50 ml) i umieszczano w łaźni ultradźwiękowej (myjce ultradźwiękowej) Itersonic-102 i ekstrahowano przez 15 minut. Po tym czasie ekstrakty przesączano do kolby stożkowej a pozostałość poekstrakcyjną zalewano kolejną porcją rozpuszczalnika (25 lub 50 ml) i ponownie ekstrahowano 15 minut. Drugą porcję ekstraktu sączono i łączono z ekstraktem otrzymanym poprzednio.

Rozpuszczalniki odparowywano w taki sam sposób jak w przypadku ekstrakcji pod chłodnicą zwrotną. Otrzymany ekstrakt przenoszono ilościowo do próbek na 25 ml i uzupełniano odpowiednim rozpuszczalnikiem do objętości 25 ml.

Doświadczenie wykonano w 3 powtórzeniach.

1.3. Analiza HPLC

1.3.1. Wzorce

Standardy zakupiono w firmie ChromaDex. Zastosowano metodę krzywej kalibracyjnej wykreślonej na podstawie powierzchni pików substancji wzorcowych w programie CLASS VP 7.3. Sporządzono metanolowe roztwory poszczególnych substancji (0,5 mg×ml⁻¹, 1 mg×ml⁻¹ i 2,5 mg×ml⁻¹ zależnie od substancji), postępując zgodnie

z instrukcjami producenta. Roztwory nanoszono następnie na kolumnę w objętości 1, 2, 5, 10 i 20 μl za pomocą automatycznego podajnika próbek SIL-20A firmy Shimadzu i chromatografowano w opisanych niżej warunkach. Utworzono tabelę czasów retencji oraz bibliotekę elektronowych widm absorbcyjnych poszczególnych związków w zakresie 190-800 nm.

1.3.2. Przygotowanie próbek

Ekstrakty, które uzyskano w poszczególnych kombinacjach filtrowano przez filtr strzykawkowy 0,45 μm (Supelco IsoDisc PTFE 25mm \times 0,45 μm), a następnie nanoszono na kolumnę w ilości 10 μl za pomocą automatycznego podajnika próbek SIL-20A firmy Shimadzu.

1.3.3. Parametry rozdziału chromatograficznego

Analizę ilościową i jakościową otrzymanych ekstraktów prowadzono za pomocą chromatografu cieczowego firmy Shimadzu z detektorem diodowym SPD-M10A VP. Rozdział związków czynnych otrzymano stosując gradient binarny 10% acetonitrylu w wodzie (faza A) – 55% i acetonitrylu (ACN) w wodzie (faza B), przy przepływie 1,0 $\text{ml}\times\text{min}^{-1}$ w temperaturze 35°C na kolumnie Luna 5 μm C18(2) 250 mm \times 4,6 mm firmy Phenomenex. Czas analizy wynosił 40 min, przebieg gradientu faz ruchomych przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Gradient rozpuszczalników zastosowany w analizie HPLC

| Minuta analizy | % A (10% ACN) | % B (55% ACN) |
|----------------|---------------|---------------|
| 0,00 | 85 | 15 |
| 30,00 | 25 | 75 |
| 30,01 | 0 | 100 |
| 35,00 | 0 | 100 |
| 35,01 | 85 | 15 |
| 40,00 | stop | stop |

1.3.4. Parametry integracji wyników

Sygnal z detektora diodowego rejestrowano w postaci serii chromatogramów w zakresie długości fali 190-900 nm. Wyniki zintegrowano przy następujących długościach fali:

- 206 nm – epigalokatechina, katechina, epikatechina, galusan epigalokatechiny, galusan epikatechiny;
- 230 nm – kwas benzoesowy;
- 254 nm – kwas elagowy, rutozyd, hiperozyd, rutynozyd izoramnetyny, glukozyd izoramnetyny, izokewrcetyna;
- 264 nm – astragalina;
- 280 nm – kwas galusowy, kwas syryngowy;
- 300 nm – kwas salicylowy;
- 330 nm – kwas chlorogenowy, kwas kawowy, kwas rozmarynowy;
- 370 nm – spireozyd, kemferol, kwercetyna, kwercytryna.

Integrację przeprowadzono w programie CLASS VP 7.3 firmy Shimadzu. Zawartość poszczególnych związków biologicznie czynnych podano w mg na 100 g suchego ekstraktu.

1.4. Oznaczenie straty masy po suszeniu

Stratę masy po suszeniu oznaczono metodą suszarkowo-wagową wg FP VI. Do wyprażonych, suchych naczynek wagowych o znanej masie odważano po około 1 g badanego ekstraktu, notując dokładną masę. Następnie naczynka prażono w suszarce laboratoryjnej w temperaturze do 105°C przez 2,5 h. Po tym czasie naczynka

schłodzono w eksykatorze nad żelazem krzemionkowym przez 30 min i ważono. Następnie naczynka ponownie prażono przez 30 minut, schłodzono w eksykatorze przez 30 min i ważono. Czynności te powtarzano do utrzymania stałej masy ekstraktów w naczynkach.

1.5. Statystyczna analiza wyników

Wyniki opracowano statystycznie za pomocą programu STATGRAPHIC® Plus dla Windows, wersja 4.1. Stosowano metodę dwuczynnikowej analizy wariancji. Istotność różnic pomiędzy uzyskanymi wynikami oceniano stosując metodę Tukey'a HSD przy założonym poziomie istotności $\alpha=0,05$.

1.6. Oznaczenia i symbole

Metoda ekstrakcji

- S – ekstrakcja ciągła wyczerpująca w uniwersalnym systemie ekstrakcyjnym Büchi B-811
- C10 – ekstrakcja periodyczna pod chłodnicą zwrotną w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:10
- C20 – ekstrakcja periodyczna pod chłodnicą zwrotną w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:20
- U10 – ekstrakcja periodyczna wspomagana ultradźwiękami w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:10
- U20 – ekstrakcja periodyczna wspomagana ultradźwiękami w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:20

Rozpuszczalnik

- EtOH 96% – 96% roztwór etanolu
- EtOH 70% – 70% roztwór etanolu
- EtOH 40% – 40% roztwór etanolu
- Woda – woda destylowana

ni – nieistotne

2. Wyniki

2.1. Wiązówka bulwa

2.1.1. Kwiaty wiązówki bulwkowej

W ekstraktach z kwiatów wiązówki bulwkowej oznaczono 10 substancji biologicznie czynnych, w tym flawonoidy: spireozyd, kwercetynę, hiperozyd (3-D-galaktozyd kwercetyny), kemferol, astragalinę (3-O-glukozyd kemferolu); kwasy fenolowe: salicylowy, elagowy, galusowy, syryngowy, a z grupy garbników: epikatechinę. Wśród związków flawonoidowych dominującym związkiem był spireozyd, natomiast wśród kwasów fenolowych - kwas galusowy.

Zawartość poszczególnych związków zależała przede wszystkim od użytej metody ekstrakcji. Większość zidentyfikowanych związków w największych ilościach wystąpiła w ekstraktach uzyskanych w wyniku ekstrakcji periodycznej pod chłodnicą zwrotną w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:10. Najbardziej wydajnym rozpuszczalnikiem był zazwyczaj 96% alkohol etylowy (tab. 3-5).

Tabela 3. Zawartość związków flawonoidowych w ekstraktach uzyskanych z kwiatów wiązówki bulwkowej (mg×100g⁻¹ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|-------------------|---------|--------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| spirozyd | S | 1689,07±192,52 | 1067,52±98,71 | 312,70±44,61 | 1041,63±59,36 | 1027,73±562,85 b |
| | C10 | 6878,96±3828,82 | 2390,40±615,20 | 1450,83±39,62 | 892,79±79,46 | 2903,25±2721,57 a |
| | C20 | 1939,25±73,96 | 1181,69±13,18 | 870,40±50,73 | 351,19±14,41 | 1085,63±664,23 b |
| | U10 | 1128,24±219,48 | 3333,60±93,41 | 991,09±50,71 | 161,60±30,78 | 1403,63±1355,66 b |
| | U20 | 1330,76±72,27 | 1799,91±88,16 | 621,56±119,36 | 651,46±50,69 | 1100,92±569,57 b |
| | Średnia | 2593,26±2416,23 a | 1954,62±935,39 ab | 1504,23±795,66 bc | 619,73±365,91 c | |
| kwercetyna | S | 54,94±8,73 | 26,17±1,48 | 11,64±0,87 | 56,74±11,18 | 37,37±22,15 bc |
| | C10 | 244,31±140,14 | 108,75±40,54 | 44,63±5,07 | 75,61±32,09 | 118,33±87,98 ab |
| | C20 | 50,94±34,73 | 44,48±8,69 | 25,77±3,85 | 18,93±2,81 | 35,03±15,14 c |
| | U10 | 141,05±45,62 | 109,83±92,13 | 238,37±57,44 | 306,03±48,26 | 198,82±90,03 a |
| | U20 | 70,68±24,18 | 212,63±2,08 | 121,55±8,55 | 75,81±21,98 | 120,17±65,75 a |
| | Średnia | 112,38±82,22 ni | 100,37±73,13 ni | 88,39±93,97 ni | 106,62±113,86 ni | |
| hiperozyd | S | 788,28±79,32 | 647,60±21,69 | 327,91±32,20 | 1359,99±188,61 | 780,95±431,42 b |
| | C10 | 5854,21±812,89 | 1179,90±24,24 | 1169,51±106,22 | 700,00±35,39 | 2225,91±2429,20 a |
| | C20 | 992,61±70,67 | 1261,19±165,84 | 669,26±10,04 | 341,58±10,63 | 816,16±398,33 b |
| | U10 | 766,24±154,09 | 1934,83±158,45 | 767,86±106,77 | 873,06±111,19 | 1085,50±568,42 b |
| | U20 | 782,73±26,46 | 938,89±92,35 | 724,74±90,02 | 483,29±77,06 | 732,41±189,11 b |
| | Średnia | 1836,81±2247,71 a | 1192,48±478,84 ab | 731,86±299,99 b | 751,58±396,13 b | |
| kemferol | S | 373,27±44,03 | 210,45±30,84 | 70,11±12,42 | 312,61±23,13 | 241,61±132,61 b |
| | C10 | 1444,81±802,15 | 475,98±214,07 | 272,61±29,16 | 186,52±30,35 | 594,98±579,41 a |
| | C20 | 432,51±44,87 | 292,53±51,05 | 169,94±15,29 | 81,45±8,36 | 244,11±152,53 b |
| | U10 | 222,42±55,01 | 539,55±99,33 | 172,15±15,20 | 82,14±11,02 | 254,07±198,97 b |
| | U20 | 332,54±25,59 | 306,81±30,31 | 116,51±21,96 | 136,77±20,09 | 223,16±112,25 b |
| | Średnia | 561,11±499,93 a | 365,06±137,21 ab | 160,26±75,66 b | 159,90±95,87 b | |
| astragalina | S | 603,51±75,97 | 434,27±21,92 | 216,66±27,94 | 1014,55±119,00 | 567,25±337,63 b |
| | C10 | 3473,34±433,21 | 796,67±43,11 | 769,25±49,37 | 704,73±176,01 | 1436,00±1358,77 a |
| | C20 | 174,58±8,12 | 1020,47±46,82 | 538,71±60,84 | 348,84±20,87 | 520,65±364,89 b |
| | U10 | 611,89±107,00 | 1423,01±55,01 | 532,59±62,14 | 1151,20±1090,38 | 929,67±428,61 ab |
| | U20 | 844,36±44,30 | 882,73±140,29 | 513,68±71,45 | 454,39±44,39 | 673,79±221,00 b |
| | Średnia | 1141,54±1325,77 ni | 911,43±358,91 ni | 514,18±196,55 ni | 734,74±346,46 ni | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 4. Zawartość kwasów fenolowych w ekstraktach uzyskanych z kwiatów wiaźówki bulwkowej (mg×100g⁻¹ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|-------------------|---------|------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| kwas salicylowy | S | 25,91±2,84 | 14,42±1,50 | 15,11±2,15 | 196,43±3,23 | 62,97±89,13 b |
| | C10 | 872,44±268,78 | 234,31±21,79 | 169,78±11,52 | 100,88±18,98 | 344,35±356,25 a |
| | C20 | 53,82±1,51 | 190,28±14,18 | 62,13±2,79 | 110,02±6,17 | 104,06±62,59 b |
| | U10 | 83,27±7,57 | 173,10±36,70 | 116,55±22,25 | 353,55±33,44 | 181,62±120,47 ab |
| | U20 | 51,46±13,03 | 90,91±13,31 | 49,35±5,37 | 34,42±3,52 | 56,54±24,14 b |
| | Średnia | 217,38±366,75 ni | 140,60±87,60 ni | 82,58±60,89 ni | 159,06±123,03 ni | |
| kwas elagowy | S | 292,32±33,03 | 498,07±20,14 | 497,98±37,42 | 2380,22±327,73 | 917,15±980,19 b |
| | C10 | 2522,97±238,86 | 841,34±30,93 | 1063,32±78,36 | 1574,93±109,50 | 1500,64±747,57 a |
| | C20 | 555,48±30,31 | 1392,99±215,60 | 1246,20±33,57 | 943,74±126,14 | 1034,60±370,15 b |
| | U10 | 599,43± 212,77 | 884,00±71,06 | 507,07±60,78 | 737,48±63,87 | 682,00±164,62 c |
| | U20 | 338,76±27,51 | 349,30±26,78 | 1118,11±69,77 | 592,14±59,43 | 599,58±364,96 c |
| | Średnia | 861,79±938,09 ni | 793,14±404,49 ni | 886,54±356,79 ni | 1245,70±736,91 ni | |
| kwas galusowy | S | 391,65±38,75 | 477,97±16,09 | 1099,92±55,35 | 9189,53±1354,16 | 2789,77±4278,16 ni |
| | C10 | 2358,86±275,52 | 741,16±90,92 | 1582,43±93,06 | 3460,58±250,44 | 2035,76±1157,01 ni |
| | C20 | 494,92±109,25 | 1353,85±78,08 | 1538,39±67,45 | 639,08±50,90 | 1006,56±516,49 ni |
| | U10 | 746,90±138,01 | 326,71±45,25 | 660,08±161,63 | 1488,70±221,01 | 805,60±490,10 ni |
| | U20 | 364,22±61,83 | 2730,09±163,09 | 4354,23±246,30 | 689,17±86,52 | 2034,43±1867,68 ni |
| | Średnia | 871,31±845,16 b | 1125,96±978,77 b | 1847,01±1450,72 ab | 3093,41±3594,33 a | |
| kwas syryngowy | S | 1603,08±127,00 | 309,25±25,14 | 151,20±6,95 | 877,15±17,89 | 735,17±657,23 b |
| | C10 | 3486,91±443,33 | 685,72±158,69 | 464,84±8,40 | 700,21±269,77 | 1334,42±1439,03 ab |
| | C20 | 2064,93±134,92 | 422,86±30,13 | 499,19±34,81 | 416,36±20,25 | 850,84±810,27 b |
| | U10 | 1295,94±305,94 | 3257,57±344,29 | 1221,03±103,78 | 746,45±13,21 | 1630,25±1111,83 a |
| | U20 | 1708,94±142,33 | 326,07±51,32 | 300,59±26,36 | 246,21±26,84 | 645,45±709,77 b |
| | Średnia | 2031,96±858,48 a | 1000,29±1270,81 b | 1039,23±424,10 b | 597,28±258,44 b | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 5. Zawartość epigalokatechiny w ekstraktach uzyskanych z kwiatów wiaźówki bulwkowej (mg×100g⁻¹ s.m. ekstraktu)

| Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------|
| | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| S | 409,86±10,64 | 516,35±4,28 | 424,27±41,19 | 461,08± 4,99 | 452,89±47,49 b |
| C10 | 2878±914,64 | 254,69±36,17 | 759,48±9,33 | 493,35±136,70 | 1096,628±1206,00 a |
| C20 | 149,44±7,49 | 310,53±24,15 | 181,97±14,14 | 123,28±13,20 | 191,305±83,03 b |
| U10 | 847,83±54,34 | 272,84±49,24 | 251,13±31,54 | 164,73±34,01 | 384,13±312,64 b |
| U20 | 199,54±13,90 | 109,86±2,20 | 140,74±4,86 | 167,78±10,64 | 154,48±38,24 b |
| Średnia | 897,13±1141,63 a | 292,85±146,29 b | 351,52±252,48 b | 282,04±179,39 b | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

2.1.2. Ziele wiązówki bulwkowej

W ekstraktach z ziela wiązówki bulwkowej oznaczono 13 substancji biologicznie aktywnych. Flawonoidy: spireozyd, kwercetynę, hiperozyd (3-D-galaktozyd kwercetyny), kemferol, astragalinę (3-O-glukozyd kemferolu); kwasy fenolowe: salicylowy, elagowy, galusowy, chlorogenowy, kawowy (3-4-dihydroksycynamonowy) i rozmarynowy oraz garbniki: epigalokatechinę i katechinę. Wśród związków flawonoidowych w największych ilościach wystąpił hiperozyd, a wśród kwasów fenolowych – kwas galusowy i chlorogenowy. Zawartość flawonoidów i garbników zależała przede wszystkim od metody ekstrakcji, przy czym zazwyczaj najbardziej wydajną była ekstrakcja periodyczna pod chłodnicą zwrotną w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:10. Skład chemiczny uzyskanych ekstraktów nie zależał w szczególny sposób od któregoś z użytych rozpuszczalników (tab. 6-8).

