



UNIwersytet
Przyrodniczy
we Wrocławiu

KATEDRA CHEMII ŻYWNOŚCI I BIOKATALIZY

Załącznik 3

Autoreferat



Autoreferat

1. Imię i nazwisko

Jacek Jarosław Łyczko

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

Doktor w dziedzinie nauk rolniczych w dyscyplinie technologia żywności i żywienia (2021)

2017 - 2021 **Studia doktoranckie:** dyscyplina technologia żywności i żywienia, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra Chemii
Tytuł pracy doktorskiej (obrona w języku angielskim): The influence of drying on qualitative and quantitative chemical composition of selected medicinal and aromatic plants (Wpływ suszenia na jakościowy i ilościowy skład chemiczny wybranych roślin farmakopealnych i przyprawowych)
Promotor pracy: prof. dr hab. inż. Antoni Szumny
Recenzenci: Nicolas Baldovini (Institut de Chimie de Nice, Faculté des Sciences, Université Côte d'Azur); Fatih Demirci (Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Anadolu University)

Magister biotechnologii (2017)

2016 - 2017 **Studia magisterskie:** kierunek biotechnologia, specjalizacja biotechnologia żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
Tytuł pracy magisterskiej: Woda geotermalna jako składnik piwa specjalnego
Promotor pracy: dr hab. inż. Józef Błażewicz, prof. nadzw.

Inżynier biotechnologii (2016)

2012 - 2016 **Studia inżynierskie:** kierunek biotechnologia, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Nauk o Żywności
Tytuł pracy inżynierskiej: Projekt produkcji piw z substytucją słodu surowcami niesłodowanymi
Promotor pracy: dr hab. inż. Józef Błażewicz, prof. nadzw.



3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

01.06.2022 – obecnie	Adiunkt – Katedra Chemii Żywności i Biokatalizy, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
21.09.2021 – 31.05.2022	Asystent ze stopniem doktora – Katedra Chemii (przemianowana na Katedra Chemii Żywności i Biokatalizy), Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu
03.09.2021 – 20.09.2021	Asystent – Katedra Chemii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkoln. wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.)

Osiągnięcie udokumentowane cyklem publikacji

4.1. Tytuł osiągnięcia

*Związki lotne produktów spożywczych – analiza składu,
badanie właściwości i potencjalne zastosowania*

4.2. Cykl publikacji stanowiący osiągnięcie (Załącznik 5)

P.1. Pachura, N., Zimmer, A., Grzywna, K., Figiel, A., Szumny, A., & Łyczko, J.* (2022). Chemical investigation on *Salvia officinalis* L. affected by multiple drying techniques - the comprehensive analytical approach (HS-SPME, GC-MS, LC-MS/MS, GC-O and NMR). Food Chemistry, 397. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133802>

IF₂₀₂₂ = 8.8, MEiN₂₀₂₂ = 200, cytowania: 9 (autocytowań: 1)

P.2. Łyczko, J.*, Kiełtyka-Dadasiewicz, A., Skrzyński, M., Klisiewicz, K., & Szumny, A. (2023). Chemistry behind Quality - The usability of herbs and spices essential oils analysis in light of sensory studies. Food Chemistry, 411. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135537>

IF₂₀₂₃ = 8.8, MEiN₂₀₂₃ = 200, cytowania: 3 (autocytowań: 1)

P.3. Łyczko, J.*, Kiełtyka-Dadasiewicz, A., Issa-Issa, H., Skrzyński, M., Galek, R., Carbonell-Barrachina, Á. A., & Szumny, A. (2023). Chemistry behind Quality - Emission of volatile enantiomers from *Mentha* spp. plant tissue in relationship to odor sensory quality. Foods, 12(10). <https://doi.org/10.3390/foods12102057>

IF₂₀₂₃ = 5.2, MEiN₂₀₂₃ = 140, cytowania: 0



P.4. Łyczko, J.*, Pawlak, A., Augustyński, I., Okińczyc, P., Szperlik, J., Kulma, A., Różański, H., Obmińska-Mrukowicz, B., & Szumny, A. (2020). Chemical profiling and cytotoxic activity of 150-year old original sample of Jerusalem Balsam. *Food and Chemical Toxicology*, 138, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111183>

IF₂₀₂₀ = 6.023, MNiSW₂₀₂₀ = 100, cytowania: 10 (autocytowań: 1)

P.5. Łyczko, J.*, Godyła-Jabłoński, M., Pachura, N., Adamenko, K., Klemens, M., & Szumny, A. (2023). Natural Appetite Control: Consumer perception of food-based appetite regulating aromas. *Nutrients*, 15(13), 2996. <https://doi.org/10.3390/nu15132996>

IF₂₀₂₃ = 5.9, MEiN₂₀₂₃ = 140, cytowania: 0

Cykl składa się z 5 pozycji, które ukazały się na przestrzeni lat 2020-2023. Jego realizacja rozpoczęła się równoległe do realizacji badań do pracy doktorskiej. Już na tym etapie kariery naukowej miałem poczucie, że związki lotne produktów spożywczych mogą mieć głębsze znaczenie niż tylko stanowienie ogólnego wyznacznika jakości. Realizując badania w ramach niniejszego cyklu zgłębiłem możliwość selektywnego wykorzystania poszczególnych cech związków lotnych produktów spożywczych, co przekonało mnie do tezy, że analiza i praktyczne wykorzystanie tych związków wymaga niezwykle zindywidualizowanego podejścia do obiektu badań, a także do precyzyjnego określenia wyników tych badań.

W przedstawionym do oceny cyklu zbadany został szeroki wachlarz produktów spożywczych – począwszy od ziół, przez ekstrakty roślinne, aż po złożone potrawy i dania. Zebrane badania wykazały, że związki lotne oprócz funkcji kreowania zapachu mają inne liczne właściwości, które można wykorzystać w sposób celowany. Ponadto, nie zapominając o owej funkcji budowania zapachu, zgłębiłem reguły (w wybranym zakresie) kreowania zapachu i ostatecznie rozważyłem możliwość jego użytkowego wykorzystania.

Przedstawiony przeze mnie cykl jest głębokim studium wybranych związków lotnych produktów spożywczych. Jego wielowątkowość, zarówno pod względem materiału jak i właściwości i wykorzystania związków lotnych stanowi niezbędny aspekt aby wykazać, że zbytne uogólnienie znaczenia lotnych związków produktów spożywczych prowadzi do uzyskania tylko częściowych danych oraz że budowane na ich podstawie wnioski mogą nie oddawać w pełni obrazu chemii aromatów.



We wszystkich wymienionych publikacjach pełniłem rolę jedyne go autora korespondencyjnego. Mój wkład w powstanie publikacji obejmował: koncepcję i plan badań; wykonanie analiz chemicznych oraz interpretację i opracowanie ich wyników; opracowanie wniosków, przygotowanie pierwotnych manuskryptów oraz korektę po recenzji. Publikacje P.2., P.3. oraz P.5. są wynikiem projektów badawczych finansowanych przez instytucje zewnętrzne, w których pełniłem rolę kierownika projektu., zaś publikacje P.1. oraz P.4. są efektem projektów badawczych finansowanych przez środki wewnętrzne UPWr. W Załączniku 6 przedstawiono oświadczenia o wkładzie Współautorów w powstanie publikacji (wszystkich Współautorów, których podpis był osiągalny).

Tabela 1. Dane bibliometryczne publikacji stanowiących cykl dokumentujący osiągnięcie

Kategoria	Wartość
Sumaryczny IF (punktacja właściwa dla roku opublikowania artykułu)	34,723
Sumaryczne punkty MEiN (punktacja właściwa dla roku opublikowania artykułu)	780
Cytowania (stan na 22.10.2023)	22 (w tym autocytywania 3)



4.3. Omówienie osiągnięcia

4.3.1. Wstęp

Związki lotne produktów spożywczych (ZLPS) są jednymi z najważniejszych metabolitów wtórnych roślin, w tym ziół i przypraw (ZiP). Ze względu na szereg różnych funkcji ZLPS są kluczowe dla przetrwania i rozmnażania roślin, ale są wykorzystywane także przez człowieka. Niektóre ZLPS obecne w roślinach mogą z jednej strony pełnić rolę atraktantów, które wabią owady i inne zwierzęta biorące udział w procesach zapylania i rozprzestrzeniania nasion, z drugiej strony mogą działać jako repelenty, chroniąc rośliny przed szkodnikami. ZLPS są także narzędziem komunikacyjnym roślin, które poprzez wydzielanie tych związków mogą komunikować się z innymi osobnikami w populacji (M. E. Maffei et al., 2011; Piesik et al., 2016, 2022). Ponadto ZLPS prezentują liczne aktywności biologiczne, które pozwalają z powodzeniem wykorzystywać dane substancje w celach leczniczych i profilaktycznych (Başer & Gerhard Buchbauer, 2016). Szczególnie cennym składającym się z ZLPS materiałem pozyskiwanym z roślin aromatycznych są olejki eteryczne (EO). ZLPS obecne w EO wykorzystuje się jako przyprawy, a także jako środki zapachowe w kosmetykach i produktach użytku domowego takich jak odświeżacze powietrza czy środki czystości (Preedy, 2016; Raghavan, 2007).

