

WPŁYW JONÓW Al^{3+} NA AKTYWNOŚĆ ANTYRODNIKOWĄ EKSTRAKTÓW Z WYBRANYCH ROŚLIN PRZYPRAWOWYCH W UKŁADACH MODELOWYCH

Mariola Samsonowicz  , Monika Kalinowska 



PB, Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska

Streszczenie. Rośliny przyprawowe są naturalnym źródłem antyoksydantów. Jednym z diskutowanych czynników wpływających na aktywność antyoksydacyjną ekstraktów i związków fenolowych jest obecność jonów metali. Celem pracy było określenie wpływu jonów glinu na aktywność antyrodnikową (*AA*) wodnych i wodno-alkoholowych ekstraktów z cząbrku, bazylii, oregano i tymianku w zależności od stężenia zarówno jonów glinu, jak i ekstraktów. Właściwości antyrodnikowe ekstraktów określono z wykorzystaniem stabilnego rodnika DPPH[•]. Wykazano, że jony Al^{3+} obecne w ekstraktach w niższych stężeniach powodowały spadek, a w wyższych wzrost aktywności antyrodnikowej ekstraktów (za wyjątkiem wodno-etanolowego ekstraktu z bazylii). Przeprowadzona analiza skupień pozwoliła na podzielenie wszystkich analizowanych ekstraktów na trzy grupy ze względu na zmiany EC_{50} pod wpływem zastosowanych jonów metalu.

Słowa kluczowe: DPPH[•], rośliny przyprawowe, aktywność antyrodnikowa, jony glinu

WSTĘP

Roślinne związki fenolowe mogą być pozyskiwane w postaci ekstraktów, lub też izolowane z materiału roślinnego jako grupa lub pojedyncze substancje. To bardzo ważny i aktualny nurt badań ze względu na silne właściwości antyoksydacyjne związków fenolowych, który czyni je ważnym czynnikiem w prewencji chorób związanych ze stresem oksydacyjnym, starzeniem się organizmu oraz w prewencji procesów tworzenia nowotworów [Samsonowicz i Regulska 2017, Samsonowicz i in. 2017].

Mariola Samsonowicz  <https://orcid.org/0000-0003-4981-0779>; Monika Kalinowska  <https://orcid.org/0000-0002-0839-9891>

 m.samsonowicz@pb.edu.pl

© Copyright by Wydawnictwo SGGW

Żywność bogata w związki fenolowe jest nazywana często żywnością funkcjonalną, ponieważ oprócz podstawowego zadania, jakim jest odżywanie, naturalnie wzmacnia układ odpornościowy organizmu [Samsonowicz i Regulska 2018]. Ziola, np. oregano czy tymianek, są niezwykle bogate w związki fenolowe, dlatego też pozyskiwane z nich ekstrakty i olejki eteryczne wykazują silne właściwości antyoksydacyjne i przeciwdrobnoustrojowe [Ashraf 2011, Hać-Szymańczuk i in. 2015, Waller i in. 2018]. W tabeli 1 przedstawiono informacje dotyczące podstawowego składu jakościowego i ilościowego związków fenolowych wybranych ekstraktów roślin przyprawowych z uwzględnieniem typu rozpuszczalnika stosowanego do ekstrakcji. Ekstrakty te bogate są w pochodne kwasów benzoowego i cynamonowego (w tym galusowy, kumarowy, ferulowy, kawowy, chlorogenowy, rozmarynowy) oraz w bardziej złożone strukturalnie flawonoidy. Ponadto ekstrakty wodne są równie cennym źródłem związków fenolowych co ekstrakty alkoholowe.

Jednym z diskutowanych czynników wpływających na aktywność antyoksydacyjną ekstraktów i związków fenolowych jest obecność jonów metali. Badania wykazały brak jednoznacznej zależności między rodzajem związku fenolowego i jonu metalu a wzrostem lub spadkiem aktywności antyoksydacyjnej ligandu. Dla przykładu chlorogeniany litowców wykazywały większą aktywność mierzoną w testach z rodnikiem DPPH^{*} niż sam kwas chlorogenowy [Kalinowska i in. 2018]. Kompleksy kwercetyny z Mn(II), Co(II), Ni(II), Cd(II) [Zhou i in. 2001] wykazywały większe właściwości antyoksydacyjne, zaś z Cd(II) [Ravichandran i in. 2014] czy Sn(II) [Dehghan i Kho-shkam 2012] mniejsze niż kwercetyna. Zmiana aktywności antyoksydacyjnej ligandu pod wpływem kompleksowania jest najczęściej tłumaczona wpływem metalu na potencjał redoks ligandu, tym samym też na jego zdolności do zmiatania wolnych rodników [Samsonowicz i Regulska 2017]. Ponadto tworzenie trwałych połączeń metal–ligand, w których kationy wodoru grup hydroksylowych zastąpione są kationem metalu, zmniejsza możliwość udziału kompleksu w reakcjach związanych z przeniesieniem atomu wodoru na cząsteczkę rodnika.