Tabela 6. Zawartość związków flawonoidowych w ekstraktach uzyskanych z ziela wiązówki bulwkowej (mg×100g⁻¹ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|-------------------|---------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| spiroozyd | S | 32,14±3,58 | 25,58±0,67 | 25,68±2,49 | 342,46±34,75 | 106,47±157,36 ab |
| | C10 | 365,60±29,25 | 146,49±27,91 | 137,89±18,25 | 128,92±17,22 | 194,73±114,14 a |
| | C20 | 185,22±21,48 | 27,02±3,26 | 86,58±17,70 | 29,92±2,78 | 82,19±73,96 b |
| | U10 | 87,88±1,39 | 67,43±6,69 | 237,00±48,43 | 71,87±28,55 | 116,05±81,11 ab |
| | U20 | 245,55±18,06 | 83,68±12,37 | 47,88±4,29 | 19,09±5,19 | 99,05±101,18 ab |
| | Średnia | 183,28±131,40 a | 70,04±49,66 b | 107,01±84,23 ab | 118,45±132,45 ab | |
| kwercetyna | S | 5,96±0,74 | 2,59±0,25 | 3,30±0,40 | 16,03±4,36 | 6,97±6,21 b |
| | C10 | 34,74±6,66 | 21,42±3,65 | 5,24±2,27 | 29,08±4,10 | 22,62±12,81 ab |
| | C20 | 20,07±11,89 | 3,27±1,71 | 3,38±0,86 | 33,24±1,06 | 14,99±14,50 b |
| | U10 | 28,26±1,98 | 17,93±1,08 | 13,35±0,55 | 12,34±1,89 | 17,97±7,28 ab |
| | U20 | 13,47±2,25 | 8,33±0,74 | 14,79±4,00 | 106,23±6,51 | 35,71±47,10 a |
| | Średnia | 20,50±11,45 b | 10,71±8,57 b | 8,01±5,61 b | 39,38±38,37 a | |
| hiperozyd | S | 1287,01±155,67 | 1303,85±115,22 | 738,36±60,45 | 248,67±61,56 | 894,47±504,35 a |
| | C10 | 1463,65±294,88 | 1495,55±323,61 | 1346,89±29,70 | 291,37±28,71 | 1149,37±575,55 a |
| | C20 | 1456,75±34,73 | 944,36±159,94 | 963,97±140,10 | 1215,82±70,39 | 1145,23±241,68 a |
| | U10 | 250,10±41,51 | 680,57±70,70 | 629,28±116,52 | 215,84±16,77 | 443,95±244,91 b |
| | U20 | 635,81±39,59 | 1647,68±214,71 | 793,66±32,69 | 271,39±21,36 | 837,14±582,94 a |
| | Średnia | 1018,66±547,54 ab | 1214,40±397,70 a | 8940,43±280,34 b | 448,62±429,80 C | |
| kemferol | S | 23,61±4,61 | 21,58±2,96 | 18,46±1,08 | 135,22±11,66 | 49,72±57,04 bc |
| | C10 | 181,96±41,34 | 78,70±6,86 | 51,67±6,12 | 154,36±22,17 | 116,67±61,51 a |
| | C20 | 72,36±4,64 | 23,05±2,00 | 26,60±4,08 | 47,06±2,47 | 42,27±22,68 c |
| | U10 | 71,51±8,93 | 71,86±1,43 | 153,01±38,79 | 76,61±15,58 | 93,25±39,91 ab |
| | U20 | 123,33±18,28 | 65,88±7,25 | 34,43±4,09 | 44,04±2,60 | 66,92±39,84 bc |
| | Średnia | 94,55±60,26 a | 52,21±27,67 b | 56,83±55,15 ab | 91,46±50,77 a | |
| astragalina | S | 137,54±13,83 | 92,54±19,67 | 90,54±2,94 | 372,72±8,09 | 173,34±134,68 b |
| | C10 | 367,69±61,86 | 361,97±93,87 | 236,70±15,16 | 308,82±45,60 | 318,80±60,81 a |
| | C20 | 157,20±34,46 | 96,66±8,54 | 174,55±35,68 | 113,49±8,63 | 135,48±36,46 b |
| | U10 | 175,53±25,73 | 176,96±30,87 | 241,44±13,39 | 183,26±14,84 | 194,30±31,61 b |
| | U20 | 171,53±15,05 | 268,44±61,88 | 162,01±19,59 | 147,27±17,95 | 187,31±55,00 b |
| | Średnia | 201,90±93,87 b | 199,31±115,84 b | 181,05±61,93 b | 225,11±110,75 a | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 7. Zawartość kwasów fenolowych w ekstraktach uzyskanych z ziela wiązówki bulwkowej (mg×100g⁻¹ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|-------------------|---------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| kwas salicylowy | S | 14,93±3,47 | 9,01±1,59 | 11,26±0,94 | 220,71±6,36 | 63,98±104,52 ni |
| | C10 | 128,44±18,86 | 97,11±26,25 | 84,41±12,88 | 79,16±11,68 | 97,28±22,10 ni |
| | C20 | 122,44±27,11 | 41,02±9,35 | 55,26±3,52 | 36,72±12,36 | 63,86±39,85 ni |
| | U10 | 125,73±20,82 | 84,95±17,62 | 28,21±6,55 | 48,16±6,20 | 71,76±42,97 ni |
| | U20 | 52,36±7,56 | 78,21±23,99 | 66,69±4,61 | 66,12±1,88 | 65,85±10,58 ni |
| | Średnia | 88,78±52,09 ni | 62,06±36,30 ni | 49,17±29,42 ni | 90,17±74,77 ni | |
| kwas elagowy | S | 22,71±1,28 | 169,41±31,88 | 176,30±10,48 | 82,18±1,85 | 112,65±73,69 b |
| | C10 | 221,43±99,89 | 358,52±110,16 | 406,45±45,32 | 309,25±5,04 | 346,41±114,98 a |
| | C20 | 205,42±76,93 | 279,81±34,68 | 394,23±61,53 | 493,02±47,42 | 343,12±126,56 a |
| | U10 | 157,86±12,56 | 150,23±20,38 | 203,72±73,01 | 419,65±58,76 | 232,87±126,74 ab |
| | U20 | 69,25±3,02 | 389,75±232,69 | 197,54±30,83 | 354,97±255,61 | 252,88±148,25 a |
| | Średnia | 135,33±86,43 b | 269,54±108,09 a | 275,65±114,36 a | 331,81±155,78 a | |
| kwas galusowy | S | 609,87±40,18 | 216,57±17,92 | 1406,71±29,18 | 556,43±35,04 | 697,40±503,94 a |
| | C10 | 265,50±31,86 | 514,47±103,99 | 837,38±82,73 | 536,16±58,81 | 538,38±234,12 ab |
| | C20 | 580,85±63,18 | 341,25±56,86 | 558,52±105,72 | 324,35±30,13 | 451,24±137,24 b |
| | U10 | 328,95±22,16 | 167,15±24,43 | 471,57±29,99 | 392,88±66,40 | 340,14±129,24 b |
| | U20 | 158,07±18,64 | 278,04±20,96 | 754,31±19,57 | 362,41±17,09 | 388,21±258,07 b |
| | Średnia | 388,65±198,61 b | 303,50±134,84 b | 805,70±366,61 a | 434,45±105,19 b | |
| kwas chlorogenowy | S | 525,55±49,24 | 313,48±24,47 | 257,06±17,01 | 364,92±96,52 | 365,25±115,59 ni |
| | C10 | 311,58±35,58 | 199,31±57,23 | 661,66±18,46 | 457,55±44,81 | 407,53±199,70 ni |
| | C20 | 488,92±13,81 | 666,98±84,68 | 236,28±22,54 | 749,41±20,08 | 535,40±227,12 ni |
| | U10 | 159,70±30,35 | 509,84±66,96 | 485,54±45,73 | 113,80±14,70 | 317,22±209,46 ni |
| | U20 | 22,88±0,42 | 764,60±65,54 | 573,20±53,44 | 203,46±8,60 | 391,04±338,36 ni |
| | Średnia | 301,73±213,99 ni | 490,84±236,00 ni | 442,75±189,66 ni | 377,83±247,34 ni | |
| kwas kawowy | S | 84,49±11,18 | 205,63±17,22 | 34,08±7,55 | 348,89±99,97 | 168,27±140,29 c |
| | C10 | 378,87±54,81 | 619,89±58,24 | 786,96±37,23 | 300,02±76,06 | 521,44±223,27 a |
| | C20 | 445,26±8,33 | 222,07±34,43 | 316,29±15,28 | 538,89±3,39 | 380,63±139,65 ab |
| | U10 | 241,78±36,49 | 304,39±4,69 | 263,39±18,86 | 56,65±4,25 | 216,55±109,72 c |
| | U20 | 124,44±12,74 | 406,65±35,95 | 275,40±39,54 | 153,70±33,61 | 240,05±128,88 bc |
| | Średnia | 254,97±156,39 ni | 351,73±169,80 ni | 335,22±275,61 ni | 279,63±185,75 ni | |
| kwas rozmarynowy | S | 46,38±1,50 | 67,21±2,68 | 40,96±0,56 | 24,95±4,05 | 44,88±17,45 b |
| | C10 | 155,59±34,71 | 190,72±67,91 | 48,15±14,56 | 86,23±20,90 | 120,17±64,73 ab |
| | C20 | 98,22±5,24 | 34,73±5,37 | 62,19±22,63 | 94,20±27,11 | 72,34±29,81 b |
| | U10 | 627,02±27,95 | 72,77±21,50 | 101,86±26,76 | 95,60±17,02 | 224,31±268,76 a |
| | U20 | 84,91±12,29 | 57,79±10,88 | 76,52±20,88 | 14,16±6,91 | 58,35±31,56 b |
| | Średnia | 202,42±240,57 a | 84,64±61,05 b | 65,94±24,27 b | 63,03±40,03 b | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 8. Zawartość garbników w ekstraktach uzyskanych z ziela wiązówki bulwkowej (mg×100g⁻¹ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | | | | | |
|-------------------|----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| katechina | S | 602,47±51,72 | 402,38±26,89 | 237,38±4,40 | 157,41±20,34 | 349,91±196,86 ab |
| | C10 | 344,94±73,67 | 508,23±60,64 | 434,32±30,53 | 650,45±15,44 | 484,49±129,23 a |
| | C20 | 219,72±19,78 | 148,25±23,13 | 126,10±30,73 | 291,60±48,66 | 196,42±74,98 b |
| | U10 | 246,19±22,74 | 211,66±19,93 | 461,06±125,78 | 255,75±47,80 | 293,67±113,19 b |
| | U20 | 670,47±24,30 | 498,73±65,83 | 135,60±9,66 | 70,27±5,55 | 343,77±288,03 ab |
| | Średnia | 416,76±207,32 ni | 353,85±165,58 ni | 278,89±160,42 ni | 285,10±221,83 ni | |
| epigalokatechina | S | 117,55±7,07 | 254,37±28,53 | 249,17±10,25 | 431,14±114,33 | 263,06±128,70 b |
| | C10 | 74,97±15,05 | 116,42±8,18 | 259,57±21,69 | 345,84±42,73 | 199,20±125,74 b |
| | C20 | 547,24±21,70 | 685,12±68,88 | 499,90±67,47 | 621,25±91,70 | 588,38±81,57 a |
| | U10 | 229,44±35,23 | 167,17±9,01 | 498,64±57,53 | 245,27±22,14 | 285,13±146,28 b |
| | U20 | 73,47±13,45 | 309,92±31,10 | 625,66±7,12 | 164,44±26,57 | 293,37±241,98 b |
| | Średnia | 208,53±199,70 c | 306,60±224,51 c | 426,59±165,51 a | 361,59±176,71 ab | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

2.1.3. Organy podziemne wiąźówki bulwkowej

W ekstraktach z organów podziemnych wiąźówki bulwkowej znaleziono 7 substancji, 3 kwasy fenolowe (salicyłowy, elagowy, galusowy) i 4 garbniki (katechinę, epikatechinę, galusan epikatechiny, epigalokatechinę), które wystąpiły w znacznie większych ilościach niż kwasy fenolowe. Nie stwierdzono wyraźnych zależności pomiędzy składem chemicznym ekstraktów a metodą ekstrakcji z tym że katechina i galusan epikatechiny wystąpiły w największej ilości w ekstraktach uzyskanych przy użyciu ekstrakcji periodycznej pod chłōdnicą zwrotną w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:10, a epigalokatechina w ekstraktach otrzymanych przy użyciu ekstrakcji ciągłej wyczerpującej w uniwersalnym systemie ekstrakcyjnym Büchi B-811 (tab. 9 i 10).

Tabela 9. Zawartość kwasów fenolowych w ekstraktach uzyskanych z organów podziemnych wiąźówki bulwkowej ($\text{mg} \times 100\text{g}^{-1}$ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|-------------------|---------|--------------------|------------------|-----------------|-------------------|--------------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| kwas salicyłowy | S | 2,08±0,34 | 4,66±0,73 | 7,82±0,40 | 37,29±3,99 | 12,96±16,39 b |
| | C10 | 22,39±1,69 | 174,99±22,01 | 18,71±3,12 | 17,02±1,90 | 58,28±77,84 ab |
| | C20 | 8,58±0,22 | 16,22±2,79 | 7,58±0,61 | 6,79±0,53 | 9,79±4,35 b |
| | U10 | 88,53±9,48 | 15,89±2,46 | 44,19±4,48 | 15,72±1,85 | 41,08±34,35 ab |
| | U20 | 33,10±1,74 | 45,09±0,68 | 6,71±0,36 | 243,97±15,10 | 82,22±109,02 a |
| | Średnia | 30,94±34,38 ni | 51,37±70,71 ni | 17,00±15,98 ni | 64,16±101,14 ni | |
| kwas elagowy | S | 76,09±3,72 | 148,13±10,42 | 141,89±14,52 | 969,50±87,71 | 333,90±424,98 ni |
| | C10 | 131,55±22,03 | 1233,62±136,31 | 260,32±17,60 | 255,34±23,15 | 470,21±512,42 ni |
| | C20 | 187,88±16,41 | 272,35±25,68 | 98,53±5,16 | 198,24±18,45 | 189,25±71,22 ni |
| | U10 | 367,63±17,77 | 385,69±65,68 | 275,33±5,27 | 273,77±31,81 | 325,61±59,42 ni |
| | U20 | 199,84±31,91 | 404,02±59,79 | 123,32±10,63 | 357,97±30,62 | 271,29±131,82 ni |
| | Średnia | 192,60±109,56 b | 488,76±428,80 a | 179,88±81,92 b | 410,96±317,44 ab | |
| kwas galusowy | S | 275,92±59,07 | 518,91±86,08 | 479,87±12,66 | 2398,70±267,71 | 918,35±992,63 ni |
| | C10 | 276,97±32,04 | 2650,85±644,09 | 581,98±50,51 | 1224,52±31,78 | 1183,58±1054,90 ni |
| | C20 | 264,24±32,27 | 526,30±32,08 | 624,54±49,81 | 896,84±99,87 | 577,98±261,37 ni |
| | U10 | 3372,86±265,86 | 933,18±109,24 | 584,02±68,74 | 734,94±107,76 | 1406,25±1318,85 ni |
| | U20 | 2020,83±314,28 | 363,88±21,81 | 381,34±25,04 | 779,33±107,32 | 886,35±780,28 ni |
| | Średnia | 1242,16±1411,36 ni | 998,62±947,40 ni | 530,35±98,96 ni | 1206,87±693,25 ni | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 10. Zawartość garbników w ekstraktach uzyskanych z organów podziemnych wiązówki bulwkowej ($\text{mg} \times 100\text{g}^{-1}$ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|----------------------|---------|-------------------|--------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| katechina | S | 713,91±150,45 | 329,07±18,67 | 1165,13±52,02 | 1971,87±288,50 | 1045,00±706,09 ab |
| | C10 | 1571,18±90,86 | 3100,13±152,99 | 1074,84±74,95 | 1032,35±33,41 | 1694,63±968,40 a |
| | C20 | 398,24±10,23 | 146,59±32,88 | 941,86±18,42 | 1144,81±44,34 | 657,88±464,25 b |
| | U10 | 2702,81±269,79 | 1295,53±412,00 | 947,45±156,62 | 660,20±67,34 | 1401,50±905,60 ab |
| | U20 | 1849,16±285,53 | 808,29±52,04 | 642,27±72,51 | 1125,39±157,21 | 1106,28±534,27 ab |
| | Średnia | 1447,06±920,81 ni | 1135,92±1185,40 ni | 954,31±197,83 ni | 1186,92±480,37 ni | |
| epikatechina | S | 197,21±22,87 | 869,68±132,06 | 410,20±36,96 | 1748,77±290,20 | 806,47±688,03 ab |
| | C10 | 2441,58±278,11 | 1320,91±85,44 | 459,86±24,55 | 1457,70±146,40 | 1420,01±811,73 ab |
| | C20 | 1298,16±145,37 | 230,01±15,89 | 346,99±19,47 | 686,76±86,69 | 640,48±479,34 b |
| | U10 | 4239,46±65,44 | 809,83±394,42 | 599,46±53,92 | 397,23±38,96 | 1511,50±1826,43 a |
| | U20 | 1308,74±156,08 | 401,61±42,08 | 348,41±34,96 | 611,96±154,80 | 667,68±442,26 b |
| | Średnia | 1897,03±1531,15 a | 726,41±428,03 b | 432,98±104,29 b | 980,48±587,42 b | |
| galusan epikatechiny | S | 266,98±52,70 | 238,66±12,89 | 243,22±8,40 | 1601,96±299,15 | 587,71±676,28 ab |
| | C10 | 936,15±38,84 | 1054,03±265,46 | 357,97±35,76 | 637,15±56,91 | 746,33±312,76 a |
| | C20 | 263,16±15,61 | 320,30±32,51 | 285,94±27,81 | 281,18±59,49 | 287,65±23,88 b |
| | U10 | 1555,99±273,54 | 294,07±24,82 | 285,08±34,85 | 231,39±43,37 | 591,63±643,50 ab |
| | U20 | 472,82±61,99 | 207,33±26,24 | 179,91±15,53 | 508,93±71,84 | 342,25±172,62 ab |
| | Średnia | 699,02±551,91 a | 422,88±355,62 ab | 270,42±65,29 b | 652,12±556,22 a | |
| epigalokatechina | S | 877,69±64,43 | 583,52±16,69 | 685,06±71,10 | 4503,03±429,80 | 1662,33±1897,73 a |
| | C10 | 655,40±68,66 | 1422,80±96,72 | 491,85±31,29 | 1028,39±183,97 | 899,61±414,82 ab |
| | C20 | 835,01±136,28 | 364,37±12,12 | 383,94±36,32 | 543,10±65,95 | 531,61±217,53 b |
| | U10 | 1614,64±84,26 | 1667,90±357,26 | 358,42±42,53 | 330,06±48,85 | 992,76±749,25 ab |
| | U20 | 180,18±25,88 | 408,49±38,55 | 422,86±75,29 | 2336,55±97,85 | 837,02±1005,85 ab |
| | Średnia | 832,58±517,37 b | 889,42±610,55 b | 468,43±131,14 b | 1748,23±1726,03 a | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

2.2. Kuklik pospolity

2.2.1 Ziele kuklika pospolitego

W ekstraktach z ziela kuklika pospolitego oznaczono 7 substancji biologicznie czynnych. Wśród nich flawonoidy: rutozyd, hiperozyd i astragalinę oraz kwasy fenolowe: elagowy, chlorogenowy, kawowy i rozmarynowy. Najbardziej wydajnym sposobem ekstrakcji dla wszystkich zidentyfikowanych związków okazała się ekstrakcja periodyczna wspomagana ultradźwiękami w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:10. W przypadku flawonoidów najlepszym ekstrahentem był 40% alkohol etylowy, a garbników – woda (tab. 11 i 12).