Duże zainteresowanie zagadnieniem ZLPS odnalazło odzwierciedlenie w licznych pracach skupiających się na ocenie i analizie ZLPS, szczególnie tych zawartych w EO (Adams, 2012; Bicchi et al., 2008; Wińska et al., 2019). Nowoczesne techniki analityczne uwzględniające chromatografię gazową, szczególnie chromatografię gazową sprzężoną ze spektrometrią mas, mikro-ekstrakcję do fazy stałej, elektroniczne nosy, olfaktometrię czy wreszcie analizę sensoryczną znalazły zastosowanie w dyscyplinie technologii żywności i żywienia. Niemniej wykorzystanie tych różnorodnych narzędzi zostało w pewien sposób zautomatyzowane i jest stosowane rutynowo, sprowadzając analizę zawartości ZLPS do roli wyznacznika jakości materiału roślinnego (Calín-Sánchez et al., 2011, 2013; Chua, Chong, et al., 2019; Chua, Chua, et al., 2019b; Öztekin & Martinov, n.d.; Szumny et al., 2010; Thamkaew et al., 2020). Drugie popularnie stosowane podejście do zagadnienia analizy ZLPS polega na wyborze danej grupy lub pojedynczych ZLPS i określeniu ich aktywności biologicznych, prozdrowotności lub toksyczności, a w kolejnym kroku wyniki te są ekstrapoluje się na ogólną jakość surowca (Asekun et al., 2007; Ghasemi Pirbalouti et al., 2017; Rahimmalek & Goli, 2013; Rohloff et al., 2005; Roshanak et al., 2016). Zawężanie analizy ZLPS do opisanych ścieżek nie uwzględnia jednak kwestii takich jak złożoność wzajemnych oddziaływań badanych związków, reakcji ZLPS na przebieg procesów technologicznych oraz funkcjonalności ZLPS, które do tej pory nie zostały zweryfikowane. Braki w analizie ZLPS dotyczą w znaczącym stopniu określania jakości materiału roślinnego oraz wpływu ZLPS na jakość sensoryczną i odpowiedzi ludzkiego organizmu.



4.3.2. Cel i hipotezy osiągnięcia

Hipotezy:

1. ZLPS mogą być wyznacznikiem jakości produktów roślinnych uzyskiwanych w procesach technologicznych, jednak z uwagi na zróżnicowanie zachowania się poszczególnych składników mieszaniny ZLPS konieczne jest określenie kontekstu oceny jakości (**P.1.**).
2. ZLPS mają wpływ na jakość sensoryczną ZiP, jednak kluczowa dla tej jakości sensorycznej jest efektywność uwalniania ZLPS z materiału roślinnego, a nie sama obecność ZLPS w materiale roślinnym. Ponadto rozkład enancjomeryczny poszczególnych ZLPS ma wpływ na jakość sensoryczną ZiP (**P.2. i P.3.**).
3. ZLPS mogą pełnić rolę markerów fitochemicznych, które mogą stanowić podstawę do odtwarzania historycznych, jakościowych receptur formułacji roślinnych (**P.4.**).
4. ZLPS mają potencjał do moderowania apetytu (zarówno stymulacji jak i redukcji) poprzez samą obecność wybranych ZLPS, a nie charakterystykę zapachu, który te ZLPS tworzą (**P.5.**).

Celem osiągnięcia było zbadanie składu i właściwości oraz potencjalnego zastosowania naturalnych związków lotnych (**ZLPS**) obecnych w różnych produktach spożywczych, szczególnie w **odniesieniu do jakości materiałów i produktów roślinnych oraz znaczenia ZLPS w analizie sensorycznej i oddziaływaniu ZLPS na ludzi.**

Cel główny został zrealizowany przez osiągnięcie celów szczegółowych (C.S.):

- C.S.1. – Określenie założeń dotyczących analizy ZLPS w odniesieniu do ewaluacji jakości materiału przyprawowego poddanego procesom technologicznym na przykładzie szalwii (*Salvia officinalis* L.) (**P.1.**)
- C.S.2. – Określenie sposobu łączenia wyników analizy instrumentalnej i analizy sensorycznej materiału przyprawowego oraz ocena znaczenia występowania enancjomerów optycznych ZLPS dla oceny sensorycznej (**P.2. i P.3.**)
- C.S.3. – Określenie jakościowego składu produktów spożywczych, w tym suplementów diety poprzez zbadanie potencjału ZLPS do pełnienia roli markerów fitochemicznych (**P.4.**)
- C.S.4. – Zbadanie potencjału ZLPS do regulowania apetytu poprzez analizę interakcji ZLPS występujących w produktach spożywczych z organizmem człowieka (**P.5.**)



4.3.3. *Metodyka*

Hipotezy badawcze zweryfikowano wobec ZLPS występujących w roślinach aromatycznych i egzotycznych, w produktach pochodzenia roślinnego oraz w żywności przetworzonej i nieprzetworzonej. Większość analiz została wykonana w Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu (C.S.1.-C.S.4.) oraz we współpracy z badaczkami i badaczami z Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie (C.S.2.), Uniwersytetu Wrocławskiego (P.4.), Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu (C.S.3.), Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu (P.4) Uniwersytetu im. Miguela Hernandesa w Elche (C.S.2.).

Jako materiał badawczy wykorzystano:

- świeże ziele szalwii lekarskiej (*S. officinali* L.) oraz ziele poddane obróbce technologicznej polegającej na różnych metodach suszenia;
- świeże ziele trzech chemotypów mięty (*Mentha* ssp.) oraz ziele poddane obróbce technologicznej poprzez suszenie konwekcyjne w różnych temperaturach;
- formułacje roślinne w postaci Balsamów Jerozolimskich – 4 balsamy produkcji współczesnej oraz 1 datowany na ok. 1870 rok;
- produkty spożywcze i dania charakterystyczne dla regionu środkowoeuropejskiego.

ZLPS były izolowane z materiałów za pomocą trzech technik: hydro-destylacji z wykorzystaniem aparatu Derynga, mikro-ekstrakcji z fazy nadpowierzchniowej HS-SPME (włókno 2 cm DVB/CAR/PDMS; Supeclo, Bellefonte, PA, USA) i mikro-ekstrakcji z fazy nadpowierzchniowej HS-SPME Arrow (włókno 1.10 mm DVB/C-WR/PDMS). Rozdział analitów, analizę jakościową i analizę ilościową przeprowadzono za pomocą dwóch aparatów: Varian CP-3800/Saturn2000 (Varian, Walnut Creek, CA, USA) i Shimadzu GCMS QP 2020 Plus (Shimadzu, Kioto, Japonia). Do rozdziału analitów wykorzystano kolumnę kapilarną ZB-5 MSi capillary (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm; Phenomenex, Torrance, CA, USA) oraz w przypadku rozdziału enancjomerycznego chiralną kolumnę kapilarną Cydex-B (50 m × 0.25 mm × 0.25 μm; Trajan Scientific Europe Ltd., Milton Keynes, UK). Szczegółowe programy temperaturowe rozdziału analitów oraz warunki pracy detektora znajdują się w Załączniku 5, w którym zamieszczono kopie publikacji stanowiących cykl dokumentujący osiągnięcie.

Identyfikację składników ZLPS występujących w badanych obiektach przeprowadzono poprzez porównanie eksperymentalnie uzyskanych widm masowych z widmami dostępnymi w bazach danych (NIST 17, NIST 20 i FFNSC 3.0) oraz przez porównanie wyznaczonych eksperymentalnie (wg równania Van den Dool'a i Kratz'a) liniowych indeksów retencji z danymi dostępnymi w bazach danych (NIST 17, NIST 20, NIST Webbook i FFNSC 3.0); w wybranych przypadkach identyfikacja była potwierdzana poprzez równoległą analizę wzorców analitycznych. Aby wyniki przeszukiwania bibliotek mogły zostać uznane za poprawne identyfikacje, podobieństwo porównywanych widm masowych musiało wynosić



$\geq 90\%$, a porównywane liniowe indeksy retencji nie mogły różnić się więcej niż ± 15 . Wyniki analizy ilościowej przedstawiano w formie udziału procentowego uzyskanego za pomocą metody *area normalization* względem dodanego wzorca wewnętrznego, odrębnie dla poszczególnych analitów tworzących mieszaninę analizowanych ZLPS albo/lub w formie rzeczywistych stężeń obliczonych za pomocą metody *external standard*.

Szczegółowy opis metod związanych z badaniami wychodzącymi poza sferę analiz chemicznych (analiza sensoryczna, badania cytotoksyczności etc.) znajdują się w Załączniku 5, w którym zamieszczono kopie publikacji stanowiących cykl dokumentujący osiągnięcie.

4.3.4. Wyniki i dyskusja

Dotychczasowe badania w większości ograniczały się do prowadzenia analizy ZLPS w celu wykazania zależności suma ZLPS-cecha materiału. W moich zaś badaniach analiza służy jako narzędzie umożliwiające jak najlepsze zrozumienie tej zależności, tak aby na podstawie wykonanej pracy analitycznej można było przewidywać i tworzyć nowe, celowane aplikacje zarówno samych ZLPS jak i ich źródeł.

Pierwszą częścią osiągnięcia przedstawioną w **C.S.1.** jest zilustrowanie złożoności oceny jakości przetworzonych poprzez proces suszenia produktów roślinnych. Zagadnienie to badane było na podstawie zmian zachodzącym w składzie jakościowym i ilościowym ZLPS wchodzących w skład EO z szalwii. Większość dotychczas przeprowadzonych badań (Thamkaew et al., 2020), łącznie z badaniami (Chua et al., 2019a; Figiel et al., 2010; Szumny et al., 2010) prowadzonymi przez zespół do którego dołączyłem w 2017 roku jako doktorant skupiały się na określeniu optymalnej metody suszenia dla danego materiału roślinnego. Niemniej już podczas analiz wykonanych w trakcie swoich badań do pracy doktorskiej weryfikowałem to podejście uznając, że bez określenia przeznaczenia wobec jakiego *jakość* suszonego produktu jest oceniana, termin *optymalna metoda suszenia* jest wysoce nieprecyzyjny i niejasny. Wyniki przedstawione w **P.1.** są próbą zobrazowania tego, jak ważne jest określenie konkretnego celu procesu technologicznego.

Ziele szalwii zostało poddane suszeniu z zastosowaniem trzech metod: suszenia konwekcyjnego (**CD**) w 40, 50 i 60 °C, suszenia mikrofalowo-próżniowego (**VMD**) o mocy mikrofal 240, 360 i 480 W i suszenia kombinowanego CPD-VMFD składającego się ze wstępnego suszenia konwekcyjnego w 50 °C i końcowego suszenia mikrofalowo-próżniowego o mocy fal 360 W. Zarówno materiał świeży jak i próbki wysuszone zostały poddane szeregowi analiz chemicznych obejmujących ZLPS i związki nietlotne. W odniesieniu do ZLPS zweryfikowano wydajność uzysku EO, skład jakościowy i ilościowy oddestylowanych EO i zmiany w efektywności wydzielania ZLPS z materiału roślinnego. Rozważono również zmiany ilościowe w biologicznie aktywnych ZLPS oraz w kluczowych dla zapachu ZLPS.