Stosunkowo mniej jest informacji dotyczących wpływu glinu, w porównaniu do innych metali, na właściwości antyoksydacyjne związków fenolowych oraz ekstraktów roślinnych. Występowanie glinu w ekstraktach roślinnych może być skutkiem ich uprawy na glebach o odczynie kwasowym. Obecność tego pierwiastka w glebach kwaśnych jest niekorzystna, ponieważ powoduje zaburzenie pobierania niezbędnych do życia pierwiastków oraz osłabia rozwój systemu korzeniowego, co skutkuje zmniejszeniem plonów. Jak wykazały badania, szcaw zwyczajny „broni się” przed stresem wywołanym wysokim stężeniem glinu w glebie, zwiększając akumulację związków fenolowych (np. kwasu chlorogenowego, rutyny) w korzeniach, które wiążą jony Al³⁺ i zmniejszają dzięki temu jego toksyczność [Tolrà i in. 2005]. Badając skład oraz właściwości antyoksydacyjne ekstraktów roślinnych, należy uwzględnić m.in. rodzaj gleby oraz inne czynniki stresowe, które mogą zwiększać zawartość związków fenolowych w ekstraktach lub wpływać na rodzaj połączeń, w jakich związki fenolowe mogą w nich występować, np. w postaci kompleksów z metalami [Manquian-Cerda i in. 2018].

Celem pracy była ocena wpływu dodatku jonów glinu (w postaci AlCl₃) na aktywność antyrodnikową (AA) wodnych oraz wodno-alkoholowych (metanolowych i etanolowych) ekstraktów tymianku, bazylii, oregano i cząbrzu z zastosowaniem stabilnego rodnika DPPH^{*}.

Tabela 1. Podstawowe związki fenolowe występujące w ekstraktach roślin przyprawowych

Table 1. Basic phenolic compounds present in the extracts of spice plants

Związek Compound	Stężenie [$mg \cdot 100 g^{-1}$ s.s.] – Concentration [$mg \cdot 100 g^{-1}$ d.m.]										
	ekstrakt wodny aqueous extract			ekstrakt etanolowy ethanolic extract			ekstrakt metanolowy methanolic extract				
	OR ^a	TY ^b	BA ^c	OR ^a	CZ ^d	TY ^b	BA ^c	OR ^e	CZ ^{*f}	TY ^e	BA ^e
Kwasy fenolowe – Phenolic acids											
Galusowy Gallic	–	515,0	–	–	–	180,1	–	152	–	–	–
Rozmarynowy Rosmarinic	–	–	156,2	–	30,2	–	179–207	206,7	24,9	655	82
Kawowy Caffeic	1,1	13,1	23,4	1,8	0,6	8,1	4,0–6,5	5,3	1,3	9,0	4,1
p-kumarowy p-Coumaric	0,5	15,1	129,7	0,5	1,5	16,5	12,7–18,2	–	2,4	–	–
Ferulowy Ferulic	0,02	23,2	75,4	0,1	0,2	23,2	–	–	–	1,8	–
Chlorogenowy Chlorogenic	0,6	–	67,6	0,6	3,6	–	13,6–22,0	23	0,02	12,5	–
Hydroksybenzoesowy Hydroxybenzoic	13,5	2,0	–	16,1	1,3	1,9	–	–	–	–	–
Flawonoidy – Flavonoids											
Kwercetyna Quercetin	0,04	12,1	–	0,1	15,5	11,1	–	–	0,02	14,6	–
Rutyna Rutin	0,4	–	–	0,4	3,4	–	–	–	–	–	–
Luteolina Luteolin	–	–	–	0,3	4,1	–	–	–	0,06	–	–
Apigenina Apigenin	–	–	–	–	5,3	–	–	–	0,2	–	–

OR – oregano; CZ – cząber – savory; TY – tymianek – thyme; BA – bazylija – basil.

*wysuszonego ekstraktu – dried extract.

^a[Waller i in. 2018]; ^b[Köksal i in. 2017]; ^c[Chulova i in. 2016]; ^d[Mašković i in. 2017]; ^e[Oliveira i in. 2018]; ^f[Boroja i in. 2018].