Tabela 11. Zawartość związków flawonoidowych w ekstraktach uzyskanych z ziela kuklika pospolitego ($\text{mg} \times 100\text{g}^{-1}$ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|-------------------|---------|------------------|------------------|-----------------|----------------|-----------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| rutozyd | S | 91,53±5,77 | 157,57±6,98 | 222,68±10,45 | 89,28±10,00 | 140,26±63,42 b |
| | C10 | 415,14±48,55 | 231,76±28,21 | 301,82±68,03 | 172,18±12,75 | 280,23±104,39 b |
| | C20 | 96,45±8,04 | 151,16±14,00 | 299,86±42,65 | 327,11±9,26 | 218,65±112,32 b |
| | U10 | 422,47±119,35 | 775,06±66,71 | 1114,71±188,05 | 151,11±36,98 | 615,84±419,36 a |
| | U20 | 156,24±16,82 | 479,77±55,21 | 226,55±68,25 | 248,73±29,77 | 277,82±140,29 b |
| | Średnia | 236,37±168,50 b | 359,06±268,16 ab | 433,12±382,92 a | 197,68±92,10 b | |
| hiperozyd | S | 102,39±7,82 | 151,35±11,17 | 190,49±19,32 | 57,93±6,78 | 125,54±57,71 c |
| | C10 | 282,35±43,59 | 247,89±22,54 | 268,73±54,05 | 301,97±48,16 | 275,23±22,77 b |
| | C20 | 113,09±6,95 | 139,26±16,95 | 128,35±41,43 | 100,23±17,74 | 120,23±17,12 c |
| | U10 | 478,11±31,33 | 788,78±70,90 | 421,80±34,69 | 128,72±27,03 | 454,35±270,49 a |
| | U20 | 106,68±28,76 | 323,67±59,08 | 471,38±116,02 | 212,39±36,33 | 278,53±156,14 b |
| | Średnia | 216,52±164,74 ab | 330,19±267,19 a | 296,15±147,11 a | 160,25±97,30 b | |
| astragalina | S | 51,49±0,40 | 66,79±3,03 | 61,07±3,43 | 29,33±1,14 | 52,17±16,48 b |
| | C10 | 206,13±7,51 | 125,64±9,37 | 232,32±22,63 | 84,03±8,71 | 162,03±69,03 b |
| | C20 | 45,89±5,62 | 45,50±5,48 | 146,12±19,71 | 254,59±33,16 | 123,02±99,67 b |
| | U10 | 346,38±27,00 | 437,42±53,27 | 829,12±23,04 | 67,21±11,08 | 420,03±314,94 a |
| | U20 | 162,88±20,34 | 219,30±39,69 | 127,02±19,40 | 53,02±5,64 | 140,56±69,63 b |
| | Średnia | 162,55±124,14 ab | 178,93±159,42 ab | 279,13±313,47 a | 97,64±90,00 b | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 12. Zawartość kwasów fenolowych w ekstraktach uzyskanych z ziela kuklika pospolitego (mg×100g⁻¹ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|-------------------|---------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|--------------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| kwas elagowy | S | 177,80±14,92 | 95,05±12,12 | 492,61±24,02 | 142,85±22,39 | 227,08±180,24 d |
| | C10 | 919,45±24,58 | 923,98±117,46 | 953,59±121,60 | 537,40±85,42 | 833,61±198,05 b |
| | C20 | 189,07±19,61 | 228,12±26,49 | 463,67±35,71 | 945,38±96,43 | 456,56±347,72 c |
| | U10 | 1388,52±190,93 | 1509,37 ± 70,26 | 1718,39 ± 134,22 | 759,72 ± 128,73 | 1344,00 ± 412,67 a |
| | U20 | 148,91±41,62 | 479,53±35,11 | 443,22±8,82 | 577,15±40,75 | 412,20±184,41 c |
| | Średnia | 564,75±563,07 c | 647,21±576,32 bc | 814,30±547,93 b | 592,50±299,14 a | |
| kwas chlorogenowy | S | 204,43 ± 8,65 | 309,81 ± 14,17 | 469,44 ± 20,28 | 61,94 ± 4,71 | 261,41±171,91 ab |
| | C10 | 272,93 ± 14,31 | 506,43 ± 59,60 | 132,62 ± 27,04 | 332,54 ± 20,39 | 311,13±154,84 ab |
| | C20 | 46,34 ± 11,17 | 426,21 ± 29,22 | 121,77 ± 5,10 | 149,87 ± 40,41 | 186,05±165,97 b |
| | U10 | 159,36 ± 15,81 | 624,57 ± 29,55 | 693,72 ± 75,18 | 144,53 ± 0,55 | 405,54±294,25 a |
| | U20 | 28,65 ± 3,97 | 453,49 ± 28,76 | 156,12 ± 39,45 | 125,61 ± 11,00 | 190,97±183,26 b |
| | Średnia | 142,34±104,09 c | 464,10±114,99 a | 314,73±256,48 b | 162,90±101,08 c | |
| kwas kawowy | S | 28,97±1,70 | 30,21±2,43 | 55,02±1,83 | 74,72±3,12 | 47,23±21,90 b |
| | C10 | 53,29±3,71 | 74,07±8,34 | 92,90±18,70 | 53,62±16,96 | 68,47±18,96 b |
| | C20 | 25,83±8,18 | 75,05±8,01 | 54,07±4,76 | 92,28±21,56 | 61,81±28,62 b |
| | U10 | 133,19±16,93 | 87,60±4,45 | 100,66±29,43 | 208,32±22,64 | 132,44±54,10 a |
| | U20 | 18,23±4,21 | 134,83±35,16 | 158,48±24,88 | 49,36±3,42 | 90,22±67,08 ab |
| | Średnia | 51,90±47,30 b | 80,35±37,42 ab | 92,22±42,72 a | 95,66±65,29 a | |
| kwas rozmarynowy | S | 177,80±14,92 | 95,05±12,12 | 492,61±24,02 | 142,85±22,39 | 227,08±180,24 d |
| | C10 | 919,45±24,58 | 923,98±117,46 | 953,59±121,60 | 537,40±85,42 | 833,61±198,05 b |
| | C20 | 189,07±19,61 | 228,12±26,49 | 463,67±35,71 | 945,38±96,43 | 456,56±347,72 c |
| | U10 | 1388,52±190,93 | 1509,37 ± 70,26 | 1718,39 ± 134,22 | 759,72 ± 128,73 | 1344,00 ± 412,67 a |
| | U20 | 148,91±41,62 | 479,53±35,11 | 443,22±8,82 | 577,15±40,75 | 412,20±184,41 c |
| | Średnia | 564,75±563,07 c | 647,21±576,32 bc | 814,30±547,93 b | 592,50±299,14 a | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

2.2.2 Organy podziemne kuklika pospolitego

W ekstraktach z organów podziemnych kuklika pospolitego oznaczono 9 substancji biologicznie czynnych w tym garbniki: katechinę, epikatechinę, galusan epigalokatechiny, galusan epikatechiny, epigalokatechinę oraz kwasy fenolowe: elagowy, galusowy, chlorogenowy, kawowy (3-4-dihydroksycynamonowy).

Najbardziej wydajnym sposobem ekstrakcji dla wszystkich zidentyfikowanych związków okazała się ekstrakcja periodyczna wspomagana ultradźwiękami w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:10. W przypadku kwasów fenolowych najlepszym ekstrahentem był 40% alkohol etylowy, a garbniki przechodziły lepiej do wszystkich roztworów alkoholowych (tab. 13 i 14).

Tabela 13. Zawartość kwasów fenolowych w ekstraktach uzyskanych z organów podziemnych kuklika pospolitego ($\text{mg} \times 100\text{g}^{-1}$ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|-------------------|---------|------------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| kwas elagowy | S | 637,64±31,56 | 746,37±78,36 | 768,76±88,24 | 383,25±58,22 | 634,00±176,71 b |
| | C10 | 577,06±52,48 | 637,08±26,25 | 1340,72±65,76 | 907,19±74,98 | 865,51±347,82 b |
| | C20 | 769,60±91,51 | 172,56±24,19 | 740,99±96,64 | 900,79±142,62 | 645,99±323,19 b |
| | U10 | 1325,89±64,60 | 692,45±41,45 | 1384,33±127,08 | 339,10±29,83 | 935,44±506,17 a |
| | U20 | 461,53±216,48 | 1259,83±70,00 | 634,87±85,16 | 63,15±6,51 | 604,85±497,96 b |
| | Średnia | 754,34±338,26 ab | 701,66±445,44 ab | 973,93±358,57 a | 518,69±372,50 b | |
| kwas galusowy | S | 390,46±11,24 | 641,88±44,21 | 1301,83±141,05 | 1128,68±93,53 | 865,71±422,42 a |
| | C10 | 297,08±44,59 | 446,90±19,20 | 805,03±45,95 | 1048,16±44,93 | 649,29±340,77 b |
| | C20 | 539,00±85,03 | 62,77±6,53 | 892,65±39,33 | 1510,15±122,71 | 751,14±609,64 b |
| | U10 | 1138,03±61,81 | 452,24±27,64 | 838,66±103,31 | 1001,74±85,24 | 857,67±296,70 a |
| | U20 | 325,59±125,35 | 634,84±125,20 | 802,16±20,82 | 540,41±45,61 | 575,75±198,81 b |
| | Średnia | 538,03±348,20 b | 447,73±235,01 b | 928,06±212,09 a | 1045,83±346,36 a | |
| kwas chlorogenowy | S | 130,16±6,38 | 260,37±21,61 | 269,30±40,97 | 235,66±42,15 | 223,87±64,07 ab |
| | C10 | 47,21±14,32 | 50,39±27,97 | 150,54±20,26 | 64,24±5,52 | 78,10±48,86 c |
| | C20 | 119,94±13,81 | 170,23±28,33 | 98,85±10,60 | 270,85±108,11 | 164,97±76,68 bc |
| | U10 | 347,67±6,58 | 64,34±6,85 | 663,84±121,13 | 129,70±27,23 | 301,39±270,30 a |
| | U20 | 110,87±11,75 | 115,30±33,51 | 98,08±36,79 | 104,66±13,38 | 107,23±7,50 bc |
| | Średnia | 151,17±114,52 ab | 132,13±85,81 b | 256,12±238,36 a | 161,02±88,26 ab | |
| kwas kawowy | S | 117,87±10,72 | 34,30±0,76 | 41,83±2,56 | 49,66±7,28 | 60,91±38,49 ni |
| | C10 | 81,56±2,78 | 79,54±2,78 | 92,38±0,79 | 65,89±25,92 | 79,84±10,87 ni |
| | C20 | 45,15±4,72 | 40,22±0,98 | 80,30±14,52 | 54,76±6,09 | 55,11±17,85 ni |
| | U10 | 203,79±321,56 | 73,29±4,50 | 42,30±1,02 | 34,23±11,01 | 88,40±78,74 ni |
| | U20 | 36,13±1,19 | 57,68±4,89 | 46,58±8,94 | 41,16±9,69 | 45,39±9,24 ni |
| | Średnia | 96,90±67,96 a | 57,01±19,82 b | 60,68±23,88 b | 49,14±12,23 b | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 14. Zawartość garbników ekstraktach uzyskanych z organów podziemnych kuklika pospolitego ($\text{mg} \times 100\text{g}^{-1}$ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|-------------------------|---------|-------------------|-------------------|------------------|-----------------|-------------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| katechina | S | 770,88±56,57 | 1130,07±29,20 | 1562,38±207,67 | 90,58±9,71 | 888,48±622,62 abc |
| | C10 | 762,54±113,15 | 759,05±48,00 | 549,65±130,02 | 293,67±5,24 | 591,23±221,95 bc |
| | C20 | 934,74±23,91 | 158,02±22,74 | 366,61±10,85 | 273,80±13,42 | 433,29±345,02 c |
| | U10 | 2368,23±173,45 | 1061,01±48,14 | 407,69±30,44 | 296,45±28,44 | 1033,35±951,69 ab |
| | U20 | 1669,00±108,17 | 1377,01±179,67 | 1110,49±50,12 | 142,42±11,28 | 1074,73±662,07 a |
| | Średnia | 1301,08±703,48 a | 897,03±468,17 b | 799,36±520,10 b | 219,38±96,09 c | |
| epikatechina | S | 279,09±37,47 | 1068,96±63,14 | 1423,72±136,96 | 179,62±30,85 | 737,85±606,12 ab |
| | C10 | 243,08±41,70 | 687,71±46,84 | 269,20±56,60 | 391,66±7,51 | 397,91±203,77 b |
| | C20 | 605,44±25,47 | 112,61±21,59 | 408,32±78,20 | 395,21±68,80 | 380,39±202,78 b |
| | U10 | 1712,14±53,94 | 721,33±22,49 | 700,62±18,61 | 151,60±15,46 | 821,42±649,78 a |
| | U20 | 459,33±80,20 | 470,24±43,37 | 561,64±32,69 | 29,22±2,55 | 380,11±238,38 b |
| | Średnia | 659,82±606,05 a | 612,17±352,13 a | 672,70±449,96 a | 248,93±160,02 b | |
| galuan epigalokatechiny | S | 196,93±12,21 | 296,90±53,11 | 805,52±15,06 | 77,65±6,64 | 344,25±320,31 ni |
| | C10 | 587,35±99,79 | 453,37±89,81 | 460,55±39,85 | 236,91±4,53 | 434,55±145,42 ni |
| | C20 | 443,39±134,09 | 39,11±7,51 | 316,36±41,52 | 134,92±13,35 | 233,45±181,13 ni |
| | U10 | 934,08±92,87 | 457,26±17,22 | 212,85±29,99 | 181,66±17,76 | 446,46±347,65 ni |
| | U20 | 438,70±17,88 | 681,78±41,07 | 235,71±92,35 | 132,53±21,79 | 372,18±242,44 ni |
| | Średnia | 520,09±270,58 a | 385,68±237,37 a | 406,20±243,38 a | 152,73±59,76 b | |
| galusan epikatechiny | S | 294,68±43,01 | 431,09±35,28 | 501,45±34,94 | 109,77±15,83 | 334,25±172,52 b |
| | C10 | 1640,93±127,07 | 1420,49±27,22 | 1701,87±168,21 | 578,90±15,78 | 1335,55±518,71 ab |
| | C20 | 1766,26±84,52 | 205,11±23,45 | 767,24±37,49 | 456,60±64,20 | 798,80±684,73 b |
| | U10 | 7158,55±260,61 | 1876,44±111,06 | 576,06±98,04 | 98,42±11,89 | 2427,37±3242,37 a |
| | U20 | 1415,27±79,84 | 2463,42±197,40 | 1529,46±94,09 | 60,43±8,01 | 1367,15±989,61 ab |
| | Średnia | 2455,14±2692,97 a | 1279,31±955,51 b | 1015,21±559,97 b | 260,83±239,19 b | |
| epigalokatechina | S | 989,75±31,36 | 1054,39±9,41 | 1404,52±163,72 | 470,06±16,01 | 979,68±385,52 ni |
| | C10 | 1100,33±137,06 | 1120,45±52,26 | 1389,82±118,51 | 1205,14±49,96 | 1203,93±131,98 ni |
| | C20 | 1081,89±113,59 | 160,96±49,20 | 616,00±37,12 | 774,54±37,53 | 658,35±383,87 ni |
| | U10 | 3127,18±182,06 | 1231,55±16,96 | 633,36±69,12 | 354,45±56,55 | 1336,64±1248,5 ni |
| | U20 | 802,34±25,38 | 2203,90±181,17 | 722,26±88,97 | 590,37±25,03 | 1079,72±754,53 ni |
| | Średnia | 1420,30±961,46 a | 1154,25±725,51 ab | 953,19±407,33 ab | 678,91±332,72 b | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

2.3. Śliwa tarnina

2.3.1. Kwiaty śliwy tarniny

W ekstraktach z kwiatów śliwy tarniny oznaczono 15 związków biologicznie aktywnych. Flawonoidy: rutozyd, hiperozyd, kwercytrynę, izokwercytrynę, 3-glukozyd izoramnetyny, 3-rutynozyd izoramnetyny, kemferol, astragalinę; garbniki: katechinę, epikatechinę, galusan epigalokatechiny, galusan epikatechiny, epigalokatechinę oraz kwasy fenolowe: chlorogenowy i kawowy.