Niemożliwe było określenie jednej, uniwersalnej metody suszenia, która zapewniłaby najlepsze wyniki jednocześnie dla wszystkich pożądanych cech szalwii tj. zachowania zapachu, największego uzysku



EO i zachowania aktywności biologicznych. W kontekście zawartości EO w świeżym materiale uzyskano $2.2 \text{ mL} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$; po procesie suszenia, optymalne pod tym względem okazały się dwie metody: CD50, CD60 oraz VMD480, dające kolejno uzysk $0,81$, $0,72$, $0,79 \text{ mL} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, podczas gdy metoda VMD240 dała najgorsze efekty – $0,42 \text{ mL} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Te wyniki dobrze obrazują sprzeczność z wcześniejszymi danymi literaturowymi. Sellami et al. (2012) wskazują, że wraz ze zwiększaniem temperatury procesu suszenia wydajność uzysku EO spada, natomiast nasze badania dowodzą, że uzysk EO w procesie w temperaturze 50 i $60 \text{ }^\circ\text{C}$ był większy niż w $40 \text{ }^\circ\text{C}$. Przedstawione różnice dotyczące uzysku EO mogą wynikać z wpływu innych niż sama temperatura suszenia parametrów (przewodzenia) procesu, takich jak np. wilgotność i temperatura otoczenia. Teza ta staje się bardziej prawdopodobna, kiedy weźmiemy pod uwagę, że badania Sellamiego et al. (2012) były wykonane w Tunezji, podczas gdy nasz zespół pracował w Polsce, a zatem w różnych strefach klimatycznych. Tak radykalne różnice wyników dobrze ukazują jak istotne jest uwzględnienie w procesie technologicznym różnych parametrów, w tym również takich, które mogą być trudne do kontrolowania.

Innym aspektem jest zachowanie właściwości biologicznych EO z szalwii, ponieważ dla zachowania aktywności biologicznych to skład ilościowy i jakościowy EO ma większe znaczenie niż sama ilość EO. Nasze wyniki pokazały, że dokładne określenie przeznaczenia EO z szalwii istotnie wpływa na dobór metody suszenia. Aby zachować lub pozyskać pożądane właściwości antyseptyczne i przeciwzapalne czyli zachować jak najwyższy udział ZLPS takich jak kamfora, borneol, tujony i eukaliptol (Longaray Delamare et al., 2007), należy zastosować suszenie CD40 i VMD240, czyli zupełnie inne niż w przypadku optymalnego uzysku EO. Z drugiej strony, jeśli użytkownikowi EO zależy na zachowaniu albo pozyskaniu właściwości przeciwtleniających i przeciwnowotworowych, z którymi związany jest wysoki udział ZLPS takich jak kariofilen, α -humulen, wiridiflorol czy manool, należy zastosować CD50, CD60 i VMD360 jako metody suszenia. Suszenie można także wykorzystać dla uzyskania z szalwii produktu o obniżonej zawartości tujonów. Jest to interesujące, ponieważ α -tujon i β -tujon oprócz istotnego wpływu na pożądaną bioaktywność i zapach mają również działania niepożądane. Obydwa te związki uznawane są za substancje neurotoksyczne, które mogą powodować halucynacje i stany euforyczne (EMA/HMPC, 2016), stąd użytkownicy całego materiału roślinnego albo EO z szalwii mogą być obowiązani do wykorzystania surowca o odpowiednim stężeniu tujonów. Szczegółowe zmiany w kluczowych zapachowo i bioaktywnych ZLPS pochodzących z szalwii podano w Tabeli 2.

Zawartość ZLPS w materiale roślinnym bez wątplenia jest istotnym wyznacznikiem jakości zarówno samego materiału jaki produktów (np. suszonych) z niego wytworzonych. Niemniej jak wykazałem, do uzyskania rzeczywiście użytecznych wyników konieczne jest dokładne określenie najbardziej pożądanej cechy produktu – np. jakości zapachowej, konkretnych aktywności biologicznych czy ograniczenia toksyczności. Przyczyną tej konieczności jest to, że na dane cechy



produktu wpływają określone ZLPS lub ich charakterystyczne grupy, których udział w przetworzonym materiale roślinnym zależy od parametrów zastosowanych procesów technologicznych. Traktowanie wszystkich ZLPS jako jedynego czynnika świadczącego o „jakości” badanego materiału skutkuje uzyskaniem wyników, które tylko częściowo dają rzeczywisty obraz jakości materiału.

Tabela 2. Zmiany w ZLPS obecnych w szatwii (*S. officinalis* L.) pod wpływem zastosowania różnych procedur suszenia (Pachura et al., 2022)

Compound	Drying method									
	Fresh	CD40	CD50	CD60	VMD240	VMD360	VMD480	CPD-VMEFD		
Bioactive volatile constituents - Contribution [%] ¹										
Eucalyptol + Limonene	12.93 ^{a, 2}	11.33 ^b	9.36 ^{d,e}	10.09 ^{cd}	10.82 ^{b,c}	8.97 ^e	9.50 ^{d,e}	10.48 ^c		
α -Thujone	26.13 ^a	20.44 ^d	20.03 ^d	21.42 ^c	22.42 ^b	16.07 ^f	18.89 ^e	23.26 ^b		
β -Thujone	11.90 ^a	4.53 ^d	7.59 ^{b,c}	6.10 ²	8.81 ^b	9.04 ^b	7.53 ^{b,c}	6.44 ^{a,c}		
Camphor	20.34 ^b	22.49 ^a	17.97 ^c	17.66 ^c	19.72 ^b	17.90 ^c	18.32 ^c	19.49 ^b		
Borneol	2.51 ^c	3.09 ^a	2.44 ^c	2.29 ^{cd}	1.92 ^{d,e}	1.87 ^e	2.88 ^{ab}	1.58 ^e		
Caryophyllene	1.62 ^c	1.94 ^c	4.62 ^a	3.09 ^b	2.16 ^c	3.57 ^b	3.37 ^b	3.03 ^b		
α -Humulene	2.95 ^d	2.93 ^d	6.42 ^a	6.51 ^a	4.35 ^c	6.22 ^a	5.33 ^b	4.60 ^c		
Viridiflorol	3.71 ^d	5.47 ^c	6.92 ^b	7.64 ^a	3.75 ^d	8.10 ^a	6.99 ^b	5.69 ^c		
Manool	1.15 ^d	3.73 ^c	4.72 ^{ab}	5.59 ^a	1.75 ^d	5.59 ^a	5.49 ^a	4.46 ^{b,c}		
Odour-active compounds - Contribution [%] ³										
α -Pinene	0.83 ^a	1.19 ^a	1.51 ^{ab}	1.51 ^{ab}	0.96 ^a	2.10 ^b	1.06 ^a	1.42 ^{ab}		
β -Pinene	0.88 ^a	1.43 ^b	1.58 ^{b,c}	1.53 ^{b,c}	1.51 ^{b,c}	1.38 ^b	1.50 ^{b,c}	1.84 ^c		
1-Octen-3-ol	0.70 ^a	0.91 ^a	0.26 ^a	0.21 ^a	0.24 ^a	0.24 ^a	0.29 ^a	0.22 ^a		
Eucalyptol	7.67 ^a	7.05 ^a	10.47 ^a	8.17 ^a	6.97 ^a	9.06 ^a	7.70 ^a	8.20 ^a		
γ -Terpinene	0.67 ^b	0.78 ^b	0.61 ^{ab}	0.67 ^b	0.45 ^a	0.40 ^a	0.42 ^a	0.43 ^a		
β -Thujone	11.27 ^{abcd}	9.23 ^{abc}	9.04 ^{ab}	16.32 ^{cd}	18.26 ^d	8.36 ^a	16.82 ^d	15.71 ^{bcd}		
Camphor	25.82 ^{bc}	17.64 ^a	17.94 ^{ab}	17.03 ^a	14.21 ^a	26.12 ^c	19.83 ^{abc}	19.14 ^{abc}		
Neoisothujol	0.66 ^c	0.49 ^{bc}	0.23 ^a	0.22 ^a	0.33 ^a	0.17 ^a	0.23 ^a	0.26 ^a		
<i>trans</i> -Phocamphone	0.63 ^c	0.56 ^{bc}	0.38 ^{ab}	0.29 ^a	0.41 ^{ab}	0.25 ^a	0.31 ^a	0.33 ^a		
Terpinen-4-ol	1.05 ^b	0.69 ^{ab}	0.45 ^a	0.36 ^a	0.44 ^a	0.43 ^a	0.42 ^a	0.49 ^a		
α -Terpineol	1.26 ^b	0.62 ^a	0.37 ^a	0.35 ^a	0.38 ^a	0.42 ^a	0.50 ^a	0.52 ^a		
<i>trans</i> -Carvyl acetate	0.70 ^b	0.51 ^b	0.30 ^a	0.17 ^a	0.22 ^a	0.20 ^a	0.24 ^a	0.24 ^a		
β -Caryophyllene	2.25 ^a	2.47 ^a	5.06 ^a	3.38 ^a	4.42 ^a	3.62 ^a	4.88 ^a	3.66 ^a		
Viridiflorol	1.24 ^{abc}	1.27 ^{bc}	1.16 ^{ab}	0.74 ^a	1.74 ^c	0.86 ^{ab}	1.17 ^{ab}	0.86 ^{ab}		
Humulene epoxide II	1.19 ^c	0.86 ^b	0.44 ^a	0.36 ^a	0.48 ^a	0.46 ^a	0.52 ^a	0.42 ^a		
Total EO ⁴ [mL·100 g ⁻¹ dw]	2.2 ^a	0.59 ^d	0.81 ^b	0.72 ^{b,c}	0.42 ^e	0.64 ^{cd}	0.79 ^b	0.62 ^d		

¹ Based on the GC-MS liquid injection, calculated by peak area normalization against internal standard; ² Values followed by the same letters are not statistically different in Tukey's test and one-way analysis of variance; ³ Based on the HS-SPME analysis, calculated by peak area normalization against internal standard; ⁴ Total EO was measured by distillation of sage on Deryng apparatus.