MATERIAŁ I METODY

Materiałem do badań były wodne oraz etanolowe i metanolowe ekstrakty otrzymane z wysuszonego ziela tymianku (*Thymus vulgaris*), oregano (*Origanum vulgare*), cząbrku (*Satureja hortensis*) i bazylii (*Ocimum basilicum*) firmy Dary Natury, dostępne na rynku i opatrzone certyfikatem produkcji ekologicznej.

Suszone rośliny przyprawowe o masie 1 g poddawano 6 h ekstrakcji w temperaturze 60°C, stosując 10 cm³ rozpuszczalnika, tj. wody dejonizowanej albo roztworu wodnego etanolu i metanolu o stężeniu 70%. Otrzymane ekstrakty przesączono. Następnie na

drodze rozcieńczeń przygotowywano próby o tej samej objętości i różnych stężeniach ekstraktów wyrażonych w mg suchego surowca na 1 cm³ ekstraktu (mg s.s.·cm⁻³). Do każdej próbki dodawano roztwory zawierające jony glinu (w postaci chlorku), tak aby ich stężenie w ekstrakcie wynosiło: 0,025, 0,050 oraz 0,125 mol·dm⁻³. W badanych próbach oznaczano aktywność antyrodnikową (AA) wykorzystując metodę Branda-Williamsa [Brand-Williams i in. 1995] z użyciem rodnika DPPH^{*} według procedury opisanej w pracy Samsonowicz i Regulskiej [2016] i obliczano na podstawie wzoru:

$$AA[\%] = \frac{A_k - A_e}{A_k} \cdot 100\%$$

gdzie:

A_k – absorbanca próby kontrolnej,

A_e – absorbanca ekstraktu.

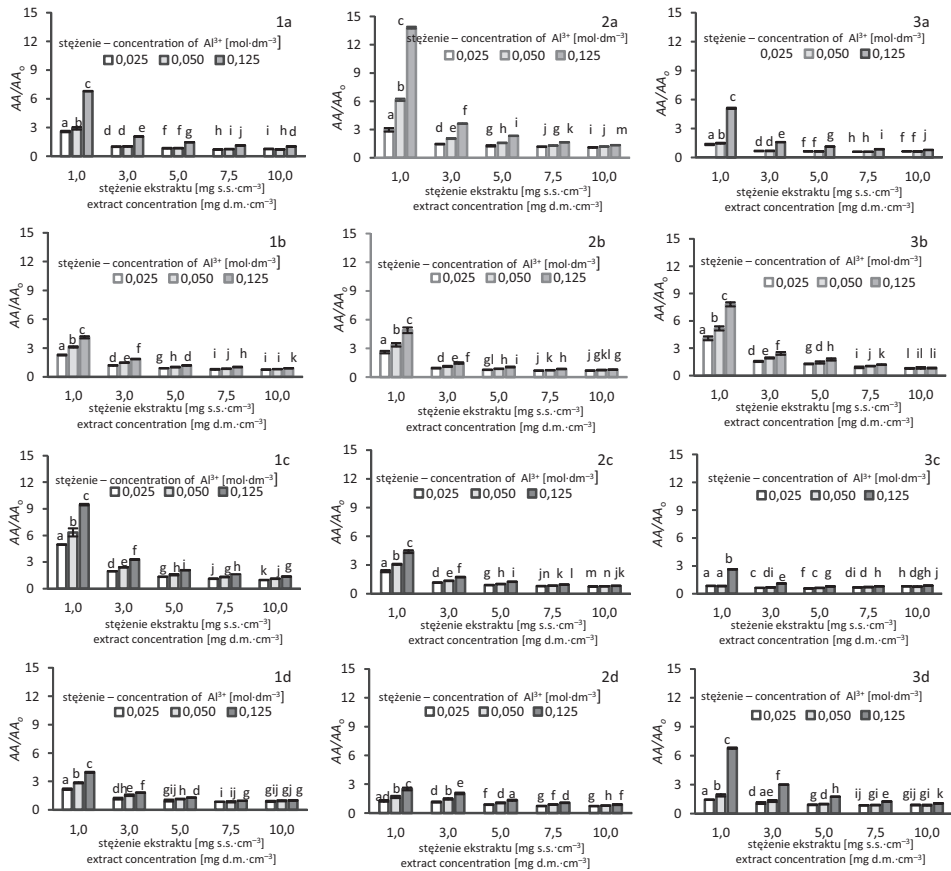
Wszystkie oznaczenia wykonano na spektrofotometrze DR 5000 HACH-LANGE. Przedstawione wyniki stanowią średnią arytmetyczną z trzech powtórzeń testów prowadzonych w trzech równoległych seriach.

W badaniach wykorzystano następujące odczynniki: DPPH^{*} i etanol (Sigma Aldrich); metanol (Merck); woda dejonizowana z systemu Milli-Q (Millipore, USA); AlCl₃ (Chempur).