W przypadku wszystkich wyżej wymienionych związków z wyjątkiem kwasu kawowego najbardziej wydajną metodą ekstrakcji była ekstrakcja periodyczna pod chłodnicą zwrotną w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:20, przy czym wyraźnie najwyższą zawartość flawonoidów stwierdzono w ekstraktach uzyskanych przy użyciu 96% alkoholu etylowego, a związków garbnikowych – przy użyciu 40% alkoholu etylowego (tab. 15-17).

Tabela 15. Zawartość związków flawonoidowych w ekstraktach uzyskanych z kwiatów śliwy tarniny ($\text{mg} \times 100\text{g}^{-1}$ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|----------------------------|---------|-------------------|------------------|-------------------|-----------------|-------------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| rutozyd | S | 2650,57±413,25 | 2338,58±105,25 | 3208,18±1135,17 | 2350,58±268,19 | 2636,98±480,47 c |
| | C 10 | 4302,96±335,74 | 2912,31±271,59 | 4510,75±431,34 | 1158,07±70,30 | 3221,02±277,24b |
| | C 20 | 5653,23±727,23 | 6149,85±1087,57 | 3927,87±274,28 | 2749,77±171,89 | 4620,18±565,24 a |
| | U 10 | 1230,87±216,81 | 1701,26±159,14 | 1306,07±172,00 | 775,50±188,79 | 1253,43±184,19d |
| | U 20 | 3754,37±402,97 | 2620,09±188,35 | 4374,33±683,19 | 3550,57±432,49 | 3574,84±426,75b |
| | średnia | 3518,40±419,20 a | 3144,42±362,38 a | 3465,44±539,20 a | 2116,90±226,33b | |
| hiperozyd | S | 5523,31±829,72 | 4742,20±174,46 | 4757,65±968,01 | 5690,74±905,36 | 3240,87±719,39 c |
| | C 10 | 8619,67±940,98 | 5695,98±473,20 | 9533,63±1591,39 | 2077,31±77,01 | 4133,17±770,65 b |
| | C 20 | 11921,49±1599,75 | 11947,02±1689,28 | 7808,90±600,24 | 5206,87±489,37 | 5824,79±1094,66a |
| | U 10 | 2504,63±482,22 | 3332,67±438,24 | 2811,36±449,71 | 2330,21±223,52 | 1764,15±398,42 d |
| | U 20 | 7627,94±1000,92 | 5359,34±298,47 | 8191,44±1212,31 | 8834,09±728,07 | 4646,36±809,94 b |
| | średnia | 7239,41±970,72 a | 6215,44±614,73 b | 6620,59±964,33ab | 4827,84±484,67c | |
| kwercytryna | S | 619,27±85,33 | 472,88±26,82 | 607,63±80,92 | 607,63±94,26 | 539,04±71,83 c |
| | C 10 | 1174,05±23,83 | 562,28±75,52 | 655,27±56,21 | 655,27±19,33 | 624,95±43,73 b |
| | C 20 | 1395,89±151,35 | 963,83±139,78 | 540,47±53,26 | 540,47±19,24 | 806,64±90,91 a |
| | U 10 | 319,64±64,32 | 263,53±26,01 | 225,64±55,02 | 225,64±13,69 | 220,09±39,76 d |
| | U 20 | 982,06±100,87 | 299,84±54,56 | 458,02±64,16 | 458,02±15,91 | 502,15±58,88 c |
| | średnia | 898,18±85,14 a | 512,47±64,54 b | 497,41±61,91 b | 497,41±32,49 c | |
| izokwercytryn a | S | 9766,45±1592,76 | 7730,29±310,06 | 6898,88±1334,68 | 5931,90±225,80 | 4795,00±865,80 c |
| | C 10 | 17292,72±1643,31 | 9533,64±855,38 | 14586,63±333,45 | 2835,14±52,21 | 6725,75±721,09 b |
| | C 20 | 21550,52±2973,98 | 17985,51±2292,95 | 12187,94±751,09 | 7567,10±852,76 | 9329,87±1717,69a |
| | U 10 | 6038,52±236,32 | 6224,66±230,23 | 4335,10±647,84 | 2677,64±410,52 | 2912,90±381,23 d |
| | U 20 | 16000,37±2308,36 | 9467,88±272,09 | 13307,56±1979,84 | 9312,58±715,50 | 7521,24±1318,95b |
| | średnia | 14129,72±1750,94a | 10188,40±792,14b | 10263,22±1009,38b | 5664,87±451,36c | |
| 3-glukozyd izoramnetyny | S | 3793,83±562,14 | 3182,79±125,90 | 3493,63±847,43 | 2815,99±256,31 | 2117,39±447d |
| | C 10 | 6472,83±462,78 | 3869,44±311,37 | 5973,70±630,57 | 1207,48±85,35 | 2704,02±372c |
| | C 20 | 8948,16±1159,10 | 8205,32±1369,87 | 5088,34±395,36 | 3180,40±293,21 | 4049,51±804a |
| | U 10 | 2228,47±416,25 | 2423,96±139,66 | 1875,97±303,05 | 1647,55±184,95 | 1290,70±260e |
| | U 20 | 7025,76±793,69 | 3623,52±307,16 | 5802,16±962,04 | 5387,39±648,74 | 3414,53±677b |
| | średnia | 5693,81±678,79a | 4261,01±450,79b | 4446,76±627,69b | 2847,76±293,71c | |
| 3-rutozyd izoramnetyny | S | 4859,21±490,21 | 4859,21±855,34 | 4355,97±893,22 | 2937,35±270,43 | 2663,81±627,30 c |
| | C 10 | 3067,06±894,81 | 3067,06±102,31 | 6276,91±590,28 | 1252,10±62,95 | 2379,97±412,59 c |
| | C 20 | 12141,42±2262,50 | 12141,42±2982,44 | 5410,95±435,60 | 3431,04±365,32 | 5185,36±1511,47a |
| | U 10 | 2452,03±497,62 | 2452,03±158,40 | 1841,29±312,71 | 1190,83±192,54 | 1274,89±290,32 d |
| | U 20 | 8876,64±1436,41 | 8876,64±382,85 | 6705,87±1976,26 | 4775,36±893,89 | 4034,46±1172,35b |
| | średnia | 6279,27±1116,31a | 6279,27±896,27 b | 4918,20±841,62 b | 2717,33±357,03c | |
| kemferol | S | 719,98±118,36 | 512,97±5,86 | 672,62±198,08 | 501,29±65,33 | 389,88±96,91 c |
| | C 10 | 1421,71±69,12 | 701,13±104,28 | 703,31±62,60 | 176,20±9,59 | 462,62±61,40 b |
| | C 20 | 286,85±42,02 | 215,61±46,84 | 647,26±20,08 | 391,56±12,80 | 235,75±30,44 d |
| | U 10 | 550,78±83,64 | 431,34±27,04 | 455,89±62,59 | 146,38±22,87 | 251,09±49,04 d |
| | U 20 | 1759,87±209,83 | 525,81±15,38 | 815,28±147,03 | 578,12±24,63 | 578,76±99,22 a |
| | średnia | 947,84±104,59 a | 477,37±39,88 c | 658,87±98,08 b | 358,71±27,05 d | |
| astragalina | S | 6816,93±824,75 | 6471,67±295,82 | 8294,44±1335,95 | 5086,82±184,55 | 6667,47±660,27 c |
| | C 10 | 15071,92±2178,80 | 7848,39±705,84 | 11299,15±1803,26 | 2401,27±74,67 | 9155,18±1190,64 b |
| | C 20 | 18156,03±2539,95 | 14950,52±1873,58 | 10030,31±598,79 | 6155,23±633,20 | 12323,02±1411,38a |
| | U 10 | 5942,25±416,62 | 5250,70±397,34 | 3949,60±504,54 | 2417,60±326,13 | 4390,04±411,16 d |
| | U 20 | 18969,67±2772,84 | 8425,51±375,33 | 15041,67±1936,86 | 8618,22±1779,71 | 12763,77±1716,19a |
| | średnia | 12991,36±1746,59a | 8589,36±729,58 b | 9723,03±1235,88b | 4935,83±599,65c | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 16. Zawartość kwasów fenolowych w ekstraktach uzyskanych z kwiatów śliwy tarniny (mg×100g⁻¹ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|-------------------|---------|-------------------|-------------------|------------------|-----------------|-------------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| kwas chlorogenowy | S | 5445,27±844,39 | 9234,21±462,99 | 9172,54±1586,85 | 5481,20±171,35 | 7333,31±766,39 d |
| | C 10 | 12658,67±1252,63 | 9850,24±864,64 | 15144,71±589,17 | 3363,39±326,86 | 10254,25±758,33 c |
| | C 20 | 17701,59±2525,54 | 20587,45±3472,33 | 12842,81±426,24 | 7882,49±432,76 | 14753,59±1714,21a |
| | U 10 | 3756,85±190,98 | 6128,73±180,89 | 1946,97±67,40 | 4309,21±605,39 | 4035,44±261,16 e |
| | U 20 | 12668,83±3276,81 | 9382,74±447,67 | 13081,56±2312,30 | 12973,24±877,99 | 12026,59±1728,7 b |
| | średnia | 10446,24±1618,07a | 11036,67±1085,70a | 10437,72±996,39a | 6801,90±482,87b | |
| kwas kawowy | S | 1155,56±162,62 | 1003,98±99,45 | 1097,94±135,95 | 417,98±133,68 | 581,93±132,92 a |
| | C 10 | 554,71±86,41 | 389,16±28,46 | 408,39±58,03 | 215,72±12,30 | 248,70±46,30 d |
| | C 20 | 606,06±79,66 | 634,71±85,35 | 378,92±51,78 | 503,95±39,49 | 334,35±64,07 c |
| | U 10 | 115,41±20,35 | 205,24±8,00 | 209,35±36,48 | 571,72±64,86 | 166,65±32,42 e |
| | U 20 | 271,81±56,91 | 331,43±49,25 | 1009,64±133,97 | 1459,91±99,05 | 473,28±84,80 b |
| | średnia | 540,71±81,19bc | 512,90±54,10 c | 620,85±83,24ab | 633,86±69,88 a | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 17. Zawartość garbników w ekstraktach uzyskanych z kwiatów śliwy tarniny ($\text{mg} \times 100\text{g}^{-1}$ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|--------------------------|---------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| katechina | S | 2027,59±252,65 | 628,46±61,62 | 1440,59±387,01 | 1244,54±153,27 | 1145,64±213,64 d |
| | C 10 | 2554,48±78,15 | 4557,83±285,45 | 6406,49±1099,2 | 1561,41±66,279 | 3235,88±382,27 b |
| | C 20 | 6178,56±560,81 | 5491,10±202,02 | 5114,22±790,14 | 3290,37±266,23 | 4172,88±454,80 a |
| | U 10 | 1158,32±194,30 | 1444,22±187,92 | 1349,60±126,56 | 985,02±66,403 | 1012,74±143,79 d |
| | U 20 | 2713,17±154,60 | 2254,28±177,92 | 4938,65±580,4 | 2646,11±217,61 | 2626,52±282,63 c |
| | średnia | 2926,42±248,10 b | 2875,18±182,99b | 3849,91±596,66 a | 1945,49±153,96 c | |
| epikatechina | S | 1122,79±153,17 | 1410,90±213,15 | 1596,63±314,20 | 1474,84±445,64 | 897,95±281,54 c |
| | C 10 | 2099,46±60,985 | 1527,90±157,66 | 2904,32±323,28 | 1050,97±63,177 | 1160,65±151,28 b |
| | C 20 | 2232,85±284,41 | 3017,84±564,01 | 2637,24±336,18 | 967,24±12,201 | 1434,25±299,20 a |
| | U 10 | 606,35±122,75 | 642,68±196,68 | 622,48±68,07 | 572,03±91,928 | 404,43±119,86 d |
| | U 20 | 1850,08±153,41 | 1509,66±25,548 | 2434,71±365,59 | 2233,66±205,69 | 1224,67±187,56ab |
| | średnia | 1582,30±154,94b | 1621,79±231,41b | 2039,08±281,46 a | 1259,75±163,73 c | |
| galusan epigalokatechiny | S | 1456,47±354,17 | 754,74±2,78 | 4777,17±247,40 | 1814,12±50,33 | 1343,83±163,67 b |
| | C 10 | 2241,70±80,70 | 1022,37±26,78 | 3380,46±61,13 | 884,50±14,83 | 1099,66±45,86 c |
| | C 20 | 3704,80±387,30 | 4171,97±398,05 | 2979,25±155,44 | 1968,36±88,51 | 1966,45±257,33 a |
| | U 10 | 864,07±198,40 | 1122,80±187,43 | 889,79±32,67 | 565,39±62,34 | 551,51±120,21 d |
| | U 20 | 2381,17±158,82 | 1034,32±72,27 | 2236,61±299,82 | 3729,86±292,99 | 1416,13±205,97 b |
| | średnia | 2129,64±235,88 b | 1621,24±137,46 c | 2852,65±159,29 a | 1792,44±101,80 c | |
| galusan epikatechiny | S | 940,72±131,65 | 1032,32±46,18 | 2265,70±181,55 | 1178,00±76,99 | 825,16±109,09bc |
| | C 10 | 1356,54±137,44 | 1508,91±74,85 | 2389,75±90,62 | 512,35±47,40 | 867,21±87,58 b |
| | C 20 | 1788,14±238,21 | 3235,34±439,71 | 2199,89±110,62 | 1283,92±11,49 | 1327,97±225,01 a |
| | U 10 | 229,12±75,55 | 614,39±72,33 | 483,02±142,88 | 324,47±75,49 | 277,39±91,56 d |
| | U 20 | 860,75±108,03 | 878,15±98,03 | 1398,84±311,78 | 1613,88±18,17 | 752,78±134,00 c |
| | średnia | 1035,06±138,18 c | 1453,82±146,22b | 1747,44±167,49 a | 982,52±65,91 c | |
| epigalokatechina | S | 1443,60±248,70 | 2479,04±318,67 | 1364,69±356,62 | 1350,63±77,91 | 1659,49±250,48 b |
| | C 10 | 1231,36±71,46 | 3594,87±334,67 | 1711,59±199,72 | 778,00±7,09 | 1828,96±170,73 b |
| | C 20 | 3098,30±266,98 | 3134,67±225,64 | 1450,72±229,71 | 1545,46±80,79 | 2307,29±200,78 a |
| | U 10 | 241,85±61,02 | 1049,82±114,40 | 1152,45±104,62 | 508,65±26,85 | 738,19±76,72 c |
| | U 20 | 1069,54±322,02 | 1232,35±266,97 | 2669,50±338,51 | 1590,40±222,69 | 1640,45±287,55 b |
| | średnia | 416,93±194,04 c | 2298,15±252,07 a | 1669,79±245,84 b | 1154,63±97,07 d | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

2.3.2. Owoce śliwy tarniny

W ekstraktach z owoców śliwy tarniny oznaczono 9 związków biologicznie czynnych a mianowicie 6 flawonoidów (rutozyd, hiperozyd, kwercytrynę, izokwercytrynę, 3-glukozyd izoramnetyny i 3-rutynozyd izoramnetyny), 2 kwasy fenolowe (chlorogenowy i kawowy) oraz z grupy garbników epikatechinę.

W przypadku wszystkich ww. związków z wyjątkiem kwercytryny najbardziej wydajną metodą ekstrakcji była ekstrakcja periodyczna pod chłodnicą zwrotną w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:20. Zidentyfikowane związki ze względu na powinowactwo do rozpuszczalników podzielić można na dwie dość wyraźne grupy a mianowicie kwasy fenolowe i garbniki które lepiej przechodziły do roztworów wodnych, i flawonoidy lepiej przegodzące do 70% i 96% roztworów alkoholu etylowego (tab. 18-20).