Kolejną kwestią, którą rozważałem w swojej pracy naukowej, był potencjał zastosowania ZLPS pochodzenia roślinnego w badaniach sensorycznych (C.S.2., C.S.3.). Podobnie jak w przypadku doboru metody suszenia podszedłem do tematu badań sensorycznych w sposób bardziej rozbudowany niż dotychczas prezentowany w literaturze. Wiele nurtów badań związanych z jakością sensoryczną, w tym jakością zapachową, skupia się jedynie na weryfikacji akceptacji konsumentów czy ocenie panelistów, bez rozważania jak skład chemiczny ZLPS, charakter enancjomeryczny albo/i relacje ZLPS z matrycą, w której są obecne przekładają się na owe wyniki. Wobec tego zaplanowałem badania, w których weryfikowałem przytoczone aspekty i oceniałem ich wpływ na metodykę badań sensorycznych. C.S.2. oraz C.S.3. zostały omówione w publikacjach P.2. i P.3., które tworzą pomniejszy cykl *Chemistry behind Quality*.

Jakość sensoryczna ZiP jest istotną kwestią z punktu widzenia akceptacji konsumentów oraz wyniku ekonomicznego producentów surowców zielarskich i przyprawowych. W celu oceny jakości ZiP najczęściej stosuje się kolejno destylację EO z materiału roślinnego, ocenę efektywności uzysku EO a następnie analizę chromatograficzną pod kątem poszczególnych ZLPS. Na podstawie uzyskanych wyników ocenia się potencjał ZiP do wykorzystania w roli surowców przyprawowych. Praktykę tę dokładnie przedstawił Thamkaew et al. (2020) w obszernym przeglądzie 150 oryginalnych prac naukowych dotyczącym wpływu suszenia na jakość ZiP. **Według mojej hipotezy w przypadku jakości sensorycznej znacznie istotniejsza jest efektywność wydzielania ZLPS z materiału roślinnego niż sam rzeczywisty skład ZLPS zamkniętych w materiale roślinnym.**

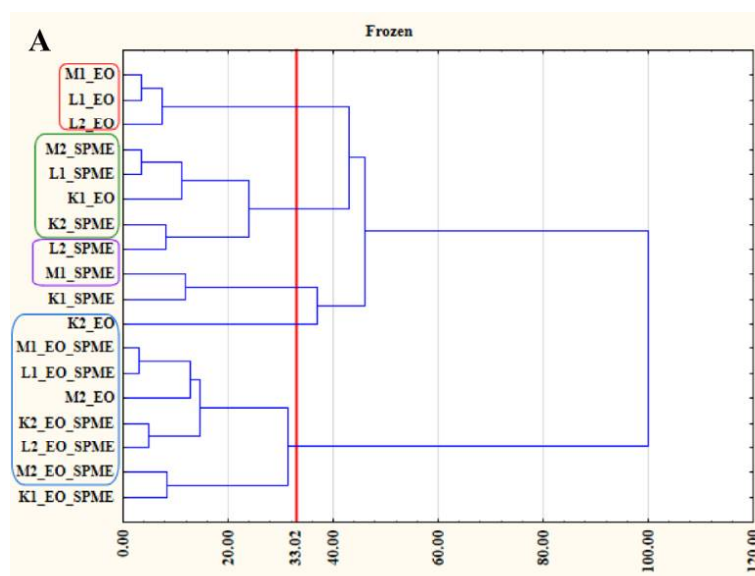
Biorąc pod uwagę dotychczasowe podejście do badań jakości ZiP zaplanowałem eksperymenty, w których chciałem zweryfikować wpływ obecności matrycy roślinnej na wydzielanie ZLPS, uwzględniając relacje chiralne ZLPS z tkanką roślinną. Pomysł ten został doceniony przez recenzentów i panel ekspertów NCN i w efekcie nagrodzony przyznaniem grantu w ramach konkursu Preludium-18. **Projekt oparty był na moich własnych pomysłach, założeniach i hipotezach, które były jedynie konsultowane z moim ówczesnym opiekunem naukowym. Temat realizowany w ramach projektu nie był tożsamy z tematem mojej pracy doktorskiej.**

Wraz z koleżankami i kolegami wykorzystaliśmy trzy chemotypy roślin z rodzaju *Mentha*: chemotyp linalolowy, mentolowy i karwonowy. Dodatkowo aby uzyskać materiał zróżnicowany pod względem struktury tkanki roślinnej i składu ZLPS w EO poddaliśmy próbki suszeniu konwekcyjnemu w 40, 55 i 70 °C. W eksperymentach porównaliśmy różnice w składzie ZLPS EO pozyskanych z materiału roślinnego ze wzorem uwalniania ZLPS ze źródłowego materiału roślinnego oraz ze wzorem uwalniania ZLPS z czystych EO. W badaniach wykorzystaliśmy hydrodestylację z użyciem aparatu Derynga, analizę GC-MS na podstawie ciekłego roztworu EO oraz ekstrakcję HS-SPME Arrow.

Pierwsze znaczące różnice uzyskanych wyników dotyczą liczby zidentyfikowanych ZLPS. Liczba zidentyfikowanych ZLPS zależała od rodzaju analizowanego obiektu (I: roztwór EO; II: ZLPS uwalniane

z czystego EO; III: ZLPS uwalniane z roślinnego materiału źródłowego) oraz zastosowanej techniki analitycznej (I: nastrzyk ciekły; II: HS-SPME Arrow). Najmniejszą ilością zidentyfikowanych ZLPS charakteryzowała się analiza roztworu EO pochodzącego z mięty o chemotypie mentolowym – 42 analizy, a największą analiza HS-SPME czystego EO pochodzącego z mięty o chemotypie linalolowym – 93 analizy. Różnica w liczbie zidentyfikowanych ZLPS występowała również dla tego samego obiektu jakim był EO z danej próbki roślinnej poddany analizie przy pomocy różnych technik. Przytoczone wyniki są zrozumiałe, jeśli weźmie się pod uwagę selektywność i czułość poszczególnych wykorzystanych metod, ponadto wykazują zgodność z danymi literaturowymi (Gao et al., 2017; Łyczko et al., 2020).

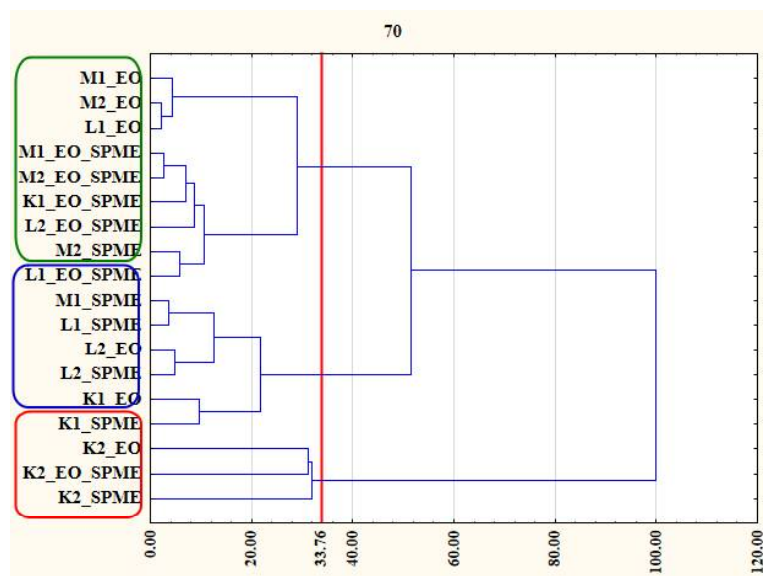
W celu ustalenia dalszych zależności wyniki przeprowadzonych badań poddano dodatkowo hierarchicznej analizie skupień (HCA). Rezultatem HCA było sklasyfikowanie dotychczasowych wyników na grupy odpowiadające poszczególnym technikom analitycznym, niezależnie od chemotypu mięty. Wynika z tego, że dla ostatecznej oceny jakości sensorycznej dobór metody analitycznej ma nadrzędne znaczenie względem samej kompozycji ZLPS. Wprawdzie otrzymano także wyniki HCA, w których analiza ciekłego roztworu EO była klasyfikowana do jednej grupy wraz z analizą HS-SPME roślinnego materiału źródłowego lub z analizą HS-SPME czystego EO, jednakże nigdy nie zdarzyło się aby w jednej grupie umieszczone zostały wyniki związane z materiałem tego samego chemotypu (Rysunek 1).



Rysunek 1. Rezultat hierarchicznej analizy skupień (HCA) dla próbek pochodzących z roślin świeżych (Łyczko, Kiełtyka-Dadasiewicz, Skrzyński, et al., 2023)