Analizę statystyczną przeprowadzono z użyciem programu Statistica 13. Przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji, a istotność różnic zbadano testem Tukeya. Wnioskowanie statystyczne prowadzono na poziomie istotności $p = 0,05$. Analizę skupień dla średnich arytmetycznych EC_{50} wykonano w programie Statistica 13, stosując metodę Warda, jako miary odległości między obiektami przyjęto odległość euklidesową.

WYNIKI I DYSKUSJA

Wszystkie analizowane ekstrakty wodne, etanolowe i metanolowe bazylii, cząbrzu, tymianku i oregano wykazywały aktywność antyrodnikową (AA) w reakcji z DPPH^{*} zależną od ich stężenia. Wynika to prawdopodobnie z obecności w ekstraktach kwasów fenolowych, np. rozmarynowego czy kawowego (tab. 1). Najsilniejsze właściwości antyrodnikowe wykazywały ekstrakty (o stężeniu 10 mg s.s.·cm⁻³) metanolowe oregano ($AA = 91,5 \pm 0,4\%$) i bazylii ($AA = 86,9 \pm 2,4\%$), zaś najslabsze etanolowe bazylii ($AA = 45,2 \pm 1,6\%$) i cząbrzu ($AA = 45,2 \pm 3,0\%$) oraz wodny ekstrakt oregano ($AA = 30,8 \pm 1,1\%$). Na rysunku 1 przedstawiono względną aktywność antyrodnikową (AA/AA_0) analizowanych ekstraktów po dodaniu jonów Al³⁺. Dodatek jonów glinu powodował zróżnicowane zmiany w aktywności antyrodnikowej ekstraktów, zależne przede wszystkim od stężenia ekstraktu i dodanych jonów glinu. Przy najwyższym badanym stężeniu jonów Al³⁺ wykazano 2–3-krotny wzrost AA ekstraktów, niezależnie od rodzaju ekstraktu czy rozpuszczalnika. Przy mniejszym dodatku jonów Al³⁺ również wykazano silniejsze działanie antyrodnikowe ekstraktów, jednak wzrost był tym mniejszy, im niższe było stężenie jonów w ekstrakcie.



a–n – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p < 0,05$ – mean values denoted with different letters differ statistically significantly at $p < 0.05$.

AA – wartości średnie aktywności antyrodnikowej ekstraktów po dodaniu Al^{3+} – mean values of antiradical activity of extracts after addition of Al^{3+} ; AA_0 – wartości średnie aktywności antyrodnikowej ekstraktów wyjściowych – mean values of antiradical activity of initial extracts.

Rys. 1. Względna aktywność antyrodnikowa (AA/AA_0) ekstraktów: bazylii (a), cząbrzu (b), oregano (c) i tymianku (d) wodnych (1), etanowych (2) i metanowych (3) z dodatkiem jonów Al^{3+} w zależności od stężenia ekstraktu oraz stężenia dodanych jonów: 0,025, 0,050 i 0,125 mol-dm⁻³

Fig. 1. Relative antiradical activity (AA/AA_0) of aqueous (1), ethanolic (2) and methanolic (3) extracts of: basil (a), savory (b), oregano (c) and thyme (d) with the addition of Al^{3+} depending on the extract concentration and the added ions concentration: 0.025, 0.050 and 0.125 mol-dm⁻³

Przy mniejszych stężeniach jonów Al^{3+} dla większości ekstraktów odnotowano spadek AA. Największy spadek aktywności antyutleniającej o około 30–40% odnotowano w przypadku ekstraktów metanowych z bazylii i tymianku z dodatkiem jonów glinu o stężeniu 0,025 i 0,05 mol-dm⁻³. Wyjątek stanowił etanolewy ekstrakt bazylii, dla którego,

niezależnie od stężenia jonów Al^{3+} w ekstrakcie, zaobserwowano wzrost właściwości antyrodnikowych.

W dostępnej literaturze znaleziono nieliczne dane dotyczące wpływu jonów metali na właściwości antyoksydacyjne ekstraktów roślinnych. Samsonowicz i Regulska [2016] badały wpływ różnych jonów metali na reakcję składników ekstraktów cząbrzu z rodnikiem DPPH[•] i stwierdziły, że jony Zn^{2+} powodują wzrost AA tych ekstraktów niezależnie od stężenia dodanych jonów i rodzaju rozpuszczalnika użytego do ekstrakcji. Zespół Prashantha wykazał, że dodatek jonów Zn^{2+} do metanolowych i chloroformowych ekstraktów *Argyrea elliptica* nie wpływa znacząco na ich aktywność antyrodnikową, zaś jony Fe(III) powodują wzrost tej aktywności [Prashanth i in. 2013]. W przypadku metanolowych ekstraktów nasion kminku koptyjskiego dodatek jonów Zn^{2+} powodował spadek aktywności antyoksydacyjnej [Prashanth i in. 2012].