Tabela 18. Zawartość związków flawonoidowych w ekstraktach uzyskanych z owoców śliwy tarniny ($\text{mg} \times 100\text{g}^{-1}$ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|-------------------------|---------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| rutozyd | S | 517,99±56,66 | 418,64±61,27 | 323,88±37,96 | 289,40±29,10 | 387,48±46,25 b |
| | C 10 | 468,19±52,84 | 351,36±42,55 | 425,46±39,95 | 632,73±84,30 | 469,43±54,91 a |
| | C 20 | 724,20±101,96 | 390,02±71,52 | 362,59±35,46 | 377,59±44,21 | 463,60±63,29 a |
| | U 10 | 285,33±12,35 | 785,55±44,30 | 303,37±17,69 | 310,83±12,93 | 421,27±21,82ab |
| | U 20 | 279,91±49,12 | 240,77±16,05 | 293,14±22,20 | 215,30±48,80 | 257,28±34,04 c |
| | średnia | 455,12±54,58 a | 437,27±47,14 a | 341,69±30,65 b | 365,17±43,87 b | |
| hiperozyd | S | 256,61±26,45 | 207,20±51,29 | 201,48±37,85 | 170,03±26,13 | 135,84±35,43 c |
| | C 10 | 288,58±27,06 | 134,40±27,14 | 321,44±45,89 | 407,06±47,96 | 178,80±37,01ab |
| | C 20 | 353,47±47,64 | 320,16±9,69 | 313,58±27,21 | 313,75±31,53 | 197,93±29,01 a |
| | U 10 | 169,08±4,01 | 560,87±62,13 | 172,60±15,51 | 207,83±24,58 | 170,29±26,56 b |
| | U 20 | 168,61±36,11 | 164,60±19,15 | 223,48±13,99 | 144,07±42,44 | 110,00±27,92 c |
| | średnia | 247,27±28,25 ni | 277,45±33,88 ni | 246,51±28,09 ni | 248,55±34,53 ni | |
| kwercytryna | S | 62,81±10,85 | 14,91±1,38 | 0,72±0,30 | 7,51±2,07 | 21,49±3,65 b |
| | C 10 | 49,71±6,54 | 13,31±2,04 | 16,31±2,62 | 9,92±1,25 | 22,31±3,11 b |
| | C 20 | 29,76±5,22 | 32,36±1,31 | 16,35±0,40 | 18,63±1,27 | 24,28±2,05 b |
| | U 10 | 29,75±3,24 | 71,63±4,06 | 17,41±1,34 | 39,78±8,59 | 39,64±4,31 a |
| | U 20 | 38,91±6,40 | 17,87±2,38 | 17,25±8,01 | 33,22±3,63 | 26,81±5,11 b |
| | średnia | 42,19±6,45 a | 30,02±2,23 b | 13,61±2,53 d | 21,81±3,36 c | |
| izokwercytryna | S | 184,37±18,72 | 224,11±50,87 | 152,17±16,71 | 99,64±20,40 | 106,65±26,67 d |
| | C 10 | 300,52±36,06 | 170,38±37,31 | 305,72±62,94 | 291,64±24,58 | 172,08±40,22 b |
| | C 20 | 533,65±57,93 | 337,39±43,22 | 327,03±70,17 | 218,77±27,53 | 226,88±49,71 a |
| | U 10 | 124,30±6,38 | 465,74±97,08 | 177,92±34,03 | 104,44±5,92 | 144,27±35,85 c |
| | U 20 | 157,07±27,37 | 131,19±12,01 | 132,69±16,56 | 76,37±14,89 | 79,04±17,71 d |
| | średnia | 259,98±29,29 a | 265,76±48,10 a | 219,11±40,08 b | 158,17±18,66 c | |
| 3-glukozyd izoramnetyny | S | 103,95±8,88 | 161,51±33,52 | 76,86±5,06 | 59,52±34,05 | 64,19±20,38bc |
| | C 10 | 138,45±17,39 | 139,00±10,57 | 204,19±62,56 | 200,04±53,85 | 110,32±36,09 a |
| | C 20 | 261,49±1,06 | 182,01±58,45 | 196,44±45,19 | 118,56±21,31 | 123,31±31,50 a |
| | U 10 | 56,32±4,91 | 294,86±95,34 | 81,36±15,58 | 50,87±6,29 | 85,61±30,53 b |
| | U 20 | 62,10±13,18 | 59,47±8,03 | 88,43±20,65 | 43,67±11,65 | 42,22±13,38 c |
| | średnia | 124,46±9,08 b | 167,37±41,18 a | 129,46±29,81 b | 94,53±25,43 b | |
| 3-rutozyd izoramnetyny | S | 164,65±24,66 | 234,08±30,37 | 244,68±16,58 | 130,27±26,61 | 120,76±24,55 c |
| | C 10 | 270,54±34,37 | 181,29±38,41 | 342,43±88,29 | 386,91±27,63 | 191,75±47,18 b |
| | C 20 | 496,58±55,70 | 393,87±54,17 | 355,20±49,10 | 293,80±49,08 | 242,63±52,01 a |
| | U 10 | 97,61±8,60 | 542,63±157,27 | 118,92±24,96 | 44,15±6,15 | 142,02±49,24 c |
| | U 20 | 120,88±23,52 | 121,01±15,17 | 158,54±25,63 | 84,07±26,18 | 78,40±22,63 d |
| | średnia | 230,05±29,37bc | 294,57±59,08 a | 243,95±40,91 b | 187,84±27,13 c | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 19. Zawartość kwasów fenolowych w ekstraktach uzyskanych z owoców śliwy tarniny ($\text{mg} \times 100\text{g}^{-1}$ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|-------------------|---------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| kwas chlorogenowy | S | 492,66±57,56 | 1081,60±161,18 | 1289,50±66,58 | 2405,12±226,13 | 1317,22±127,87 d |
| | C 10 | 1877,91±158,78 | 853,65±244,59 | 2456,30±415,46 | 5210,87±114,97 | 2599,68±233,45 b |
| | C 20 | 4033,28±163,56 | 3818,63±463,37 | 3144,50±641,70 | 3486,30±459,73 | 3620,68±432,09 a |
| | U 10 | 301,56±30,27 | 1244,47±207,57 | 877,03±88,24 | 3350,16±257,18 | 1443,31±145,82cd |
| | U 20 | 927,83±4,86 | 1216,46±90,74 | 2184,03±287,66 | 2734,42±403,66 | 1765,69±196,73 c |
| | średnia | 1526,65±83,01 c | 1642,96±233,49 c | 1990,27±299,93b | 3437,38±292,33 a | |
| kwas kawowy | S | 39,99±5,90 | 63,22±4,03 | 35,11±3,01 | 81,91±6,93 | 33,31±4,96 d |
| | C 10 | 97,98±16,84 | 52,19±9,86 | 126,81±26,81 | 200,13±37,12 | 75,80±22,66 b |
| | C 20 | 291,37±46,79 | 202,29±23,19 | 133,05±16,92 | 152,30±11,99 | 123,70±24,72 a |
| | U 10 | 29,82±3,84 | 158,24±24,18 | 75,95±10,39 | 96,87±13,92 | 57,04±13,08 c |
| | U 20 | 46,44±4,95 | 37,19±3,09 | 84,99±11,45 | 91,34±14,53 | 39,92±8,51 d |
| | średnia | 101,12±15,66 b | 102,63±12,87 b | 91,18±13,71 b | 124,51±16,90 a | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 20. Zawartość epikatechiny w ekstraktach uzyskanych z owoców śliwy tarniny ($\text{mg} \times 100\text{g}^{-1}$ s.m. ekstraktu)

| Rozpuszczalnik | | | | | |
|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|
| Metoda | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| S | 1203,79±163,23 | 1188,49±121,10 | 1060,69±47,78 | 608,28±91,58 | 1015,31±105,92 c |
| C 10 | 1192,89±104,30 | 740,85±87,00 | 1100,25±89,44 | 1743,47±279,52 | 1194,37±140,06b |
| C 20 | 1954,60±94,73 | 1249,73±75,17 | 1311,27±151,71 | 2068,11±270,85 | 1645,93±148,12 a |
| U 10 | 562,85±23,84 | 1544,13±46,64 | 841,00±111,69 | 673,01±28,21 | 905,25±52,59 c |
| U 20 | 584,30±40,34 | 549,01±66,46 | 716,17±85,40 | 653,69±119,72 | 625,79±77,98 d |
| średnia | 1099,69±85,29ab | 1054,44±79,27ab | 1005,87±97,20 b | 1149,31±157,98 a | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

2.4. Jeżyna fałdowana

2.4.1. Liście jeżyny fałdowanej

W ekstraktach z liści jeżyny oznaczono 8 związków czynnych: 3 związki flawonoidowe (rutozyd, hiperozyd i astragalinę), 4 kwasy fenolowe (elagowy, galusowy, chlorogenowy, kawowy) oraz z garbników katechinę. Najbardziej wydajną metodą ekstrakcji w przypadku związków flawonoidowych oraz kwasu chlorogenowego i kawowego byłaby ekstrakcja periodyczna pod chłodnicą zwrotną w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:20, a najlepszym rozpuszczalnikiem – 70% alkohol etylowy. Dla kwasu elagowego i galusowego najlepszą metodą ekstrakcji była ekstrakcja ciągła w zautomatyzowanym aparacie Soxhleta, a dla katechiny – ekstrakcja periodyczna wspomagana ultradźwiękami w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:20 (tab. 21-23).

Tabela 21. Zawartość związków flawonoidowych w ekstraktach uzyskanych z liści jeżyny fałdowanej ($\text{mg} \times 100\text{g}^{-1}$ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | Średnia |
|-------------------|---------|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | |
| rutozyd | S | 1379,11 | 3404,12 | 2638,97 | 1271,19 | 2173,35 c |
| | C10 | 2625,17 | 2340,34 | 4274,08 | 2462,98 | 2925,64 b |
| | C20 | 3323,09 | 4289,47 | 5095,48 | 2155,78 | 3715,96 a |
| | U10 | 599,15 | 5280,82 | 2064,23 | 3044,39 | 2747,15 b |
| | U20 | 1150,72 | 4621,08 | 5540,64 | 3169,41 | 3620,46 a |
| | Średnia | 1815,45 c | 3987,17 a | 3922,68 a | 2420,75 b | |
| hiperozyd | S | 1029,54 | 1558,74 | 1353,72 | 6787,95 | 2682,49 d |
| | C10 | 2957,66 | 12113,34 | 3147,25 | 8615,36 | 6708,40 b |
| | C20 | 3980,45 | 11087,74 | 6214,01 | 8858,36 | 7535,14 a |
| | U10 | 620,35 | 10070,93 | 5238,04 | 6696,13 | 5656,36 c |
| | U20 | 1114,24 | 10644,45 | 12716,35 | 8191,71 | 8166,69 a |
| | Średnia | 1940,45 d | 9095,04 a | 5733,87 c | 7829,90 b | |
| astragalina | S | 3862,09 | 7592,55 | 1163,94 | 6209,78 | 4707,09 c |
| | C10 | 1090,06 | 12273,24 | 3842,31 | 6562,77 | 5942,10 b |
| | C20 | 3482,00 | 11114,25 | 4482,29 | 7779,48 | 6714,50 a |
| | U10 | 1203,73 | 4341,76 | 2776,95 | 1406,44 | 2432,22 e |
| | U20 | 1462,68 | 4609,93 | 4637,58 | 3067,20 | 3444,35 d |
| | Średnia | 2220,11 d | 7986,34 a | 3380,62 c | 5005,14 b | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 22. Zawartość kwasów fenolowych w ekstraktach uzyskanych z liści jeżyny fałdowanej (mg×100g⁻¹ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|--------------------|---------|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| Kwas elagowy | S | 4304,68 | 6030,18 | 5199,41 | 4899,03 | 5108,32 a |
| | C10 | 2438,69 | 5375,90 | 2693,27 | 5608,99 | 4029,21 b |
| | C20 | 3167,80 | 5699,89 | 3203,57 | 5074,77 | 4286,51 b |
| | U10 | 445,30 | 3222,11 | 1268,23 | 3331,16 | 2066,70 d |
| | U20 | 946,94 | 2930,14 | 4551,71 | 5026,94 | 3363,93 c |
| | Średnia | 2260,68 c | 4651,64 a | 3383,24 b | 4788,18 a | |
| Kwas galusowy | S | 7769,69 | 3955,91 | 6601,28 | 13566,06 | 7973,24 a |
| | C10 | 740,64 | 2687,81 | 4568,40 | 4756,42 | 3188,32 c |
| | C20 | 998,58 | 4149,54 | 7019,35 | 4883,60 | 4262,77 b |
| | U10 | 179,23 | 2084,50 | 1468,68 | 5160,74 | 2223,29 d |
| | U20 | 280,29 | 2736,57 | 5519,85 | 7049,49 | 3896,55 bc |
| | Średnia | 1993,69 d | 3122,86 c | 5035,51 b | 7083,26 a | |
| Kwas chloro genowy | S | 403,58 | 358,19 | 429,78 | 2687,47 | 969,75 c |
| | C10 | 817,19 | 3568,02 | 1297,12 | 846,74 | 1632,27 b |
| | C20 | 3026,79 | 2872,14 | 2526,69 | 2328,33 | 2688,49 a |
| | U10 | 100,41 | 855,44 | 1295,15 | 1536,78 | 946,94 c |
| | U20 | 456,42 | 1068,40 | 1098,28 | 574,54 | 799,41 c |
| | Średnia | 960,88 c | 1744,44 a | 1329,40 b | 1594,77 a | |
| Kwas kawowy | S | 651,96 | 773,99 | 1590,92 | 1558,01 | 1143,72 c |
| | C10 | 1640,66 | 1873,96 | 1480,39 | 707,63 | 1425,66 b |
| | C20 | 1951,38 | 1300,28 | 1292,19 | 2828,67 | 1843,13 a |
| | U10 | 307,01 | 2873,40 | 2210,12 | 545,69 | 1484,06 b |
| | U20 | 254,81 | 2579,50 | 2580,59 | 1607,77 | 1755,67 a |
| | Średnia | 961,16 c | 1880,22 a | 1830,84 a | 1449,55 b | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 23. Zawartość katechiny w ekstraktach uzyskanych z liści jeżyny fałdowanej (mg×100g⁻¹ s.m. ekstraktu)

| Rozpuszczalnik | | | | | |
|----------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Metoda | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| S | 1012,85 | 898,54 | 2167,34 | 4022,99 | 2025,43 c |
| C10 | 1515,75 | 7199,34 | 8785,85 | 3474,26 | 5243,80 b |
| C20 | 602,43 | 7216,99 | 7558,49 | 4259,23 | 4909,29 b |
| U10 | 177,72 | 5307,05 | 6325,84 | 7520,10 | 4832,68 b |
| U20 | 408,17 | 6342,44 | 13451,31 | 6544,95 | 6686,72 a |
| Średnia | 743,39 c | 5392,87 b | 7657,76 a | 5164,31 b | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

2.4.2. Owoce jeżyny fałdowanej

W ekstraktach z owoców jeżyny fałdowanej oznaczono 6 substancji biologicznie czynnych. Z flawonoidów – astragalinę (3-O-glukozyd kemferolu); 3 kwasy fenolowe: benzoesowy, elagowy i galusowy, a z grupy garbników: katechinę i epikatechinę. Najbardziej wydajną metodą ekstrakcji dla wszystkich zidentyfikowanych związków czynnych była ekstrakcja periodyczna pod chłodnicą zwrotną w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:10. Nie stwierdzono wyraźnych korelacji pomiędzy zawartością wymienionych związków w ekstraktach a użytym ekstrahentem (tab. 24-26).

Tabela 24. Zawartość astragaliny w ekstraktach uzyskanych z owoców jeżyny fałdowanej ($\text{mg} \times 100\text{g}^{-1}$ s.m. ekstraktu)

| Metoda | Rozpuszczalnik | | | | Średnia |
|----------------|----------------|----------|----------|----------|----------|
| | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | |
| S | 279,17 | 147,51 | 283,68 | 201,10 | 227,86 a |
| C10 | 148,13 | 224,09 | 145,01 | 472,55 | 247,45 a |
| C20 | 323,13 | 107,05 | 187,50 | 121,51 | 184,80 b |
| U10 | 271,75 | 110,77 | 165,03 | 153,94 | 175,37 b |
| U20 | 87,93 | 165,22 | 130,71 | 105,47 | 122,33 c |
| Średnia | 222,02 a | 150,93 c | 182,39 b | 210,91 a | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 25. Zawartość kwasów fenolowych w ekstraktach uzyskanych z owoców jeżyny fałdowanej ($\text{mg} \times 100\text{g}^{-1}$ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | Średnia |
|-------------------|----------------|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | |
| kwas benzoesowy | S | 369,62 | 285,56 | 549,16 | 134,05 | 334,60 a |
| | C10 | 165,65 | 670,29 | 132,86 | 309,74 | 319,64 a |
| | C20 | 157,45 | 175,13 | 368,60 | 92,40 | 198,39 b |
| | U10 | 114,06 | 81,27 | 126,65 | 36,64 | 89,65 d |
| | U20 | 134,35 | 134,03 | 126,73 | 120,32 | 128,86 c |
| | Średnia | 188,22 b | 269,26 a | 260,80 a | 138,63 c | |
| kwas elagowy | S | 580,04 | 491,38 | 944,96 | 217,60 | 558,49 c |
| | C10 | 748,34 | 2033,03 | 1055,10 | 781,21 | 1154,42 a |
| | C20 | 1176,78 | 397,89 | 892,83 | 259,73 | 681,81 b |
| | U10 | 651,31 | 429,77 | 541,42 | 370,50 | 498,25 cd |
| | U20 | 1010,21 | 370,57 | 253,15 | 87,80 | 430,43 d |
| | Średnia | 833,34 a | 744,53 b | 737,49 b | 343,37 c | |
| kwas galusowy | S | 1071,71 | 1395,93 | 2684,48 | 2309,17 | 1865,32 b |
| | C10 | 497,96 | 3230,33 | 1438,69 | 4330,83 | 2374,45 a |
| | C20 | 746,32 | 1280,37 | 2340,68 | 591,27 | 1239,66 c |
| | U10 | 330,14 | 596,84 | 787,54 | 685,57 | 600,02 d |
| | U20 | 692,60 | 1001,00 | 919,95 | 1539,64 | 1038,29 c |
| | Średnia | 667,75 c | 1500,89 b | 1634,27 b | 1891,29 a | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 26. Zawartość garbników w ekstraktach uzyskanych z owoców jeżyny fałdowanej (mg×100g⁻¹ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|-------------------|----------------|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| katechina | S | 256,47 | 800,93 | 1540,25 | 1257,88 | 963,88 d |
| | C10 | 161,67 | 4904,16 | 3575,11 | 3206,92 | 2961,97 a |
| | C20 | 346,31 | 1817,85 | 3993,25 | 1723,12 | 1970,13 b |
| | U10 | 262,64 | 2349,82 | 3099,65 | 297,41 | 1502,38 c |
| | U20 | 353,01 | 2679,33 | 2482,65 | 831,08 | 1586,52 c |
| | Średnia | 276,02 d | 2510,42 b | 2938,18 a | 1463,28 c | |
| epikatechina | S | 327,49 | 749,41 | 1441,17 | 1131,08 | 912,29 e |
| | C10 | 508,48 | 5017,94 | 3132,36 | 3727,27 | 3096,52 a |
| | C20 | 816,12 | 2290,99 | 3758,03 | 2065,99 | 2232,78 b |
| | U10 | 633,42 | 1918,43 | 2229,55 | 482,64 | 1316,01 d |
| | U20 | 913,46 | 2587,97 | 1877,30 | 1363,94 | 1685,67 c |
| | Średnia | 639,79 c | 2512,95 a | 2487,68 a | 1754,19 b | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

2.5. Malina właściwa

2.5.1. Liście maliny właściwej

W ekstraktach z liści maliny właściwej zidentyfikowano 8 związków biologicznie aktywnych w tym 3 flawonoidy (rutozyd, hiperozyd i astragalinę), 4 kwasy fenolowe (elagowy, galusowy, chlorogenowy i kawowy) oraz z garbników – katechinę. Nie stwierdzono wyraźnych zależności pomiędzy zawartością poszczególnych grup związków w ekstraktach, a użytą metodą ekstrakcji. Najbardziej wydajnym rozpuszczalnikiem dla większości ww. związków był 40% alkohol etylowy (tab. 27-29).