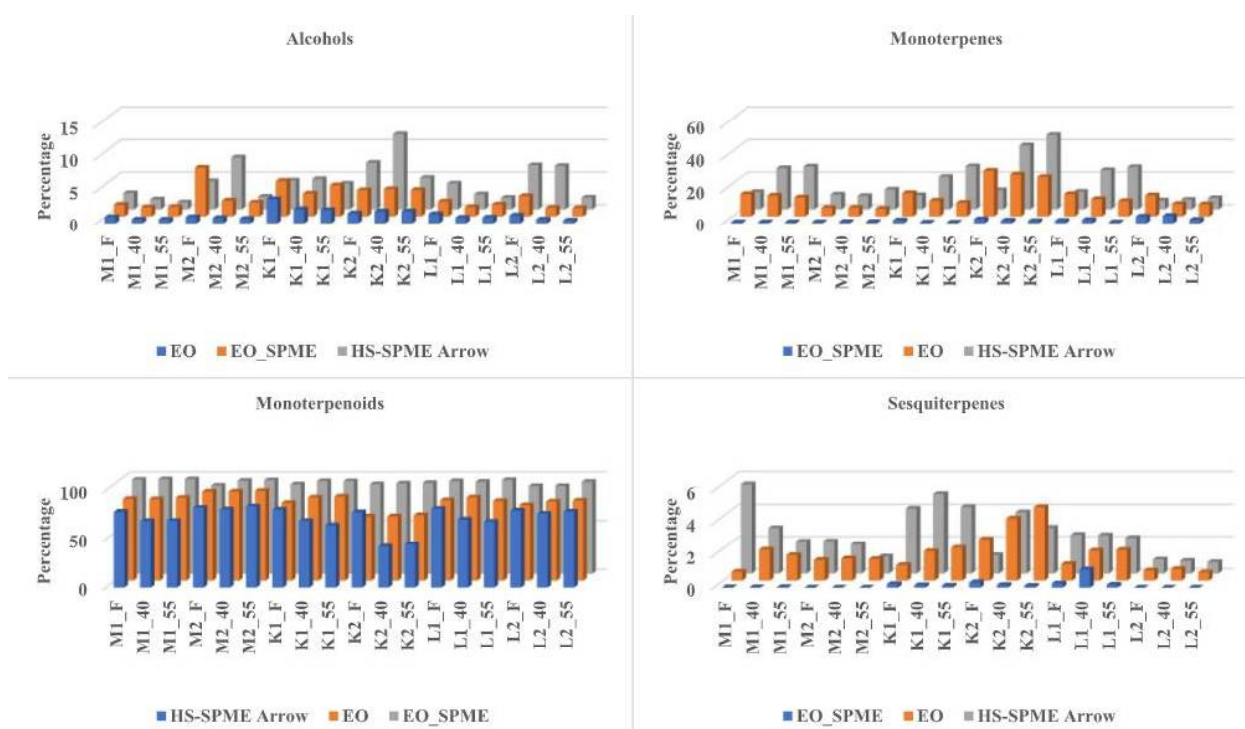
Również na podstawie HCA dokonaliśmy obserwacji dotyczącej wpływu temperatury suszenia na klasyfikację otrzymanych wyników – mianowicie wraz ze wzrostem temperatury w jakiej prowadzony był proces suszenia dochodziło do coraz bardziej chaotycznej klasyfikacji i mieszania się w grupach różnych metod analitycznych. Zjawisko to powiązałem z postępującą pod wpływem (rosnącej) temperatury

dezintegracją struktury tkanek roślinnych, przede wszystkim zbiorniczków olejkowych. Podobnych obserwacji dokonali Vallino et al. (2021) dla temperatur 20 i 40 °C. Badania przeprowadzone przez mój zespół wykazały ową coraz mniej uporządkowaną klasyfikację w jeszcze szerszym zakresie temperatur 40-70 °C. Wyniki HCA dla próbek uzyskanych przez suszenie w najwyższej temperaturze obrazuje Rysunek 2.



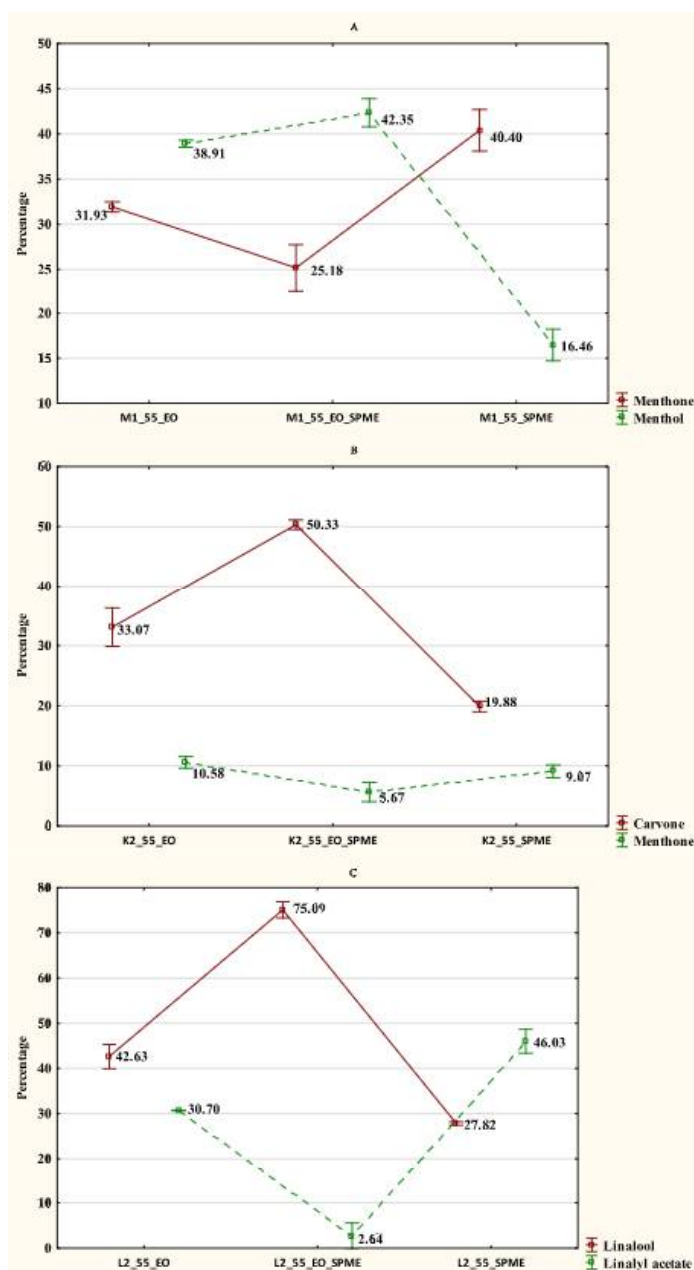
Rysunek 2. Rezultat hierarchicznej analizy skupień (HCA) dla próbek pochodzących z roślin suszonych w 70 °C (Łyczko, Kiełtyka-Dadasiewicz, Skrzyński, et al., 2023)

Dzięki uzyskaniu wyników badań prezentowanych w **P.2.** mogłem potwierdzić swoją hipotezę, według której obecność materiału roślinnego istotnie wpływa na wydzielanie ZLPS z EO, co oznacza, że sensowna jest zasugerowanie zmiany metodologii stosowanej do oceny jakości zapachowej ZiP. Cztery główne grupy ZLPS zidentyfikowane we wszystkich badanych chemotypach mięty to alkohole, monoterpény, monoterenoidy i seskwiterpény. Analizy materiału wykonane przy pomocy różnych technik analitycznych wykazały zmienność w udziałach procentowych wyżej wymienionych grup; zgodnie z tym, co zaprezentowano na Rysunku 3 dla alkoholi, monoterenów i seskwiterpenów bardziej selektywna niż analiza ciekłego roztworu EO okazała się być analiza HS-SPME źródłowego materiału roślinnego. Prowadzone przez zespoły Gao et al. (2017), Lisanti et al. (2021) i McAdam et al. (2020) badania jednoznacznie wykazały wiarygodność wykorzystania techniki HS-SPME jako narzędzia obrazującego kompozycję ZLPS docierających do konsumenta. Wyniki te w połączeniu z naszymi doświadczeniami pozwalają potwierdzić, że prawdopodobnie niewłaściwe jest stosowanie analizy ciekłych roztworów EO, by jedynie na tej podstawie oceniać jakość zapachową ZiP.

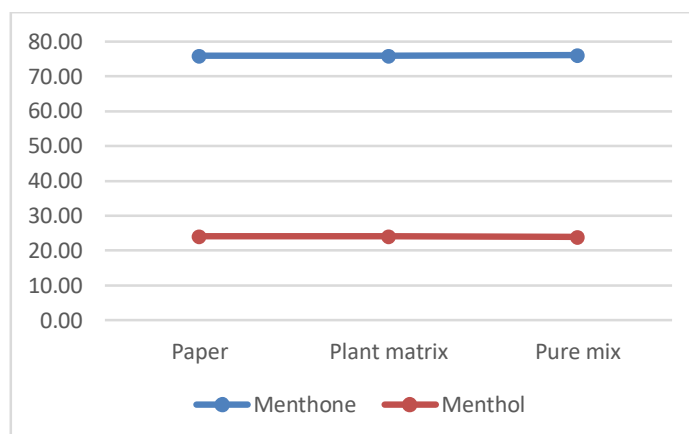


Rysunek 3. Rozkład głównych klas chemicznych lotnych związków organicznych dla poszczególnych metod analitycznych (Łyczko, Kiełtyka-Dadasiewicz, Skrzyński, et al., 2023)

W wyjaśnieniu różnic między wynikami HS-SPME źródłowego materiału roślinnego i wynikami analizy GC-MS ciekłego roztworu EO wykorzystałem pracę Maffei et al. (1989). Zespół Maffei podczas badania mięty wykazał, że udział procentowy poszczególnych ZLPS wchodzących w skład EO rośliny nie jest jednakowy dla wszystkich zbiorniczków olejkowych. Skład EO zależy od dwóch czynników – od etapu rozwoju rośliny oraz od umiejscowienia zbiorniczka. Oznacza to, że wymienione czynniki mają również wpływ na skład uwalnianych ZLPS, a tym samym także na wyniki badań sensorycznych. Badając obecność ZLPS przy pomocy różnych technik otrzymuje się wyniki przedstawiające wyraźny trend charakterystyczny dla głównych pod względem ilościowym ZLPS rośliny: przykładowo dla EO mięty szlaku mentolowego zastosowanie techniki HS-SPME daje najwyższy udział procentowy mentolu i najniższy mentonu (Rysunek 4). Żeby potwierdzić fakt zmienności składu ZLPS w EO dla poszczególnych zbiorniczków olejkowych rośliny a także żeby wykazać, jak istotna jest owa zmienność dla ostatecznych wyników badań sensorycznych, przeprowadziliśmy eksperyment polegający na sztucznym naniesieniu na wyjałowiony uprzednio z ZLPS liść mięty szlaku mentolowego mieszaniny mentonu i mentolu. Zgodnie z przypuszczeniami, dane uzyskane w wyniku tego eksperymentu znacząco różniły się od tych, które otrzymuje się podczas badania naturalnych próbek – niezależnie od wykorzystanej techniki analitycznej związki prezentowały ten sam udział procentowy w każdej próbce (Rysunek 5).