O wpływie jonów Al^{3+} na aktywność antyoksydacyjną ekstraktów mogą decydować ich składniki. Badania z zastosowaniem rodnika DPPH[•] wykazały, że obecność glinu wpływa na obniżenie aktywności antyoksydacyjnej (+)-katechiny i kwercetyny, w małym stopniu wpływa zaś na obniżenie aktywności kemferolu. Niektórzy sugerują, że może to być spowodowane obecnością ugrupowania katecholowego w strukturze dwóch pierwszych związków (kemferol takiego nie posiada), które to uczestniczy w wiązaniu jonów glinu [Waki i in. 2013]. Obecność wolnych jonów Al^{3+} wpływa również na sam przebieg reakcji z DPPH[•]. Jony Al^{3+} , choć w mniejszym stopniu niż np. jony Ca^{2+} , K^+ , Zn^{2+} , zmniejszają szybkość reakcji BHT (butylowany hydroksytoluen) z DPPH[•] [Dawidowicz i Olszowy 2012]. Wyniki innych badań dowodzą, że obecność jonów Al^{3+} zwiększa szybkość reakcji między metylowanymi hydrochinonami a DPPH[•] [Nakanishi i in. 2016]. Autorzy tłumaczą to stabilizacją anionu DPPH[•] przez kation Al^{3+} powstałego w wyniku przeniesienia elektronu z hydrochinonu na rodnik DPPH[•].

Dla każdego ekstraktu, zarówno przed dodaniem, jak i po dodaniu jonów Al^{3+} , obliczono parametr EC_{50} określający stężenie przeciwutleniacza powodujące spadek początkowego stężenia rodnika DPPH[•] o 50%. Jak pokazano w tabeli 2 wartości EC_{50} ekstraktów miały tylko w przypadku obecności soli glinu o stężeniu $0,125 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (wyjątkiem był wodny ekstrakt oregano oraz etanolowy i metanolowy ekstrakt cząbrzu), niższe stężenia Al^{3+} powodowały wzrost wartości EC_{50} , a więc spadek właściwości antyoksydacyjnych ekstraktu.

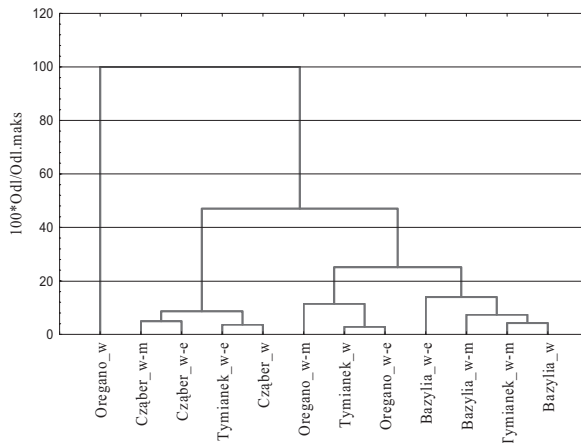
W celu ustalenia podobieństwa między parametrem charakteryzującym aktywność antyrodnikową EC_{50} a typem ekstraktu (uwzględniając rodzaj rośliny, typ rozpuszczalnika oraz wpływ dodatku metalu) sporządzono dendrogram przedstawiony na rysunku 2. Wyniki uzyskane dla wodnego ekstraktu oregano znacznie odbiegały od pozostałych. Mała aktywność antyoksydacyjna ekstraktu ($EC_{50} = 16,11 \pm 0,37 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-3}$) uległa zmniejszeniu o ponad 7 jednostek ($EC_{50} = 23,45 \pm 0,22 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-3}$) po zastosowaniu jonów Al^{3+} o stężeniu $0,025 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, zaś przy wyższych stężeniach wartość ta malała o około 3 i 5 jednostek (dla stężenia $0,05$ i $0,125 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ wartość EC_{50} wynosiła odpowiednio $20,54 \pm 0,86$ i $18,09 \pm 0,24 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-3}$). W przypadku pozostałych ekstraktów zmiany EC_{50} przebiegały w inny charakterystyczny sposób i zostały podzielone na trzy grupy wykazujące wzajemne podobieństwo: wszystkie ekstrakty cząbrzu i etanolowy ekstrakt tymianku; metanolowy i etanolowy ekstrakt oregano oraz wodny ekstrakt tymianku; ekstrakty bazylii i metanolowy ekstrakt tymianku.