Tabela 27. Zawartość związków flawonoidowych w ekstraktach uzyskanych z liści maliny właściwej ($\text{mg} \times 100\text{g}^{-1}$ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|-------------------|---------|----------------|-----------|------------|-----------|-------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| rutozyd | S | 660,12 | 580,47 | 3375,41 | 11847,65 | 4115,91 bc |
| | C10 | 1037,40 | 1498,89 | 13327,17 | 3802,06 | 4916,38 ab |
| | C20 | 2572,94 | 2686,50 | 7500,92 | 9548,93 | 5577,32 a |
| | U10 | 712,43 | 6830,02 | 5614,85 | 840,33 | 3499,41 c |
| | U20 | 722,94 | 8186,35 | 7238,08 | 1947,38 | 4523,69 abc |
| | Średnia | 1141,16 d | 3956,45 c | 7411,29 a | 5597,27 b | |
| hiperozyd | S | 2183,57 | 391,81 | 5506,54 | 11401,30 | 4870,80 b |
| | C10 | 1478,06 | 1403,28 | 12590,49 | 5681,78 | 5288,40 b |
| | C20 | 2346,13 | 1265,76 | 12236,75 | 11418,65 | 6816,83 a |
| | U10 | 478,65 | 15084,79 | 9575,40 | 1448,66 | 6646,88 a |
| | U20 | 568,44 | 12636,15 | 12192,44 | 2922,92 | 7079,99 a |
| | Średnia | 1410,97 c | 6156,36 b | 10420,32 a | 6574,66 b | |
| astragalina | S | 1460,83 | 614,47 | 290,52 | 4171,01 | 1634,21 b |
| | C10 | 1702,03 | 1609,92 | 4406,35 | 1346,29 | 2266,15 a |
| | C20 | 1853,45 | 1315,51 | 645,60 | 3221,02 | 1758,89 b |
| | U10 | 624,72 | 3305,49 | 2326,64 | 610,78 | 1716,91 b |
| | U20 | 563,94 | 3193,34 | 2822,52 | 929,81 | 1877,40 b |
| | Średnia | 1240,99 b | 2007,75 a | 2098,33 a | 2055,78 a | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 28. Zawartość kwasów fenolowych w ekstraktach uzyskanych z liści maliny właściwej ($\text{mg} \times 100\text{g}^{-1}$ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|-------------------|---------|----------------|-----------|-----------|-----------|------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| Kwas elagowy | S | 8023,30 | 1529,81 | 1948,34 | 6961,92 | 4615,84 a |
| | C10 | 1259,06 | 2343,77 | 7362,09 | 3509,77 | 3618,67 b |
| | C20 | 1037,85 | 1504,52 | 4329,64 | 8334,62 | 3801,66 b |
| | U10 | 349,99 | 3908,48 | 2489,62 | 363,32 | 1777,85 c |
| | U20 | 431,36 | 2646,00 | 5414,03 | 1360,69 | 2463,02 c |
| | Średnia | 2220,31 b | 2386,52 b | 4308,74 a | 4106,06 a | |
| Kwas galusowy | S | 1381,98 | 2396,13 | 579,82 | 8357,05 | 3178,74 a |
| | C10 | 574,17 | 1274,04 | 1546,35 | 6116,83 | 2377,85 b |
| | C20 | 672,03 | 1470,51 | 1288,48 | 3223,37 | 1663,60 c |
| | U10 | 257,76 | 6197,59 | 2643,93 | 479,77 | 2394,76 b |
| | U20 | 223,74 | 2056,31 | 6146,91 | 502,51 | 2232,37 b |
| | Średnia | 621,94 c | 2678,92 b | 2441,10 b | 3735,90 a | |
| Kwas chlorogenowy | S | 1921,24 | 839,01 | 3474,04 | 2771,06 | 2251,34 cd |
| | C10 | 83,46 | 2653,32 | 5385,69 | 2308,73 | 2607,80 bc |
| | C20 | 241,20 | 941,08 | 7720,09 | 7108,19 | 4002,64 a |
| | U10 | 186,15 | 7521,91 | 3603,04 | 49,91 | 2840,25 b |
| | U20 | 356,33 | 2292,40 | 6208,88 | 57,48 | 2228,77 d |
| | Średnia | 557,67 d | 2849,54 b | 5278,35 a | 2459,07 c | |
| Kwas kawowy | S | 339,52 | 156,17 | 1221,81 | 2243,86 | 990,34 b |
| | C10 | 150,40 | 670,95 | 335,56 | 504,87 | 415,45 d |
| | C20 | 142,96 | 943,80 | 2715,13 | 2937,21 | 1684,77 a |
| | U10 | 81,15 | 1328,33 | 897,96 | 146,34 | 613,45 c |
| | U20 | 120,68 | 1839,44 | 1365,37 | 178,44 | 875,98 b |
| | Średnia | 166,94 c | 987,74 b | 1307,16 a | 1202,14 a | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 29. Zawartość katechiny w ekstraktach uzyskanych z liści maliny właściwej ($\text{mg} \times 100\text{g}^{-1}$ s.m. ekstraktu)

| Rozpuszczalnik | | | | | |
|----------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Metoda | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| S | 280,16 | 820,03 | 2021,65 | 4690,97 | 1953,20 c |
| C10 | 104,07 | 421,87 | 4647,87 | 1717,62 | 1722,86 c |
| C20 | 1214,09 | 2592,69 | 4492,56 | 3219,70 | 2879,76 b |
| U10 | 216,90 | 6367,62 | 9733,83 | 460,86 | 4194,80 a |
| U20 | 264,05 | 5973,99 | 8460,33 | 1508,82 | 4051,80 a |
| Średnia | 415,85 d | 3235,24 b | 5871,25 a | 2319,59 c | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

2.5.2. Owoce maliny właściwej

W ekstraktach z owoców maliny właściwej oznaczono 6 związków czynnych. Z flawonoidów: astragalinę (3-O-glukozyd kemferolu); kwasy fenolowe: benzoesowy, elagowy i galusowy oraz z garbników: katechinę i epikatechinę.

Podobnie jak przy ekstraktach z owoców jeżyny najbardziej wydajną okazała się ekstrakcja periodyczna pod chłodnicą zwrotną w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:10. Jednakże w przeciwieństwie do jeżyny gdzie wpływ rozpuszczalnika nie był widoczny, dla owoców maliny najlepszym rozpuszczalnikiem okazał się 40% alkohol etylowy (tab. 30-32).

Tabela 30. Zawartość astragaliny w ekstraktach uzyskanych z owoców maliny właściwej (mg×100g⁻¹ s.m. ekstraktu)

| Metoda | Rozpuszczalnik | | | | Średnia |
|----------------|----------------|----------|-----------|----------|----------|
| | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | |
| S | 187,50 | 110,32 | 176,29 | 114,43 | 147,14 c |
| C10 | 541,57 | 603,58 | 244,32 | 115,65 | 376,28 a |
| C20 | 151,66 | 132,82 | 126,13 | 67,03 | 119,41 c |
| U10 | 280,95 | 197,88 | 374,55 | 280,58 | 283,49 b |
| U20 | 234,23 | 208,46 | 387,76 | 204,37 | 258,71 b |
| Średnia | 279,18 a | 250,61 b | 261,81 ab | 156,41 c | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 31. Zawartość garbników w ekstraktach uzyskanych z owoców maliny właściwej (mg×100g⁻¹ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | Średnia |
|-------------------|----------------|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | |
| katechina | S | 174,30 | 495,55 | 1200,16 | 1045,59 | 728,90 c |
| | C10 | 601,41 | 4884,96 | 4530,12 | 738,30 | 2688,70 a |
| | C20 | 174,12 | 2029,11 | 2215,90 | 178,55 | 1149,42 b |
| | U10 | 237,34 | 1043,28 | 1669,71 | 117,31 | 766,91 c |
| | U20 | 250,16 | 1570,27 | 4646,91 | 454,42 | 1730,44 b |
| | Średnia | 287,47 c | 2004,63 b | 2852,56 a | 506,83 c | |
| epikatechina | S | 425,85 | 1155,52 | 2137,63 | 1575,42 | 1323,61 d |
| | C10 | 2336,46 | 6120,21 | 5912,33 | 1344,23 | 3928,31 a |
| | C20 | 223,86 | 3352,45 | 2820,97 | 1245,81 | 1910,77 c |
| | U10 | 619,63 | 2855,33 | 3793,32 | 346,29 | 1903,64 c |
| | U20 | 397,80 | 4016,99 | 6900,89 | 1058,62 | 3093,57 b |
| | Średnia | 800,72 d | 3500,10 b | 4313,03 a | 1114,07 c | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 32. Zawartość kwasów fenolowych w ekstraktach uzyskanych z owoców maliny właściwej ($\text{mg} \times 100\text{g}^{-1}$ s.m. ekstraktu)

| Oznaczony związek | Metoda | Rozpuszczalnik | | | | |
|-------------------|---------|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| kwas benzoesowy | S | 122,05 | 193,34 | 323,02 | 127,12 | 191,38 a |
| | C10 | 237,76 | 290,29 | 159,23 | 93,13 | 195,10 a |
| | C20 | 65,06 | 200,68 | 153,61 | 89,06 | 127,10 bc |
| | U10 | 99,41 | 144,71 | 161,01 | 34,04 | 109,79 c |
| | U20 | 108,14 | 135,04 | 287,86 | 39,06 | 142,53 b |
| | Średnia | 126,48 c | 192,81 b | 216,94 a | 76,48 d | |
| kwas elagowy | S | 230,54 | 189,02 | 406,44 | 315,27 | 285,32 d |
| | C10 | 2743,00 | 2220,85 | 1509,11 | 301,80 | 1693,69 a |
| | C20 | 811,35 | 594,71 | 639,41 | 492,53 | 634,50 b |
| | U10 | 216,36 | 693,55 | 606,11 | 79,59 | 398,90 cd |
| | U20 | 194,66 | 585,12 | 1050,58 | 175,02 | 501,35 c |
| | Średnia | 839,18 a | 856,65 a | 842,33 a | 272,84 b | |
| kwas galusowy | S | 407,90 | 728,75 | 1085,18 | 1766,73 | 997,14 c |
| | C10 | 2881,90 | 2364,04 | 1852,98 | 1171,70 | 2067,65 a |
| | C20 | 555,40 | 1603,02 | 1387,24 | 1569,34 | 1278,75 b |
| | U10 | 374,57 | 804,44 | 1593,67 | 577,19 | 837,47 c |
| | U20 | 356,34 | 1310,10 | 3268,46 | 1066,90 | 1500,45 b |
| | Średnia | 915,22 c | 1362,07 b | 1837,51 a | 1230,37 b | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

**V. Ocena aktywności
przeciwutleniającej ekstraktów
uzyskanych z surowców wiazówki
bulwkowej, kuklika pospolitego, śliwy
tarniny, jeżyny fałdowanej i maliny
właściwej**

1. Metodyka

1.1. Materiał badawczy

W przeprowadzonych doświadczeniach badano ekstrakty otrzymane z 5 wybranych surowców zielarskich (kwiaty, ziele oraz organy podziemne wiąźówki bulwkowej, ziele i organy podziemne kuklika pospolitego, kwiaty i owoce śliwy tarniny, liście i owoce jeźyny fałdowanej, liście i owoce maliny właściwej) w sposób opisany w rozdziale IV. Zastosowano trzy metody ekstrakcji: ekstrakcję ciągłą wyczerpującą w uniwersalnym systemie ekstrakcyjnym Büchi B-811, ekstrakcję periodyczną pod chłodnicą zwrotną w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:20 oraz ekstrakcję periodyczną wspomaganą ultradźwiękami w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:20. Ekstrakcje prowadzono wodnymi roztworami etanolu o stężeniu 96%, 70% i 40% oraz wodą destylowaną uzyskując cztery frakcje o zróżnicowanym składzie. Czynniki i poziomy czynników przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 33. Zestawienie czynników i ich poziomów w doświadczeniach

| Czynnik | Poziomy czynnika |
|-------------------|--|
| Metoda ekstrakcji | S – ekstrakcja ciągła wyczerpująca w uniwersalnym systemie ekstrakcyjnym Büchi B-811 C – ekstrakcja periodyczna pod chłodnicą zwrotną w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:20 U – ekstrakcja periodyczna wspomaganą ultradźwiękami w stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:20 |
| Rozpuszczalnik | EtOH 96% – 96% roztwór etanolu EtOH 70% – 70% roztwór etanolu EtOH 40% – 40% roztwór etanolu Woda – woda destylowana |

1.2. Metody badawcze

Zastosowano trzy metody pomiaru aktywności antyoksydacyjnej o różnym mechanizmie działania, pozwalające pełniej oszacować aktywność przeciwutleniającą badanych ekstraktów roślinnych.

1.2.1. Określanie aktywności antyoksydacyjnej metodą Folina-Ciocalteu (GAE)

Metoda Folin-Ciocalteu (Gallic Acid Equivalence method – GAE), zwyczajowo stosowana jest do określania ogólnej zawartości związków fenolowych w próbkach, jest jednak miarą ogólnej siły redukującej ekstraktów roślinnych [Prior i in.2005]. Antyoksydanty zawarte w wyciągach otrzymanych z materiału roślinnego redukując

odczynnik Folin-Ciocalteu wywoływały reakcję barwną. Oznaczenia dokonano fotometrycznie po wywołaniu reakcji barwnej wskutek redukcji odczynnika Folin-Ciocalteu przez antyoksydanty wyekstrahowane z prób materiału roślinnego [Zheng i Wang 2001, Singh i in. 2002]. Pomiarów dokonano wobec kwasu galusowego (GA) jako wzorca i wyrażono w $\text{mg GA} \times 100 \text{ g}^{-1}$ pow. s.m.

Doświadczenie wykonano w 3 powtórzeniach.

1.2.2. Określanie stopnia zmiatania wolnych rodników wyrażonego procentem inhibicji DPPH

Oznaczenie prowadzono według metody opisanej przez Chen i Ho 1997, Wang i in. 1998 i Matsuura i in. 2003. Poszczególne ekstrakty dodawano do roztworu stabilnego, barwnego wolnego rodnika 2,2-difenylo-1-pikrylohydrazylu (DPPH). Roztwór tego rodnika ma intensywny, niebiesko-fioletowy kolor. Antyoksydanty obecne w badanej próbce zmiatając rodnik powodują odbarwienie roztworu; stopień odbarwienia świadczy o zdolności badanej próbki do zmiatania rodnika. Pomiar absorpcji światła przez próbki prowadzono za pomocą spektrofotometru. Stopień wychwytywania DPPH określono po 0,5 i 5,0 minutach od zadania analizowanych ekstraktów i wyrażono jako procent neutralizacji rodnika wobec próby kontrolnej.

Doświadczenie wykonano w 3 powtórzeniach.

1.2.3. Określanie zdolności inhibicji utleniania kwasu linolowego (LA)

Oznaczenie prowadzono według metodyki opisanej przez Toivonen i Sweeney 1998 oraz Leję i in. 2001. Peroksydację kwasu linolowego (LA) inicjowano dodając chlorek żelazawy w obecności badanych ekstraktów. Hamowanie peroksydacji kwasu linolowego określono po godzinnej inkubacji w temperaturze 37°C , mierząc absorpcję światła przez badane próbki przy długości fali 232 nm za pomocą spektrofotometru. Obliczeń dokonano wobec prób kontrolnych (odczyty absorpcji dla poszczególnych rozpuszczalników) i wyrażono w procentach, posługując się następującym równaniem:

$$[(\Delta\text{OD}_{\text{kontrola}} - \Delta\text{OD}_{\text{próba}}) / \Delta\text{OD}_{\text{kontrola}}] \times 100$$

Doświadczenie wykonano w 3 powtórzeniach.

1.3. Statystyczna analiza wyników

Wyniki opracowano statystycznie za pomocą programu STATGRAPHIC® Plus dla Windows, wersja 4.1. Stosowano metodę jedno i dwuczynnikowej analizy wariancji. Istotność różnic pomiędzy uzyskanymi wynikami oceniano stosując metodę Tukey'a HSD przy założonym poziomie istotności $\alpha=0,05$.