Rysunek 4. Zmiany zawartości procentowej dwóch głównych ZLPS dla próbek przetworzonych przez suszenie konwekcyjne w temperaturze 55 °C. Wykres A dotyczy mięty szlaku mentolowego, wykres B - mięty szlaku karwonowego, wykres C - mięty szlaku linalolowego (Łyczko, Kiełtyka-Dadasiewicz, Skrzyński, et al., 2023)



Rysunek 5. Wyniki badania HS-SPME-GC/MS modeli imitujących liść mięty

Kontynuacja badań nad możliwością wykorzystania analizy sensorycznej w kontekście użyteczności ZLPS zaowocowała wynikami prezentowanymi w **P.3. (C.S.3.)**. W tym przypadku skupiłem się na rzadko uwzględnianym w literaturze dotyczącej analizy sensorycznej aspekcie analizy ZLPS – chiralności związków. Moim celem było określenie w jaki sposób dystrybucja enancjomeryczna ZLPS obecnych w roślinie może być powiązana z wynikami analizy sensorycznej, dokonywanej przez panel ekspertów. Badania były wykonane we współpracy z zespołem prof. Angela Carbonell-Barrachina z University Miguel Hernandez de Elche (Orihuela, Hiszpania). **Metodyka i część badań sensorycznych ujętych w publikacji zostały opracowane podczas mojej wizyty studyjnej w Hiszpanii we wrześniu 2021.** Podobnie jak poprzednio analizy zostały przeprowadzone na roślinach z rodziny *Mentha* reprezentujących 3 chemotypy i poddanych tym samym procedurom suszenia.

W pierwszej części prac porównaliśmy wyniki rozdziału enancjomerycznego ZLPS poprzez analizy HS-SPME źródłowego materiału roślinnego i ciekłych roztworów EO pochodzących z tego materiału roślinnego. W wyniku tego porównania uzyskaliśmy informacje, że istnieje znacząca zmienność w udziale poszczególnych enancjomerów w zależności od wykorzystanej techniki analitycznej. Niemniej ujawniły się też trendy, które można było przełożyć na ogół roślin; charakterystyczne różnice zaobserwowaliśmy w obrębie poszczególnych chemotypów. Przykładowo w mięcie o chemotypie mentolowym obecność tkanki roślinnej znacząco wpływała na efektywność wydzielania monoterpenu: α -pinenu, sabinenu, β -pinenu i limonenu – mają one mniejszy udział procentowy w analizie HS-SPME niż w analizie ciekłego roztworu EO (Tabela 3 i Tabela 4). **Założyłem, że oznacza to, iż obecność tkanki roślinnej mięty chemotypu mentolowego faworyzuje związki enancjomeryczne zawierające w swojej strukturze atom tlenu.** Dla innych chemotypów mięty takie zależności nie zostały zaobserwowane.

Zjawisko zróżnicowania wydzielania z materiału enancjomerycznych ZLPS powiązałem z obecnością tkanki roślinnej zawierającej związki chiralne. Węglowodany obecne w celulozie i hemicelulozie oraz niektóre lignany mogą wpływać na dystrybucję poszczególnych enancjomerycznych ZLPS. Jednak w związku z brakiem ogólnych trendów dla wszystkich chemotypów mięty uznałem, że



zmienność w emisji enancjomerycznych ZLPS jest bardziej zależna od zmian strukturalnych w tkance roślinnej, wynikających z różnic warunków uprawowych, zabiegów agrotechnicznych czy procesu konserwacji. **Wobec tego, mimo że rozkład enancjomerycznych ZLPS wielokrotnie uznawany jest słusznie za czynnik determinujący geograficzne pochodzenie próbek czy marker w oznaczaniu zafałszowań EO, to nie jest odpowiednim markerem do przewidywania zapachowej jakości sensorycznej ZiP.**

Tabela 3. Udział enancjomerycznych ZLPS w analizie ciekłego roztworu EO i analizie HS-SPME źródłowego materiału roślinnego mięty o chemotypie mentolowym (1) (Łyczko, Kiełtyka-Dadasiewicz, Issa-Issa, et al., 2023)

Compound	ANOVA ¹	F						[%]					
		40		55		40		55		40		55	
		EOs	SPME	EOs	SPME	EOs	SPME	EOs	SPME	EOs	SPME	EOs	SPME
α-(−)-pinene	*	0.45 ^a	0.05 ^b	0.54 ^a	tr ²	0.49 ^a	tr	0.45 ^a	0.05 ^b	0.54 ^a	tr ²	0.49 ^a	tr
α-(+)-pinene	*	0.33 ^a	0.07 ^b	0.58 ^a	tr	0.53 ^a	tr	0.33 ^a	0.07 ^b	0.58 ^a	tr	0.53 ^a	tr
(+)-sabinene	*	0.48 ^a	0.18 ^b	0.86 ^a	0.09 ^b	0.76 ^a	0.08 ^b	0.48 ^a	0.18 ^b	0.86 ^a	0.09 ^b	0.76 ^a	0.08 ^b
(−)-sabinene	*	0.16 ^a	0.05 ^b	0.28 ^a	tr	0.24 ^a	tr	0.16 ^a	0.05 ^b	0.28 ^a	tr	0.24 ^a	tr
β-(+)-pinene	*	0.54 ^a	0.19 ^b	0.87 ^a	tr	0.81 ^a	tr	0.54 ^a	0.19 ^b	0.87 ^a	tr	0.81 ^a	tr
β-(−)-pinene	*	0.52 ^a	0.20 ^b	0.89 ^a	0.06 ^b	0.83 ^a	0.05 ^b	0.52 ^a	0.20 ^b	0.89 ^a	0.06 ^b	0.83 ^a	0.05 ^b
(−)-limonene	*	4.69 ^a	3.84 ^a	5.88 ^a	1.07 ^b	5.33 ^a	0.88 ^b	4.69 ^a	3.84 ^a	5.88 ^a	1.07 ^b	5.33 ^a	0.88 ^b
(+)-limonene	*	0.16 ^b	1.18 ^a	0.18 ^b	0.06 ^c	0.18 ^b	0.05 ^c	0.16 ^b	1.18 ^a	0.18 ^b	0.06 ^c	0.18 ^b	0.05 ^c
(−)-linalool	*	0.26 ^b	0.35 ^{ab}	0.25 ^b	0.40 ^a	0.27 ^b	0.39 ^a	0.26 ^b	0.35 ^{ab}	0.25 ^b	0.40 ^a	0.27 ^b	0.39 ^a
(−)-menthone	*	33.87 ^b	41.56 ^a	34.47 ^b	16.10 ^c	32.14 ^b	11.10 ^d	33.87 ^b	41.56 ^a	34.47 ^b	16.10 ^c	32.14 ^b	11.10 ^d
(+)-isomenthone	*	3.45 ^{ab}	4.72 ^a	3.00 ^{ab}	2.29 ^b	3.02 ^{ab}	3.15 ^{ab}	3.45 ^{ab}	4.72 ^a	3.00 ^{ab}	2.29 ^b	3.02 ^{ab}	3.15 ^{ab}
(+)-terpinen-4-ol	NS	0.20	0.18	0.16	0.25	0.22	0.28	0.20	0.18	0.16	0.25	0.22	0.28
(−)-terpinen-4-ol	NS	4.08	4.51	3.39	4.33	3.54	4.60	4.08	4.51	3.39	4.33	3.54	4.60
(−)-menthol	*	42.39 ^{bc}	37.81 ^c	41.56 ^{bc}	64.14 ^a	45.24 ^b	69.28 ^a	42.39 ^{bc}	37.81 ^c	41.56 ^{bc}	64.14 ^a	45.24 ^b	69.28 ^a
(−)-menthyl acetate	*	4.60 ^a	1.18 ^b	3.44 ^a	3.11 ^a	2.56 ^{ab}	2.60 ^{ab}	4.60 ^a	1.18 ^b	3.44 ^a	3.11 ^a	2.56 ^{ab}	2.60 ^{ab}
α-(+)-terpineol	NS	0.12	0.09	0.11	0.24	0.11	0.21	0.12	0.09	0.11	0.24	0.11	0.21
α-(−)-terpineol	NS	0.13	0.07	0.11	0.24	0.12	0.21	0.13	0.07	0.11	0.24	0.12	0.21
(+)-piperitone	*	3.40 ^b	3.78 ^b	3.27 ^b	7.35 ^a	3.47 ^b	6.86 ^a	3.40 ^b	3.78 ^b	3.27 ^b	7.35 ^a	3.47 ^b	6.86 ^a
(−)-trans-caryophyllene	NS	0.20	tr	0.15	0.14	0.13	0.13	0.20	tr	0.15	0.14	0.13	0.13

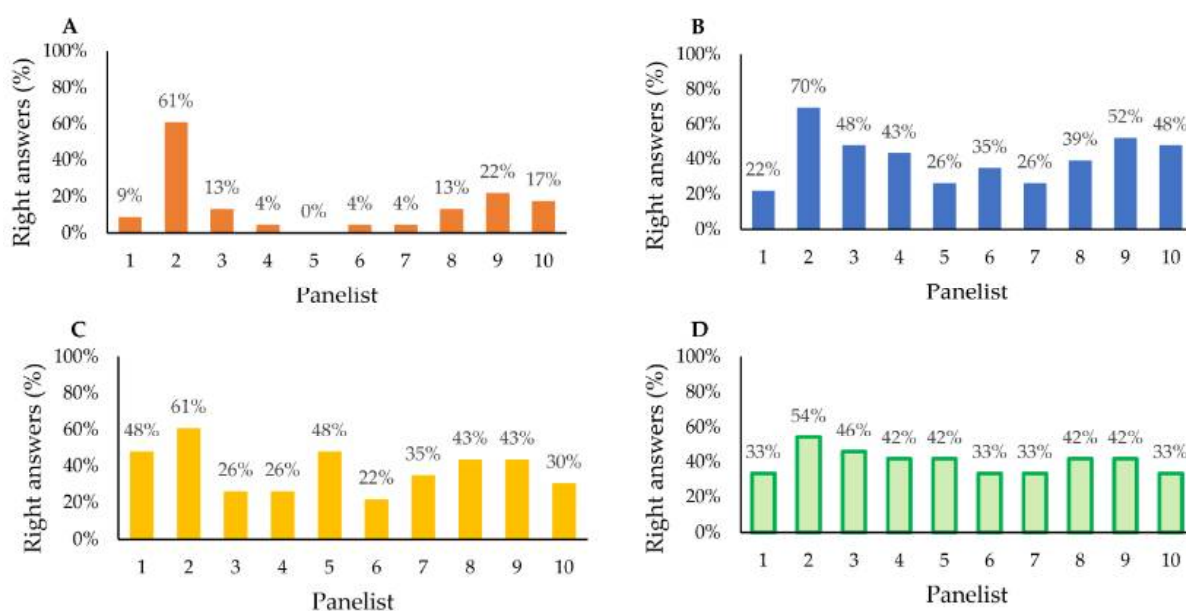
Values followed by the same letters within a row are not statistically different in Tukey's test and one-way analysis of variance. ¹ NS—not statistically different; * Significant at $p < 0.05$; ² tr—presence $< 0.05\%$.