Tabela 2. Średnie wartości i odchylenie standardowe EC_{50} ekstraktów z różną zawartością jonów Al^{3+}

Table 2. Mean values and standard deviation of EC_{50} of extracts with different content of Al^{3+} ions

Rodzaj ekstraktu Extract type	Roślina przyprawowa Spice plants	EC_{50} [$mg \cdot cm^{-3}$]			
		stężenie Al^{3+} – concentration of Al^{3+} [$mol \cdot dm^{-3}$]			
		0,000	0,025	0,050	0,125
Wodny Aqueous	bazylia – basil	7,06 ± 0,81 ^{aA}	9,96 ± 1,15 ^{bA}	10,28 ± 0,82 ^{bA}	2,96 ± 0,50 ^{cA}
	cząber – savory	7,65 ± 0,26 ^{aB}	10,47 ± 0,96 ^{bB}	9,70 ± 0,87 ^{bB}	7,59 ± 0,88 ^{aB}
	oregano	16,11 ± 0,37 ^{aC}	23,45 ± 0,22 ^{bC}	20,54 ± 0,86 ^{cC}	18,09 ± 0,24 ^{dC}
	tymianek – thyme	6,86 ± 1,05 ^{aA}	7,57 ± 2,39 ^{aD}	6,73 ± 2,22 ^{aA}	5,29 ± 1,07 ^{bD}
Etanolowy Ethanollic	bazylia – basil	10,92 ± 0,78 ^{aD}	9,91 ± 1,01 ^{bA}	9,06 ± 0,69 ^{cAB}	4,52 ± 0,42 ^{dE}
	cząber – savory	7,06 ± 1,16 ^{aA}	11,60 ± 0,94 ^{bE}	10,59 ± 1,60 ^{bB}	9,11 ± 0,87 ^{aF}
	oregano	6,30 ± 1,61 ^{aA}	8,09 ± 0,62 ^{bED}	7,35 ± 0,77 ^{cABC}	4,75 ± 0,91 ^{dE}
	tymianek – thyme	7,76 ± 1,08 ^{aB}	11,71 ± 1,04 ^{bE}	10,22 ± 1,33 ^{cAB}	6,97 ± 0,95 ^{dG}
Metanolowy Methanolic	bazylia – basil	5,38 ± 1,49 ^{aE}	9,18 ± 0,88 ^{bF}	9,32 ± 0,86 ^{bD}	2,93 ± 0,56 ^{cA}
	cząber – savory	8,86 ± 0,60 ^{aF}	11,39 ± 1,70 ^{bABE}	9,96 ± 2,52 ^{bEF}	9,83 ± 1,85 ^{cFG}
	oregano	3,87 ± 1,65 ^{aG}	6,32 ± 0,63 ^{bG}	6,19 ± 2,08 ^{bEF}	3,36 ± 0,65 ^{cH}
	tymianek – thyme	8,49 ± 0,35 ^{aF}	9,61 ± 1,06 ^{bA}	9,75 ± 1,56 ^{bF}	3,38 ± 0,50 ^{cH}

a–d – wartości średnie w rzędach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p < 0,05$ – mean values in rows denoted with different letters differ statistically significantly at $p < 0,05$; A–H – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy $p < 0,05$ – mean values in columns denoted with different letters differ statistically significantly at $p < 0,05$.



Rys. 2. Dendrogram wykazujący podobieństwo między ekstraktami wodnymi (w), etanolowymi (e) i metanolowymi (m) z różnych roślin przyprawowych na podstawie parametru EC_{50} przedstawionego w tabeli 2

Fig. 2. Dendrogram showing similarity between water (w), ethanol (e) and methanol (m) extracts from various spice plants based on the EC_{50} parameter presented in Table 2

WNIOSKI

1. Dodatek jonów glinu do ekstraktów powoduje zróżnicowane zmiany w ich aktywności antyutleniającej, zależne od rodzaju ekstraktu i rozpuszczalnika użytego do ekstrakcji, stężenia zarówno ekstraktu, jak i dodanych jonów metalu.

2. Im wyższe stężenie jonów Al^{3+} , tym większa aktywność antyrodnikowa większości analizowanych ekstraktów.

3. Jony Al^{3+} o stężeniu 0,025 oraz 0,05 mol·dm⁻³ powodują wzrost EC_{50} badanych ekstraktów, zaś o stężeniu 0,125 mol·dm⁻³ spadek wartości EC_{50} .

4. Przeprowadzona analiza skupień pozwala dokonać podziału wszystkich analizowanych ekstraktów na trzy grupy ze względu na zmiany wartości EC_{50} zachodzące pod wpływem dodanych jonów metalu.