2. Wyniki

2.1. Wiązówka bulwkowa

Zastosowane metody ekstrakcji i rozpuszczalniki w bardzo różny sposób wpływały na właściwości przeciwutleniające ekstraktów z trzech analizowanych surowców wiązówki. Wyniki dla poszczególnych testów były rozbieżne. Dla korzeni w teście LA i Folin-Ciocalteu najefektywniejsze wydawało się użycie ekstrakcji pod chłodnicą zwrotną, w teście DPPH natomiast użycie ekstrakcji wspomaganiej ultradźwiękami i w uniwersalnym systemie ekstrakcyjnym Büchi B-811 (tab. 36). Dla kwiatów hamowanie peroksydacji LA i wychwytywanie DPPH wskazywały na ekstrakcję z użyciem ultradźwięków jako najskuteczniejszą w ekstrakcji antyoksydantów, a ogólna ilość fenoli – na ekstrakcję w uniwersalnym systemie ekstrakcyjnym Büchi B-811 (tab. 34). W przypadku ziela, testy LA i Folin-Ciocalteu dawały najwyższe odczyty dla ekstraktów z uniwersalnego systemu ekstrakcyjnego Büchi B-811 i spod chłodnicy zwrotnej, a test DPPH wskazywał brak różnic w sile wychwytywania rodnika zależnych od metody, jedynie szybkość tej reakcji była większa dla ekstraktów spod chłodnicy zwrotnej (tab. 35). Analiza wszystkich wyciągów uzyskanych z wiązówki, niezależnie od użytego organu, pod względem wyłonienia najefektywniejszej metody ekstrakcji wyrażonej najsilniejszym hamowaniem peroksydacji LA oraz największą koncentracją związków fenolowych wskazywała jednak na ekstrakcję w uniwersalnym systemie ekstrakcyjnym Büchi B-811. Gorsze efekty uzyskano z użyciem ekstrakcji pod chłodnicą zwrotną, a następnie ekstrakcji wspomaganiej ultradźwiękami. Test DPPH wykazał natomiast, że najlepszą metodą są ekstrakcja wspomaganiana ultradźwiękami. Z zastosowanych ekstrahentów najskuteczniej izolowano antyoksydanty stosując etanol 70%, następnie etanol 40% i kolejno wodę oraz etanol 96%, na co wskazywały wyniki testów z LA i Folin-Ciocalteu, a także wychwytywania DPPH po 0,5 min.

Tabela 34. Wpływ metody ekstrakcji i rodzaju rozpuszczalnika na aktywność antyoksydacyjną ekstraktu z kwiatów wiązówki bulwkowej, mierzoną różnymi metodami

| Metoda pomiaru | Metoda ekstrakcji | Rozpuszczalnik | | | | |
|--|-------------------|----------------|----------|----------|--------|---------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| Metoda Folina-Ciocalteu (GAE) [(GA) w 100 g pow.s.m. (mg)] | S | 2215 | 7483 | 5071 | 3236 | 4501 a |
| | C | 1009 | 4613 | 4415 | 2553 | 3147 b |
| | U | 2177 | 4250 | 3035 | 2728 | 3048 c |
| | Średnia | 1801 d | 5449 a | 4173 b | 2839 c | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 0,5 min [%] | S | 75,3 | 69,2 | 57,0 | 74,9 | 69,1 c |
| | C10 | 59,4 | 73,1 | 73,3 | 76,3 | 70,5 b |
| | U20 | 79,4 | 76,2 | 73,3 | 71,9 | 75,2 a |
| | Średnia | 71,3 b | 72,9 ab | 67,9 c | 74,4 a | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 5,0 min [%] | S | 88,8 | 70,5 | 58,2 | 75,0 | 73,1 c |
| | C10 | 87,8 | 74,2 | 73,9 | 77,0 | 78,2 a |
| | U20 | 80,3 | 77,0 | 74,1 | 72,7 | 76,0 b |
| | Średnia | 85,7 a | 73,9 b | 68,7 c | 74,9 b | |
| Hamowanie peroksydacji kwasu linolowego (LA) [%] | S | 79,6 | 99,2 | 87,3 | 20,8 | 71,1 b |
| | C10 | 10,8 | 97,9 | 98,2 | 43,3 | 62,5 c |
| | U20 | 72,2 | 98,3 | 93,9 | 81,5 | 86,5 a |
| | Średnia | 54,2 c | 98,5 a | 93,1 b | 48,5 d | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 35. Wpływ metody ekstrakcji i rodzaju rozpuszczalnika na aktywność antyoksydacyjną ekstraktu z ziela wiązówki bulwkowej, mierzoną różnymi metodami

| Metoda pomiaru | Metoda ekstrakcji | Rozpuszczalnik | | | | |
|--|-------------------|----------------|----------|----------|--------|---------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| Metoda Folina-Ciocalteu (GAE) [(GA) w 100 g pow.s.m. (mg)] | S | 999 | 3494 | 2784 | 1400 | 2169 a |
| | C | 1434 | 1697 | 1387 | 793 | 1328 b |
| | U | 419 | 630 | 759 | 526 | 584 c |
| | Średnia | 951 c | 1940 a | 1643 b | 906 c | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 0,5 min [%] | S | 24,3 | 76,1 | 58,9 | 54,7 | 53,5 b |
| | C10 | 43,9 | 74,8 | 73,7 | 65,4 | 64,5 a |
| | U20 | 35,0 | 49,0 | 62,5 | 58,5 | 51,3 c |
| | Średnia | 34,4 d | 66,6 a | 65,0 b | 59,5 c | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 5,0 min [%] | S | 77,8 | 77,5 | 58,9 | 76,8 | 72,7 b |
| | C10 | 83,9 | 76,0 | 74,1 | 67,2 | 75,3 a |
| | U20 | 76,7 | 81,2 | 78,1 | 67,1 | 75,8 a |
| | Średnia | 79,5 a | 78,2 b | 70,4 c | 70,3 c | |
| Hamowanie peroksydacji kwasu linołowego (LA) [%] | S | 21,7 | 90,7 | 59,3 | 51,7 | 55,9 a |
| | C10 | 31,8 | 78,5 | 81,0 | 25,1 | 54,1 b |
| | U20 | 12,6 | 14,7 | 31,1 | 11,1 | 17,4 c |
| | Średnia | 22,0 d | 61,3 a | 57,1 b | 29,3 c | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 36. Wpływ metody ekstrakcji i rodzaju rozpuszczalnika na aktywność antyoksydacyjną ekstraktu z organów podziemnych wiązówki bulwkowej, mierzona różnymi metodami

| Metoda pomiaru | Metoda ekstrakcji | Rozpuszczalnik | | | | |
|--|-------------------|----------------|----------|----------|---------|---------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| Metoda Folina-Ciocalteu (GAE) [(GA) w 100 g pow.s.m. (mg)] | S | 1119 | 2159 | 1758 | 1902 | 1734 a |
| | C | 823 | 2270 | 1662 | 1681 | 1609 b |
| | U | 629 | 1706 | 1528 | 1108 | 1243 c |
| | Średnia | 857 d | 2045 a | 1649 b | 1563 c | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 0,5 min [%] | S | 37,2 zł | 64,0 zł | 51,5 zł | 19,6 zł | 43,1 b |
| | C10 | 21,6 zł | 52,0 zł | 48,0 zł | 40,7 zł | 40,6 c |
| | U20 | 31,4 zł | 58,3 zł | 50,2 zł | 39,5 zł | 44,9 a |
| | Średnia | 30,1 d | 58,1 a | 49,9 b | 33,3 c | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 5,0 min [%] | S | 78,4 zł | 71,5 zł | 67,3 zł | 52,5 zł | 67,4 b |
| | C10 | 62,5 zł | 61,8 zł | 65,0 zł | 52,0 zł | 60,3 c |
| | U20 | 74,1 zł | 72,9 zł | 67,9 zł | 66,1 zł | 70,3 a |
| | Średnia | 71,7 a | 68,7 b | 66,7 c | 56,9 d | |
| Hamowanie peroksydacji kwasu linołowego (LA) [%] | S | 19,8 zł | 74,3 zł | 66,5 zł | 62,3 zł | 55,7 b |
| | C10 | 15,4 zł | 87,8 zł | 68,4 zł | 74,6 zł | 61,5 a |
| | U20 | 10,9 zł | 73,6 zł | 67,7 zł | 53,1 zł | 51,3 c |
| | Średnia | 15,4 d | 78,6 a | 67,5 b | 63,3 c | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

2.2. Kuklik pospolity

W przypadku korzeni kuklika każdy z trzech sposobów ekstrakcji dawał dobre rezultaty pod względem aktywności antyoksydacyjnej. Nieco gorsze wyniki w teście z LA i Folin-Ciocalteu uzyskano tylko przy użyciu ekstrakcji wspomaganiej ultradźwiękami. Różnice były niewielkie także między użytymi rozpuszczalnikami. Nieznacznie lepiej niż woda i etanol 96% działały roztwory etanolu 70 i 40% (tab. 38). Dla ziela najlepsze efekty dawała ekstrakcja z zastosowaniem chłodnicy zwrotnej i ultradźwięków, słabszą aktywność stwierdzano w wyciągach sporządzonych przy użyciu uniwersalnego systemu ekstrakcyjnego Büchi B-811. Najwięcej przeciwutleniaczy ekstrahowano etanolem 70 i 40%, a także używając etanolu 96% w przypadku ekstrakcji w uniwersalnym systemie ekstrakcyjnym Büchi B-811 i wody w przypadku ekstrakcji wspomaganiej ultradźwiękami (tab. 37).

Tabela 37. Wpływ metody ekstrakcji i rodzaju rozpuszczalnika na aktywność antyoksydacyjną ekstraktu z ziela kuklika pospolitego, mierzona różnymi metodami

| Metoda pomiaru | Metoda ekstrakcji | Rozpuszczalnik | | | | |
|--|-------------------|----------------|----------|----------|---------|---------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| Metoda Folina-Ciocalteu (GAE) [(GA) w 100 g pow.s.m. (mg)] | S | 1167 | 1178 | 1205 | 565 | 1029 c |
| | C | 516 | 1831 | 1471 | 896 | 1179 b |
| | U | 798 | 2237 | 2126 | 1528 | 1672 a |
| | Średnia | 827 d | 1749 a | 1601 b | 996 c | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 0,5 min [%] | S | 73,60 | 83,30 | 66,50 | 65,80 | 72,3 b |
| | C10 | 64,00 | 80,20 | 73,20 | 77,20 | 73,7 a |
| | U20 | 67,90 | 79,40 | 76,90 | 74,50 | 74,7 a |
| | Średnia | 68,5 c | 81,0 a | 72,22 b | 72,5 b | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 5,0 min [%] | S | 85,80 | 84,90 | 69,10 | 76,90 | 79,2 ni |
| | C10 | 74,70 | 81,80 | 86,90 | 79,60 | 80,7 ni |
| | U20 | 76,80 | 81,40 | 78,10 | 86,30 | 80,7 ni |
| | Średnia | 79,1 ni | 82,7 ni | 78,1 ni | 80,9 ni | |
| Hamowanie peroksydacji kwasu linolowego (LA) [%] | S | 91,50 | 93,60 | 93,90 | 14,80 | 73,5 c |
| | C10 | 67,80 | 97,80 | 98,60 | 96,50 | 90,2 b |
| | U20 | 78,70 | 97,60 | 98,40 | 96,40 | 92,8 a |
| | Średnia | 79,4 b | 96,4 a | 97,0 a | 69,3 c | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 38. Wpływ metody ekstrakcji i rodzaju rozpuszczalnika na aktywność antyoksydacyjną ekstraktu z organów podziemnych kuklika pospolitego, mierzoną różnymi metodami

| Metoda pomiaru | Metoda ekstrakcji | Rozpuszczalnik | | | | |
|--|-------------------|----------------|----------|----------|--------|---------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| Metoda Folina-Ciocalteu (GAE) [(GA) w 100 g pow.s.m. (mg)] | S | 2233 | 3784 | 3410 | 1676 | 2776 a |
| | C | 1510 | 3555 | 2198 | 2043 | 2327 b |
| | U | 838 | 2671 | 1491 | 942 | 1485 c |
| | Średnia | 1527 c | 3337 a | 2366 b | 1554 c | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 0,5 min [%] | S | 72,0 | 83,0 | 80,9 | 71,1 | 76,8 b |
| | C10 | 77,6 | 82,9 | 81,8 | 82,8 | 81,3 a |
| | U20 | 75,5 | 84,9 | 83,1 | 81,3 | 81,2 a |
| | Średnia | 75,0 d | 83,6 a | 81,9 b | 78,4 c | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 5,0 min [%] | S | 89,0 | 85,2 | 83,0 | 78,9 | 84,3 b |
| | C10 | 89,8 | 84,3 | 83,4 | 84,5 | 85,5 a |
| | U20 | 89,2 | 87,0 | 85,1 | 82,5 | 86,0 a |
| | Średnia | 89,4 a | 85,5 b | 83,8 c | 82,0 d | |
| Hamowanie peroksydacji kwasu linolowego (LA) [%] | S | 98,4 | 99,2 | 99,3 | 98,0 | 98,7 a |
| | C10 | 97,4 | 98,8 | 98,5 | 98,6 | 98,3 a |
| | U20 | 88,5 | 97,8 | 96,6 | 88,2 | 92,8 b |
| | Średnia | 94,8 b | 98,6 a | 98,1 a | 95,0 b | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

2.3. Śliwa tarnina

Porównując ekstrakty uzyskane z kwiatów i owoców tarniny widać, że kwiaty są znacznie bogatsze zarówno pod względem liczby związków chemicznych jak i ich zawartości. W kwiatach było ich 15, a w owocach tylko 9. Tak wysoka liczba i różnorodność związków aktywnych w kwiatach może przekładać się także na ich wyższą aktywność antyoksydacyjną (tab. 39).

Analiza wyciągów uzyskanych z owoców tarniny w teście hamowania peroksydacji LA wskazywała, że zastosowanie ekstrakcji periodycznej wspomaganej ultradźwiękami jest efektywniejszą metodą ekstrakcji antyoksydantów od ekstrakcji pod chłodnicą zerotną i w uniwersalnym systemie ekstrakcyjnym Büchi B-811. Testy z DPPH i odczynnikiem Folin-Ciocalteu wykazały natomiast, że najlepszą metodą jest ekstrakcja pod chłodnicą (tab. 40). W przypadku ekstraktów z kwiatów ich siła wychwytywania DPPH była większa, jeśli uzyskiwano je z użyciem ekstrakcji pod chłodnicą niż ekstrakcji wspomaganej ultradźwiękami i ekstrakcji w uniwersalnym systemie ekstrakcyjnym Büchi B-811. W testach z LA i Folin-Ciocalteu największą aktywność miały ekstrakty otrzymane w uniwersalnym systemie ekstrakcyjnym Büchi B-811, a najmniejszą wykonane z użyciem ultradźwięków. Biorąc pod uwagę rodzaj rozpuszczalnika wyniki przeprowadzonych testów aktywności antyoksydacyjnej owoców i kwiatów tarniny były różne. Niezależnie jednak od użytego surowca ustalono w każdym z trzech testów, że najmniej antyoksydantów uzyskiwano stosując do ekstrakcji etanol 96%, a najwięcej etanol 40%.

Tabela 39. Wpływ metody ekstrakcji i rodzaju rozpuszczalnika na aktywność antyoksydacyjną ekstraktu z kwiatów śliwy tarniny, mierzoną różnymi metodami

| Metoda pomiaru | Metoda ekstrakcji | Rozpuszczalnik | | | | |
|--|-------------------|----------------|--------------|------------|------------|------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| Metoda Folina-Ciocalteu (GAE) [(GA) w 100 g pow.s.m. (mg)] | S | 2631±110 | 3351±79 | 3098±42 | 3070±19 | 3038±63 a |
| | C | 1489±16 | 2324±18 | 2777±44 | 2398±13 | 2247±23 b |
| | U | 1015±25 | 1009,00±3 | 2540±2 | 1307±11 | 1468±13 c |
| | Średnia | 1712±51 c | 2227,89±34 b | 2805±37 a | 2258±14 b | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 0,5 min [%] | S | 50,8±0,8 | 68,8±0,5 | 45,1±1,1 | 38,7±0,4 | 50,8±0,7 b |
| | C10 | 46,3±0,8 | 63,8±1,3 | 50,9±1,3 | 59,1±1,1 | 55,0±1,1 a |
| | U20 | 27,3±1,6 | 55,9±0,5 | 58,0±0,3 | 56,3±0,6 | 49,4±0,7 c |
| | Średnia | 41,4±1,1 c | 62,9±0,8 a | 51,3±0,9 b | 51,4±0,7 b | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 5,0 min [%] | S | 82,4±0,4 | 75,2±0,4 | 55,7±1,2 | 45,2±1,7 | 64,6±0,9 c |
| | C10 | 81,4±1,2 | 72,8±0,7 | 65,4±3,4 | 63,7±0,6 | 70,8±1,5 a |
| | U20 | 70,8±1,4 | 69,2±1,1 | 63,2±0,2 | 62,6±0,2 | 66,5±0,7 b |
| | Średnia | 78,2±1,0 a | 72,4±0,7 b | 61,4±1,6 c | 57,2±0,8 d | |
| Hamowanie peroksydacji kwasu linolowego (LA) [%] | S | 61,7±3,1 | 73,2±2,7 | 85,1±2,4 | 77,6±0,6 | 74,4±2,2 a |
| | C10 | 49,5±2,2 | 75,4±2,6 | 80,2±1,3 | 45,8±1,7 | 62,7±2,0 b |
| | U20 | 24,8±1,2 | 35,5±2,3 | 63,3±1,2 | 44,7±1,9 | 42,1±1,9 c |
| | Średnia | 45,3±2,6 d | 61,3±2,5 b | 76,2±1,6 a | 56,0±1,4 c | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 40. Wpływ metody ekstrakcji i rodzaju rozpuszczalnika na aktywność antyoksydacyjną ekstraktu z owoców śliwy tarniny, mierzoną różnymi metodami

| Metoda pomiaru | Metoda ekstrakcji | Rozpuszczalnik | | | | |
|--|-------------------|----------------|------------|------------|------------|------------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| Metoda Folina-Ciocalteu (GAE) [(GA) w 100 g pow.s.m. (mg)] | S | 127±1 | 394±29 | 418±25 | 410±6 | 337±15 b |
| | C | 228±4 | 584±10 | 688±5 | 837±32 | 584±13 a |
| | U | 134±3 | 252±16 | 166±4 | 227±8 | 195±8 c |
| | Średnia | 163±3 c | 410±18 b | 424±11 b | 491±15 a | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 0,5 min [%] | S | 4,0±0,4 | 7,3±1,3 | 8,6±1,0 | 10,6±0,5 | 7,6±0,8 c |
| | C10 | 5,8±0,6 | 14,9±1,2 | 12,0±0,7 | 13,5±1,3 | 11,6±1,0 a |
| | U20 | 5,0±0,4 | 11,5±0,4 | 8,0±1,4 | 12,1±0,7 | 9,1±0,8 b |
| | Średnia | 4,9±0,5 c | 11,2±1,0 a | 9,5±1,1 b | 12,1±0,8 a | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 5,0 min [%] | S | 10,0±0,9 | 26,0±3,1 | 32,0±2,9 | 43,7±2,9 | 27,9±2,4 b |
| | C10 | 22,3±0,9 | 56,4±2,2 | 51,5±0,8 | 60,2±2,0 | 47,6±1,5 a |
| | U20 | 12,1±0,5 | 33,7±0,9 | 20,6±2,9 | 38,0±1,7 | 26,1±1,5 b |
| | Średnia | 14,8±0,7 d | 38,7±2,1 b | 34,7±2,1 c | 47,3±2,2 a | |
| Hamowanie peroksydacji kwasu linolowego (LA) [%] | S | 7,8±0,8 | 6,2±1,4 | 1,2±0,4 | 9,2±1,4 | 6,1±1,0 c |
| | C10 | 5,7±1,1 | 9,7±1,5 | 1,6±1,1 | 24,4±2,9 | 10,4±1,6 b |
| | U20 | 19,7±2,7 | 12,3±1,8 | 18,4±2,1 | 11,8±1,1 | 15,6±2,4 a |
| | Średnia | 11,1±1,5 b | 9,4±1,6 bc | 7,1±1,2 c | 15,1±0,4 a | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