Tabela 4. Udział enancjomerycznych ZLPS w analizie ciekiego roztworu EO i analizy HS-SPME źródłowego materiału roślinnego mięty o chemotypie mentolowym (2) (Łyczko, Kiełtyka-Dadasiewicz, Issa-Issa, et al., 2023)

Compound	ANOVA ¹	F						[%]					
		40		55		40		55		40		55	
		EOs	SPME	EOs	SPME	EOs	SPME	EOs	SPME	EOs	SPME	EOs	SPME
α-(−)-pinene	*	0.39 ^a	tr ³	0.48 ^a	0.10 ^b	0.44 ^a	0.05 ^b	0.36 ^a	0.10 ^b	0.45 ^a	0.08 ^b	0.42 ^a	0.05 ^b
α-(+)-pinene	*	0.36 ^a	0.10 ^b	0.45 ^a	0.08 ^b	0.42 ^a	0.05 ^b	0.52 ^a	0.20 ^b	0.66 ^a	0.20 ^b	0.52 ^a	0.12 ^b
(+)-sabinene	*	0.52 ^a	0.20 ^b	0.66 ^a	0.20 ^b	0.52 ^a	0.12 ^b	0.20 ^{ab}	0.29 ^a	0.25 ^a	0.06 ^c	0.19 ^b	tr
(−)-sabinene	*	0.20 ^{ab}	0.29 ^a	0.25 ^a	0.06 ^c	0.19 ^b	tr	0.60 ^a	tr	0.72 ^a	0.12 ^b	0.67 ^a	0.07 ^b
β-(+)-pinene	*	0.60 ^a	tr	0.72 ^a	0.12 ^b	0.67 ^a	0.07 ^b	0.50 ^a	0.26 ^b	0.62 ^a	0.15 ^b	0.57 ^a	0.07 ^c
β-(−)-pinene	*	0.50 ^a	0.26 ^b	0.62 ^a	0.15 ^b	0.57 ^a	0.07 ^c	0.86 ^a	tr	0.44 ^b	0.81 ^a	0.39 ^b	0.41 ^b
(−)-limonene	*	0.86 ^a	tr	0.44 ^b	0.81 ^a	0.39 ^b	0.41 ^b	0.06 ^b	2.47 ^a	tr	0.11 ^b	tr	0.08 ^b
(+)-limonene	*	0.06 ^b	2.47 ^a	tr	0.11 ^b	tr	0.08 ^b	0.39 ^c	0.32 ^c	0.38 ^c	0.65 ^b	0.40 ^c	0.81 ^a
(−)-linalool	*	0.39 ^c	0.32 ^c	0.38 ^c	0.65 ^b	0.40 ^c	0.81 ^a	64.40 ^a	30.64 ^c	67.28 ^a	39.56 ^b	67.74 ^a	32.77 ^c
(−)-menthone	*	64.40 ^a	30.64 ^c	67.28 ^a	39.56 ^b	67.74 ^a	32.77 ^c	5.14 ^a	4.38 ^{ab}	4.74 ^{ab}	4.34 ^b	5.08 ^{ab}	5.07 ^{ab}
(+)-isomenthone	*	5.14 ^a	4.38 ^{ab}	4.74 ^{ab}	4.34 ^b	5.08 ^{ab}	5.07 ^{ab}	0.43 ^b	6.61 ^a	0.25 ^b	0.31 ^b	0.36 ^b	0.43 ^b
(+)-terpinen-4-ol	*	0.43 ^b	6.61 ^a	0.25 ^b	0.31 ^b	0.36 ^b	0.43 ^b	4.10 ^b	6.12 ^a	1.82 ^d	2.68 ^c	1.75 ^d	3.20 ^c
(−)-terpinen-4-ol	*	4.10 ^b	6.12 ^a	1.82 ^d	2.68 ^c	1.75 ^d	3.20 ^c	15.43 ^c	41.47 ^a	14.87 ^c	29.04 ^b	15.55 ^c	39.02 ^a
(−)-menthol	*	15.43 ^c	41.47 ^a	14.87 ^c	29.04 ^b	15.55 ^c	39.02 ^a	3.55	3.00	3.17	7.35	2.58	4.61
(−)-menthyl acetate	NS	3.55	3.00	3.17	7.35	2.58	4.61	0.16 ^b	0.43 ^b	0.68 ^b	6.19 ^a	0.04 ^b	4.02 ^a
(±)-carvone ²	*	0.16 ^b	0.43 ^b	0.68 ^b	6.19 ^a	0.04 ^b	4.02 ^a	2.49 ^c	3.67 ^b	2.76 ^c	7.89 ^a	2.87 ^c	8.35 ^a
(+)-piperitone	*	2.49 ^c	3.67 ^b	2.76 ^c	7.89 ^a	2.87 ^c	8.35 ^a	0.42 ^b	tr	0.42 ^b	0.35 ^c	0.39 ^{bc}	0.76 ^a
(−)-trans-caryophyllene	*	0.42 ^b	tr	0.42 ^b	0.35 ^c	0.39 ^{bc}	0.76 ^a						

Values followed by the same letters within a row are not statistically different in Tukey's test and one-way analysis of variance. ¹ NS—not statistically different; * Significant at $p < 0.05$; ² since carvone enantiomers were not separated it was not possible to clearly define if the samples contained enantiomers mixture or one enantiomer with 100% of enantiomeric excess; ³ tr—presence $< 0.05\%$.

Badanie rozkładu enancjomerycznego ZLPS posłużyło nie tylko do otrzymania wymiernych danych analitycznych, ale również do przewidywania zapachowej jakości sensorycznej, co zweryfikowaliśmy poprzez przeprowadzenie analiz sensorycznych. Wykwalifikowany zespół składający się z 10 panelistów wykonał cztery testy sensoryczne: (A) parowanie EO ze źródłowym materiałem roślinnym; (B) parowanie EO z chemotypem rośliny z której został pozyskany; (C) parowanie EO z czystymi enancjomerycznymi wzorcami ZLPS i (D) parowanie źródłowego materiału roślinnego z czystymi enancjomerycznymi wzorcami ZLPS. Ogólna efektywność (poprawne parowanie) panelistów wyniosła około 15% dla testu A oraz około 40% dla pozostałych testów (Rysunek 6).



Rysunek 6. Skuteczność parowania próbek podczas panelu sensorycznego (Łyczko, Kiełtyka-Dadasiewicz, Issa-Issa, et al., 2023)

Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że powszechne stosowanie analizy EO jako bezpośredniego wskaźnika jakości ZiP (Asekun et al., 2007; Ghasemi Pirbalouti et al., 2017; Mohammed et al., 2020; Rahimmalek & Goli, 2013; Rohloff et al., 2005) jest – jeżeli nie błędem – to co najmniej nadużyciem. Autorzy przytoczonych publikacji oceniają wybrane aspekty ZiP, takie jak właściwości przeciwutleniające czy zawartość związków toksycznych, i choć kwestie te są bez wątpienia istotne, to nie powinno się ich znaczenia przekładać bezpośrednio na ocenę jakości zapachowej ZiP.

Badania opisane w P.2. i P.3. pokazują, że rozkład enancjomerycznych ZLPS, użyteczny jako jedyny *chemical fingerprint* do pomiarów jakości i zafalszowań, nie powinien być stosowany jako wyznacznik zapachowej jakości sensorycznej. **Jednak co istotniejsze, otrzymane dane wykazują, że aby uzyskać pełen ogląd informacji o badanej próbce, analizę instrumentalną ciekłego roztworu EO, analizę HS-SPME materiału roślinnego i wyniki panelu sensorycznego powinno się połączyć.**



Dotychczas wykazałem, jak istotny wpływ na ocenę jakości materiału roślinnego mają ZLPS i jak ważną kwestią jest ich analiza a obecnie skupię się na opisie celowanego wykorzystania ZLPS. Wraz z zespołem postanowiłem zająć się kolejno wykorzystaniem ZLPS jako markerów fitochemicznych do identyfikacji historycznych formułacji roślinnych oraz zastosowaniem ZLPS jako czynnika użytecznego w regulacji apetytu (C.S.4., C.S.5.).

Surowce roślinne i wytworzone z nich produkty od czasów antycznych są elementem kultury, tradycji i medycyny wielu cywilizacji. By zachować trwałość surowców oraz wykorzystać synergistyczne działanie lecznicze poszczególnych roślin, wytwarzano liczne formułacje ziołowe, które w znacznej mierze opierały się o przygotowanie tynktur i łączenie ich z innymi surowcami, takimi jak żywice roślinne. Naturalne produkty roślinne przetworzone do postaci ziołowych ekstraktów alkoholowych lub żywic często określano mianem balsamów. Należy tu podkreślić, że opisywany powyżej „Balsam Jerozolimski” (BJ) w istocie nie jest żywicą, a mieszaniną różnych ekstraktów i produktów roślinnych, w tym również żywic – balsamów. Do najpopularniejszych balsamów należą: żywica benzoesowa (styraks) pochodząca z drzew z gatunku *Styrax*, balsam z Mataryyi pozyskiwany z roślin *Cammiphora olibanum* oraz *Cammiphora myrrha* Engl., balsam peruwiański pochodzący z drzewa *Myroxylon pereiare* a także tynktury z szalwii (*Salvia officinalis* L.) i dziurawca (*Hypericum perforatum* L.).