Adnotacja

Badania zostały zrealizowane w ramach pracy S/WBiIŚ/3/2017 i sfinansowane ze środków na naukę Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

LITERATURA

- Ashraf Z., Muhammad A., Imran M., Tareq A., 2011. In vitro antibacterial and antifungal activity of methanol, chloroform and aqueous extracts of *Origanum vulgare* and their comparative analysis. *Int. J. Org. Chem.* 1, 257–261.
- Boroja T., Katanić J., Rosić G., Selaković D., Joksimović J., Mišić D., Stanković V., Jovičić N., Mihailović V., 2018. Summer savory (*Satureja hortensis* L.) extract: Phytochemical profile and modulation of cisplatin-induced liver, renal and testicular toxicity. *Food Chem. Toxicol.* 118, 252–263.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* 28, 25–30.
- Chulova M.N., Vrancheva R.Z., Stoyanova M.A., Pavlov A.I., 2016. Antioxidant Activity and Phenolic Profile of Extracts of Basil. *Scientific works of university of food technologies.* 63, 178–186.
- Dawidowicz A.L., Olszowy M., 2012. Mechanism change in estimating of antioxidant activity of phenolic compounds. *Talanta* 97, 312–317.
- Dehghan G., Khoshkam Z., 2012. Tin(II)–quercetin complex: Synthesis, spectral characterisation and antioxidant activity. *Food Chem.* 131, 101–104.
- Hać-Szymańczuk E., Cegińska A., Lipińska E., Czapska S., 2015. Analiza składu chemicznego i aktywności przeciwdrobnoustrojowej ekstraktów wodnych z wybranych roślin przyprawowych. *ZPPNR* 582, 3–11.
- Kalinowska M., Bajko E., Matejczyk M., Kaczyński P., Łozowicka B., 2018. The study of anti-/pro-oxidant, lipophilic, microbial and spectroscopic properties of new alkali metal salts of 5-O-caffeoylquinic acid. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 1–20.
- Köksal E., Bursal E., Gülçin Ý., Korkmaz M., Çadlayan C., Gören A.C., Alwasel S.H., 2017. Antioxidant activity and polyphenol content of Turkish thyme (*Thymus vulgaris*) monitored by LCMS/MS. *Int. J. Food Prop.* 20 (3), 514–525.

- Manquían-Cerda K., Cruces E., Escudaya M., Zúñiga G., Calderón R., 2018. Interactive effects of aluminum and cadmium on phenolic compounds, antioxidant enzyme activity and oxidative stress in blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) plantlets cultivated in vitro. *Ecotox. Environ. Safe.* 150, 320–326.
- Mašković P., Veličković V., Mitić M., Durović S., Zeković Z., Radojković M., Cvetanović A., Švarc-Gajić J., Vujić J., 2017. Summer savory extracts prepared by novel extraction methods resulted in enhanced biological activity. *Ind. Crop. Prod.* 109, 875–881.
- Nakanishi I., Ohkubo K., Ogawa Y., Matsumoto K., Ozawa T., Fukuzumi S., 2016. Aluminium ion-promoted radical-scavenging reaction of methylated hydroquinone derivatives. *Org. Biomol. Chem.* 14, 7956–7961.
- Oliveira A.S., Ribeiro-Santos R., Ramos F., Conceição Castilho M., Sanches-Silva A., 2018. UHPLC-DAD multi-method for determination of phenolics in aromatic plants. *Food Anal. Methods* 11, 440–450.
- Prashanth M.K., Revanasiddappa H.D., Rai K.M., Raveesha K.A., Jayalakshmi B., 2013. Antibacterial, anthelmintic and antioxidant activity of *Argyrea elliptica* extracts: Activity enhancement by the addition of metal salts. *Int. J. Appl. Res. Nat. Prod.* 6, 1–10.
- Prashanth M.K., Revanasiddappa H.D., Rai K.M.L., Raveesha K.A., Jayalakshmi B., 2012. Antioxidant and antibacterial activity of ajwain seed extract against antibiotic resistant bacteria and activity enhancement by the addition of metal salts. *J. Pharm. Res.* 5 (4), 1952–1956.
- Ravichandran R., Rajendran M., Devapiriam D., 2014. Antioxidant study of quercetin and their metal complex and determination of stability constant by spectrophotometry method. *Food Chem.* 146, 472–478.
- Samsonowicz M., Regulska E., 2016. Evaluation of influence of selected metal cations on antioxidant activity of extracts from savory (*Satureja hortensis*). *Chem. Pap.* 70, 811–819.
- Samsonowicz M., Regulska E., 2017. Spectroscopic study of molecular structure, antioxidant activity and biological effects of metal hydroxyflavonol complexes. *Spectrochim. Acta A* 173, 757–771.
- Samsonowicz M., Regulska E., 2018. Porównanie składu i właściwości antyoksydacyjnych ekstraktów siewek jęczmienia i pszenicy. *ZPPNR* 593, 63–72.
- Samsonowicz M., Regulska E., Kalinowska M., 2017. Hydroxyflavone metal complexes-molecular structure, antioxidant activity and biological effects. *Chem. Biol. Interact.* 273, 245–256.
- Tolrà R.P., Poschenrieder Ch., Luppi B., Barceló J., 2005. Aluminium-induced changes in the profiles of both organic acids and phenolic substances underlie Al tolerance in *Rumex acetosa* L. *Environ. Exp. Bot.* 54, 231–238.
- Waki T., Kobayashi S., Matsumoto K., Ozawa T., Kamada T., Nakanishi I., 2013. Effects of ionic radius of redox-inactive bio-related metal ions on the radical-scavenging activity of flavonoids evaluated using photometric titration. *Chem. Commun.* 49, 9842–9844.
- Waller S.B., Hoffmann J.F., Madrid I.M., Picoli T., Cleff M.B., Chaves F.C., Zanette R.A., Mello J.R.B., Faria R.O., Meireles M.C.A., 2018. Polar *Origanum vulgare* (*Lamiaceae*) extracts with antifungal potential against *Sporothrix*. *Med. Mycol.* 56, 225–233.
- Zhou J., Wang L.F., Wang J.Y., Tang N., 2001. Antioxidative and antitumour activities of solid quercetin metal(II) complexes. *Transit. Metal Chem.* 26, 57–63.