2.4. Jeżyna fałdowana

Dla owoców jeżyny najbardziej wydajną metodą ekstrakcji przeciwutleniaczy było użycie chłodnicy zwrotnej, co potwierdzały wyniki wszystkich trzech testów. Szczególnie dobrymi rozpuszczalnikami były tu etanol 40 i 70%, a także woda. Etanol 40% był także bardzo skuteczny przy pozostałych dwu sposobach ekstrakcji (tab. 42). Dla liści jeżyny trzy testy aktywności antyoksydacyjnej wskazywały na ekstrakcję pod chłodnicą zwrotną i w uniwersalnym systemie ekstrakcyjnym Büchi B-811 jako metody optymalne. Niewiele gorsze efekty, zwłaszcza w teście z DPPH uzyskano dla ultradźwięków. Najsilniejszą aktywność miały wyciągi z liści uzyskane za pomocą etanolu 40%, 70% i wody. Najslabszą, podobnie jak w przypadku owoców – etanol 96% (tab. 41).

Tabela 41. Wpływ metody ekstrakcji i rodzaju rozpuszczalnika na aktywność antyoksydacyjną ekstraktu z liści jeżyny fałdowanej, mierzoną różnymi metodami

| Metoda pomiaru | Metoda ekstrakcji | Rozpuszczalnik | | | | |
|--|-------------------|----------------|----------|----------|--------|---------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| Metoda Folina-Ciocalteu (GAE) [(GA) w 100 g pow.s.m. (mg)] | S | 865 | 3484 | 3358 | 3777 | 2871 a |
| | C | 689 | 1574 | 1660 | 1467 | 1348 b |
| | U | 242 | 1102 | 1686 | 1133 | 1041 c |
| | Średnia | 599 d | 2053 c | 2235 a | 2126 b | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 0,5 min [%] | S | 26,2 | 77,6 | 73,3 | 77,0 | 63,5 c |
| | C10 | 46,4 | 77,2 | 76,0 | 78,8 | 69,6 a |
| | U20 | 45,4 | 77,3 | 76,7 | 61,2 | 65,2 b |
| | Średnia | 39,3 d | 77,3 a | 75,3 b | 72,4 c | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 5,0 min [%] | S | 71,4 | 79,5 | 73,7 | 77,7 | 75,6 c |
| | C10 | 84,6 | 79,1 | 77,0 | 79,8 | 80,1 a |
| | U20 | 78,4 | 79,0 | 77,2 | 78,4 | 78,3 b |
| | Średnia | 78,1 a | 79,2 a | 75,9 b | 78,7 a | |
| Hamowanie peroksydacji kwasu linolowego (LA) [%] | S | 80,0 | 95,1 | 97,6 | 97,6 | 92,6 a |
| | C10 | 69,2 | 98,8 | 96,1 | 98,2 | 90,6 b |
| | U20 | 14,2 | 94,9 | 97,8 | 93,7 | 75,2 c |
| | Średnia | 54,5 b | 96,3 a | 97,2 a | 96,5 a | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 42. Wpływ metody ekstrakcji i rodzaju rozpuszczalnika na aktywność antyoksydacyjną ekstraktu z owoców jeżyny fałdowanej, mierzoną różnymi metodami

| Metoda pomiaru | Metoda ekstrakcji | Rozpuszczalnik | | | | |
|--|-------------------|----------------|----------|----------|--------|---------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| Metoda Folina-Ciocalteu (GAE) [(GA) w 100 g pow.s.m. (mg)] | S | 518 | 988 | 1125 | 849 | 870 b |
| | C | 481 | 1610 | 1763 | 843 | 1174 a |
| | U | 196 | 426 | 1049 | 419 | 523 c |
| | Średnia | 398 d | 1008 a | 1312 b | 704 c | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 0,5 min [%] | S | 20,5 | 39,3 | 54,4 | 50,3 | 41,1 b |
| | C10 | 28,9 | 59,5 | 61,1 | 50,2 | 49,9 a |
| | U20 | 14,5 | 40,9 | 59,9 | 37,9 | 38,3 c |
| | Średnia | 21,3 c | 46,6 b | 58,5 a | 46,2 b | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 5,0 min [%] | S | 49,1 | 71,6 | 77,5 | 81,5 | 69,9 b |
| | C10 | 68,8 | 74,0 | 81,5 | 82,6 | 76,7 a |
| | U20 | 47,6 | 80,8 | 83,8 | 75,3 | 71,9 b |
| | Średnia | 55,2 c | 75,5 b | 80,9 a | 79,8 a | |
| Hamowanie peroksydacji kwasu linolowego (LA) [%] | S | 13,0 | 27,6 | 41,9 | 28,4 | 27,7 b |
| | C10 | 14,8 | 87,7 | 86,6 | 51,6 | 60,1 a |
| | U20 | 10,9 | 19,0 | 61,0 | 28,6 | 29,9 b |
| | Średnia | 12,9 d | 44,8 b | 63,2 a | 36,2 c | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

2.5. Malina właściwa

Najefektywniejszą metodą ekstrakcji wyrażoną najsilniejszym hamowaniem peroksydacji LA przez uzyskane wyciągi okazało się użycie uniwersalnego systemu ekstrakcyjnego Büchi B-811 w przypadku owoców maliny właściwej oraz uniwersalnego systemu ekstrakcyjnego Büchi B-811 i chłodnicy w przypadku liści (tab. 43 i 44). W teście DPPH dla owoców korzystniejszą była ekstrakcja pod chłodnicą zwrotną, a dla liści pod chłodnicą i wspomagana ultradźwiękami. Dla obu surowców najmniej antyoksydantów ekstrahowano stosując etanol 96%, a najwięcej przy użyciu etanolu 70 i 40%. W wielu przypadkach również woda była bardzo dobrym rozpuszczalnikiem.

Tabela 43. Wpływ metody ekstrakcji i rodzaju rozpuszczalnika na aktywność antyoksydacyjną ekstraktu z liści maliny właściwej, mierzoną różnymi metodami

| Metoda pomiaru | Metoda ekstrakcji | Rozpuszczalnik | | | | |
|--|-------------------|----------------|----------|----------|--------|---------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| Metoda Folina-Ciocalteu (GAE) [(GA) w 100 g pow.s.m. (mg)] | S | 659 | 2476 | 2650 | 753 | 1635 a |
| | C | 176 | 3995 | 2081 | 524 | 1694 a |
| | U | 140 | 2865 | 2073 | 346 | 1356 b |
| | Średnia | 325 d | 3112 a | 2268 b | 541 c | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 0,5 min [%] | S | 38,4 | 72,6 | 56,4 | 60,5 | 57,0 b |
| | C10 | 14,5 | 87,8 | 82,7 | 87,9 | 68,2 a |
| | U20 | 23,9 | 88,3 | 87,7 | 73,9 | 68,5 a |
| | Średnia | 25,6 c | 82,9 a | 75,6 b | 74,1 b | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 5,0 min [%] | S | 57,8 | 73,4 | 72,8 | 62,3 | 66,6 a |
| | C10 | 29,6 | 88,6 | 83,6 | 88,4 | 72,6 b |
| | U20 | 43,5 | 89,7 | 88,9 | 90,7 | 78,2 b |
| | Średnia | 43,6 c | 83,9 a | 81,8 b | 80,5 b | |
| Hamowanie peroksydacji kwasu linolowego (LA) [%] | S | 12,9 | 94,6 | 96,4 | 98,2 | 75,5 a |
| | C10 | 15,3 | 87,2 | 98,9 | 91,0 | 73,1 b |
| | U20 | 23,8 | 97,0 | 96,5 | 23,5 | 60,2 c |
| | Średnia | 17,3 d | 92,9 b | 97,3 a | 70,9 c | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

Tabela 44. Wpływ metody ekstrakcji i rodzaju rozpuszczalnika na aktywność antyoksydacyjną ekstraktu z owoców maliny właściwej, mierzoną różnymi metodami

| Metoda pomiaru | Metoda ekstrakcji | Rozpuszczalnik | | | | |
|--|-------------------|----------------|----------|----------|--------|---------|
| | | EtOH 96% | EtOH 70% | EtOH 40% | Woda | Średnia |
| Metoda Folina-Ciocalteu (GAE) [(GA) w 100 g pow.s.m. (mg)] | S | 308 | 1030 | 1130 | 488 | 739 b |
| | C | 282 | 1155 | 1272 | 588 | 824 a |
| | U | 166 | 1917 | 844 | 298 | 806 a |
| | Średnia | 252 d | 1367 a | 1082 b | 458 c | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 0,5 min [%] | S | 14,0 | 33,5 | 35,6 | 47,5 | 32,6 c |
| | C10 | 15,1 | 51,4 | 60,7 | 52,2 | 44,9 a |
| | U20 | 9,4 | 89,4 | 37,1 | 25,3 | 40,3 b |
| | Średnia | 12,8 d | 58,1 a | 44,5 b | 41,7 c | |
| Wychwytywanie rodnika DPPH po 5,0 min [%] | S | 35,9 | 75,3 | 76,2 | 86,9 | 68,6 b |
| | C10 | 46,0 | 86,0 | 90,7 | 92,1 | 78,9 a |
| | U20 | 30,6 | 91,2 | 88,5 | 63,8 | 68,5 b |
| | Średnia | 37,5 b | 84,4 a | 85,1 a | 80,9 a | |
| Hamowanie peroksydacji kwasu linolowego (LA) [%] | S | 64,4 | 92,3 | 94,8 | 90,5 | 85,5 a |
| | C10 | 14,2 | 96,3 | 97,3 | 90,0 | 74,4 b |
| | U20 | 26,3 | 97,3 | 91,9 | 70,5 | 71,5 b |
| | Średnia | 34,9 c | 95,3 a | 94,7 a | 83,7 b | |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$

2.6. Porównanie aktywności wyciągów otrzymanych z poszczególnych surowców

Tabela 45. Porównanie aktywności wyciągów otrzymanych z poszczególnych surowców (średnie)

| Surowiec | Metoda pomiaru aktywności antyoksydacyjnej | | | |
|----------|--|----------|--------|--------|
| | GAE | DPPH 0,5 | DPPH 5 | LA |
| WBk | 790 f | 67,6 c | 69,0 f | 69,1 d |
| WBz | 1360 d | 56,4 d | 74,6 d | 42,4 h |
| WBo | 1529 c | 42,8 f | 66,0 g | 56,2 g |
| KPz | 1293 e | 73,6 b | 80,2 b | 85,5 b |
| KPo | 2196 a | 79,8 a | 85,2 a | 96,6 a |
| ŚTk | 2251 a | 51,8 e | 67,3 g | 59,7 f |
| ŚTow | 372 h | 9,5 g | 33,9 h | 10,7 j |
| JFI | 1753 b | 66,1 c | 78,0 c | 86,1 b |
| JFow | 762 g | 51,9 e | 72,1 e | 50,7 i |
| MWI | 1562 c | 64,6 c | 72,4 e | 69,6 e |
| MWow | 790 f | 39,3 f | 72,0 e | 77,1 c |

Średnie oznaczone tymi samymi literami alfabetu w kolumnach nie różnią się istotnie przy $\alpha=0,05$.

Surowiec

- WBk – kwiat wiązówki bulwkowej
- WBz – ziele wiązówki bulwkowej
- WBo – organy podziemne wiązówki bulwkowej
- KPz – ziele kuklika pospolitego
- KPo – organy podziemne kuklika pospolitego
- ŚTk – kwiat śliwy tarniny
- ŚTow – owoc śliwy tarniny
- JFI – liście jeżyny fałdowanej
- JFow – owoce jeżyny fałdowanej
- MWI – liście maliny właściwej
- MWow – owoce maliny właściwej

Metoda pomiaru aktywności antyoksydacyjnej

- GAE – metoda Folina-Ciocalteu
- DPPH 0,5 – wychwytywanie rodnika DPPH po 0,5 min
- DPPH 5 – wychwytywanie rodnika DPPH po 5 min
- LA – hamowanie peroksydacji kwasu linolowego (LA)

3. Podsumowanie

W wyniku przeprowadzonych w niniejszej pracy ekstrakcji otrzymano szereg frakcji – alkoholowych, alkoholowo-wodnych i wodnych o bardzo zróżnicowanym składzie, na który wpływ miał, obok metody ekstrakcji, także zastosowany rozpuszczalnik. Spośród pięciu badanych gatunków ogólnie najsilniejsza aktywność antyoksydacyjna cechowała ekstrakty z kuklika pospolitego, a najsłabsza ekstrakty ze śliwy tarniny (tab. 45). Analizując różnice między badanymi surowcami uzyskanymi z poszczególnych gatunków, niezależnie od sposobu ekstrakcji i rodzaju rozpuszczalnika stwierdzono, że w przypadku śliwy tarniny potencjał antyoksydacyjny ekstraktów z kwiatów wykazany w każdym z trzech zastosowanych testów był kilkakrotnie większy niż owoców. Izolaty z liści jeżyny fałdowanej również we wszystkich testach wykazywały większą aktywność niż z owoców, jednak różnice między nimi były mniejsze, szczególnie w stopniu wychwytywania DPPH. W przypadku wyciągów z maliny właściwej metoda Folin-Ciocalteu i test DPPH prowadzony po czasie 0,5 minuty dały analogiczne wyniki, jednak hamowanie peroksydacji LA i wychwytywanie DPPH po 5,0 minutach wskazywały na brak różnic aktywności antyoksydacyjnej między ekstraktami z owoców i liści. Ekstrakty z owoców tarniny, jeżyny i maliny charakteryzowały się także zdecydowanie wolniejszym tempem wychwytywania rodnika niż odpowiednie ekstrakty z kwiatów i liści. W przypadku kuklika pospolitego ustalono silniejsze hamowanie peroksydacji LA i wychwytywanie DPPH oraz więcej fenoli ogółem dla wyciągów z organów podziemnych niż z ziela. W każdym z zastosowanych testów również izolaty z kwiatów wiąźówki bulwkowej cechowały się silniejszą aktywnością przeciwutleniająca niż z ziela i organów podziemnych. Różnice między ekstraktami z ziela i organów podziemnych tej rośliny były mniejsze i w teście z LA oraz odczynnikiem Folin-Ciocalteu wskazywały na większy potencjał izolatów otrzymanych z organów podziemnych, a w teście z DPPH – z ziela.

Biorąc pod wagę wyniki uzyskane przy wszystkich trzech metodach określania aktywności przeciwutleniającej i uznanie ich jako wskaźnika szeroko pojętej aktywności biologicznej wydaje się, że najbardziej obiecującymi surowcami pod względem tej aktywności są nadziemne i podziemne organy kuklika pospolitego.

4. Literatura

- Chen J.H., Ho C.T. 1997: Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 41, 2374-2378.
- Leja M., Mareczek A., Starzyńska A., Rożek S. 2001: Antioxidant ability of broccoli flower buds during short-term storage. *Food Chem.*, 72, 219-222.
- Matsuura H., Chiji H., Asakawa C., Amano M., Yoshihara T., Mizutani J. 2003: DPPH radical scavengers from dried leaves of oregano (*Origanum vulgare*). *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 67(11), 2311-2316.
- Prior R.L., Wu X., Schaich K. 2005: Standardized methods for determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.* 53(10): 4290-4302.
- Singh R.P., Chidambara Murthy K.N., Jayaprakasha G.K. 2002: Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 81-86.
- Toivonen P.M.A., Sweeney M. 1998: Differences in chlorophyll loss at 13°C for two broccoli (*Brassica oleracea* L.) cultivars associated with antioxidant enzyme activities. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 20-24.
- Wang M., Li J., Rangarajan M., Shao Y., LaVoie E.J., Huang T.-C., Ho C.-T. 1998: Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *J. Agric. Food Chem.*, 46, 4869-4873.
- Zheng W., Wang S.Y. 2001: Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 5165-5170.