EFFECT OF Al^{3+} IONS ON ANTIRADICAL ACTIVITY OF EXTRACTS FROM SELECTED SPICE PLANTS IN MODEL SYSTEMS

Summary. Spice plants are a natural source of antioxidants. One of the factors that influence the antioxidant activity of plant extracts is the presence of metal ions. The aim of the study was to investigate the influence of Al^{3+} ions on the antiradical activity of aqueous and aqua-alcoholic extracts from savory, basil, oregano and thyme depending on the ions Al^{3+} and extracts concentration. The antiradical properties of the extracts were determined using DPPH \cdot radicals. The strongest antiradical properties revealed the methanolic extracts from oregano ($EC_{50} = 3.87 \pm 1.65 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$), basil ($EC_{50} = 5.38 \pm 1.49 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$), the weakest were: oregano aqueous extract ($EC_{50} = 16.11 \pm 0.37 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$), ethanolic extracts from basil ($EC_{50} = 10.92 \pm 0.78 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$). The effect of metal ions on the antiradical activity (AA) of extracts strongly depends on the concentration of Al^{3+} ions and the concentration of extracts. The highest addition of Al^{3+} ions to the extract caused 2–3-fold increase in its AA regardless the type of plant or solvent. However, with a smaller addition of Al^{3+} ions, a strong antioxidant effect of the extracts was also demonstrated, however, the increase in the AA was not so evident and decrease with the decrease of the concentration of Al^{3+} ions in the extract. At the lowest concentrations of Al^{3+} ions, the decrease in the AA was noted for the majority of extracts. The highest decrease in antioxidant activity by 30–40% was recorded for methanol extracts from basil and thyme with the addition of aluminum ions at the concentration of 0.025 and 0.05 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. The exception was an ethanolic extract obtained from basil – for all tested concentration of Al^{3+} ions in this type of extract, an increase in the antiradical properties was observed. It is supposed that the effect of metal ions on the antiradical activity of plant extract depends on the phenolic compound content and the kinetics of reaction with DPPH \cdot radical. The common phenolics present in savory, basil, oregano and thyme extracts are caffeic, coumaric, ferulic, rosmarinic, chlorogenic acids, quercetin and others. Phenolics may form chelates with Al^{3+} ions through OH groups from the aromatic ring and therefore prevents the reaction with DPPH \cdot . On the other hand presence of unbounded Al^{3+} in plant extract may affects the kinetics of reaction through their direct interaction with DPPH \cdot radical. The analysis of clusters allowed to divide all analyzed extracts into three groups due to changes of the EC_{50} parameter caused by the addition of Al^{3+} ions, i.e. (a) extracts from savory, ethanolic extracts from thyme; (b) methanolic and ethanolic extracts from oregano, aqueous extract from thyme, as well as (c) extracts from basil, methanolic extract from thyme. The aqueous extract from oregano did not show similarity with these groups.

Key words: DPPH, spice plants, antiradical activity, aluminum ions