W 1719 roku Antonio Menzani di Cuna, mnich z franciszkańskiego klasztoru Najświętszego Zbawiciela w Jerozolimie opublikował recepturę BJ, która uwzględniała następujące składniki: mastyks (*Pistacia Lenticus*), styraks (*Liquidambar orientalis* Mill. (niestety występuje tu zbieżność nazw z drzewami z gatunku *Styrax*), olibanum (drzewa z rodzaju *Boswellia*), ekstrakty alkoholowe z dziurawca (*H. perforatum* L) i mirry (*C. myrrha* Engl.) aloes (*Aloe* sp.), balsam peruwiański, żywicę benzoesową, piżmo (wydzielina piżmowca *Moschus moschiferus*) i ambrę (wydzielina kaszalota *Physeter macrocephalus*) (Kaliora & Kountouri A.M., 2007; Perry & Lev, 2003). Kwestia składu BJ jest dość skomplikowana, ponieważ źródła historyczne z różnych okresów podają nieraz zupełnie odmienne receptury – w archiwach klasztoru franciszkanów oryginalną kompozycję formułacji stanowią tylko cztery składniki (olibanum, aloes, mastyks i mirrę aka balsam z Mataryyi), podczas gdy inne dokumenty wskazują na nawet czterdzieści składników (Amar & Lev, 2005).

Na tereny dzisiejszej Polski BJ trafił w 1860 roku za sprawą pustelnika Johanna Treutlera, który rezydował w Mariańskiej Górze koło Kłodzka (woj. dolnośląskie) (Schnittny, 2015). Treutler po zakupieniu receptury BJ rozpoczął jego produkcję, następnie sprzedając swój produkt jako panaceum. Do dziś w Polsce dostępny jest BJ produkowany głównie w aptekach zakonnych, np. przy wrocławskim klasztorze Bonifratrów. Przy pracy nad realizacją C.S.4., na podstawie przeglądu literatury i przeprowadzeniu analizy ZLPS pięciu BJ (w tym czterech współczesnych) określiłem jakie składniki roślinne zostały prawdopodobnie wykorzystane do produkcji 150-letniego BJ.

Analiza wykazała, że wszystkie BJ znacząco różnią się od siebie pod względem składu jakościowego i ilościowego ZLPS. Wynik ten był zaskakujący, ponieważ deklarowany przez producentów skład surowcowy dwóch próbek – BJ1 oraz BJ3 był identyczny (Tabela 5). Niemniej producenci nie zdeklarowali ilościowego udziału poszczególnych surowców, co mogło wpłynąć na obecność poszczególnych związków lotnych. Łącznie zidentyfikowano 201 związków lotnych we wszystkich BJ. W próbkach BJ1, BJ2 i BJ3 głównymi związkami lotnymi były monoterpény, monoterenoidy oraz estry kwasów aromatycznych i krótkołańcuchowych kwasów alifatycznych. Niektóre ze zidentyfikowanych ZLPS mogły posłużyć jako swoiste markery fitochemiczne potwierdzające wykorzystanie surowców podawanych na etykietach BJ. I tak na przykład obecność tlenku bisabololu B może potwierdzić, że do wyprodukowania BJ została wykorzystana *M. chamomilla* (Başer & Gerhard Buchbauer, 2016); menton, limonen, eukaliptol zidentyfikowane wśród ZLPS świadczą o możliwej obecności w składzie produktu *M. piperita* (El-Zaeddi et al., 2016); *p*-cyment, γ -terpinen, tymol mogły pochodzić od *Thymus vulgaris* (Sadowska et al., 2017), a kamfen, borneol, octan bornylu, maaliol, walerenal od *Valeriana* sp. (Başer & Gerhard Buchbauer, 2016).

Tabela 5. Skład BJ deklarowany przez producentów na opakowaniach (pisownia oryginalna)

BJ1	BJ2	BJ3	BJ4	BJ5
<i>Amara</i> tinct. <i>Hippocastani</i> intr. <i>Taraxaci</i> intr. <i>Salviae</i> tinct. <i>Farfarae</i> tinct. <i>Thymi fluidum</i> extr. <i>Chamomillae</i> tinct. <i>Valeriana</i> tinct.	<i>Mentha piperitae</i> folium <i>Tiliae</i> inflorescentia <i>Inulae</i> radix <i>Hyssopi</i> herba <i>Salviae</i> folium <i>Verbasci</i> flos <i>Lichen islandicus</i> <i>Pini gemmae</i> <i>Thymi</i> herba <i>Farfarae</i> folium <i>Althaeae</i> radix <i>Chamomillae</i> extr. <i>Thymi</i> extr.	<i>Amara</i> tinct. <i>Hippocastani</i> intr. <i>Taraxaci</i> intr. <i>Salviae</i> tinct. <i>Farfarae</i> tinct. <i>Thymi fluidum</i> extr. <i>Chamomillae</i> tinct. <i>Valeriana</i> tinct.	Myrrh Olibanum Styx balsam Balsam of Peru	b.d.

BJ4 cechował się prostą recepturą, zbliżoną do tej podawanej przez Amara i Leva (2005) oraz Schnittnyego (2015). BJ4 zawierał charakterystyczne dla krajów Lewantu surowce, jakimi są żywice roślinne. Podobnie jak w przypadku BJ1-BJ3, w próbce BJ4 zidentyfikowano szereg ZLPS, których obecność przemawiała za wykorzystaniem w procesie produkcji surowców podanych na etykiecie. O użyciu balsamu *Styrax* mogą świadczyć zidentyfikowane wśród ZLPS styren, benzaldehyd i wanilina; ester oktylowy kwasu octowego i *n*-oktanol – o zastosowaniu jako składnika balsamu olibanum. Podobnie obecność w analizie ZLPS β -burbonu, β , γ i δ -elemenu potwierdza, że jednym z surowców użytym do produkcji BJ4 była mirra, a estry: benzyłowy kwasu benzoowego i etylowy kwasu cytrynowego wskazują na prawdopodobne wykorzystanie balsamu peruwiańskiego.



W próbie BJ5 zidentyfikowałem następujące ZLPS: styren, benzaldehyd, alkohol benzylowy, wanilina, kwas benzoesowy i jego pochodne (m.in. ester benzylowy kwasu benzoesowego) kwas cynamonowy i jego pochodne: ester cynamonowy kwasu cynamonowego oraz ester etylowy kwasu cynamonowego, β -burbonen, cembren. Analiza wykazała również obecność bardziej pospolicie występujących związków takich jak menton, limonen, eukaliptol czy β -tujon. Na podstawie wyników analiz BJ1-BJ4 oraz danych literaturowych przytoczonych w Tabeli 6 zaproponowałem listę potencjalnych surowców wykorzystanych do wytworzenia BJ5.

Tabela 6. Dopasowanie zidentyfikowanych w BJ ZLPS do potencjalnych surowców wykorzystanych do wytworzenia formacji

Zidentyfikowane ZLPS	Potencjalne źródło
Styren, benzaldehyd, alkohol benzylowy, wanilina	Żywica benzoesowa (<i>Styrax</i> spp.)
Kwas benzoesowy i jego pochodne (m.in. ester benzylowy kwasu benzoesowego), kwas cynamonowy i jego pochodne (m.in. ester cynamonowy kwasu cynamonowego oraz ester etylowy kwasu cynamonowego)	Balsam peruwiański (<i>M. pereiare</i>)
β -Burbonen	Mirra (<i>C. myrrha</i> Engl.)
Cembren	Olibanum (<i>Boswellia</i> spp.)
Menton, limonen, eukaliptol	Mięta (<i>M. piperrita</i>)
β -Tujon	Piolun (<i>Artemisia abshintum</i>) / szalwia (<i>S. officianlis</i>)

Opierając się na pracach Amara i Leva (2005) oraz Schnittnyego (2015) założyłem, że do produkcji BJ5 mogły posłużyć surowce: balsam peruwiański, żywica benzoesowa, olibanum, mastyks oraz mirra. Według Tabeli 6 udało mi się z wysokim prawdopodobieństwem potwierdzić obecność dwóch z nich: żywicy benzoesowej i balsamu peruwiańskiego. Silną przesłanką przemawiającą za tym, iż do produkcji BJ5 została wykorzystana mirra jest obecność β -burbonenu, jednak brakuje innych charakterystycznych dla mirry związków. Ciekawa jest kwestia olibanum, gdyż próbka BJ5 nie zawierała estru oktylowego kwasu octowego lub *n*-oktanolu, które byłyby dowodem na wykorzystanie tego surowca do przygotowania BJ, niemniej gruntowny przegląd literaturowy ujawnił, że rośliny z rodzaju *Boswellia* mogą charakteryzować się obecnością cembrenu przy jednoczesnym braku estru oktylowego kwasu octowego lub *n*-oktanolu. Wyciągnąłem więc wniosek, że jako surowiec wykorzystano mniej charakterystyczną odmianę olibanum. Nie udało się potwierdzić wykorzystania mastyksu, a ponadto zidentyfikowano ZLPS charakterystyczne dla bardziej popularnych roślin, jak na przykład mięta czy szalwia, które mogły znaleźć się w recepturze BJ5 jako składniki dodatkowe.

Ostatnią kwestią, jaką poruszam w ramach prezentowanego osiągnięcia jest możliwość wykorzystania ZLPS jako czynnika oddziałującego na organizm ludzki (C.S.5.). W najnowszych



badaniach skupiłem się na występujących w żywności ZLPS, które mogą być wykorzystane w roli regulatorów apetytu. Badania te są elementem prac prowadzonych w ramach grantu przyznanego mi przez NCBR w konkursie Lider XI. **Pomysł projektu, jego założenia i hipotezy były mojego własnego autorstwa. Ponadto w tym przypadku samodzielnie stworzyłem koncepcję interdyscyplinarnego zespołu i zaprosiłem doświadczonych badaczki i doświadczonych badaczy do współpracy.** W ramach tego projektu skupiłem się na opracowaniu środków stymulujących apetyt dla osób starszych (65+) oraz środków redukujących apetyt dla osób z nadwagą i otyłością ($BMI \geq 25$). Praca **P.5.**, w której została przedstawiona część wyników projektu jest pierwszą publikacją z pomniejszego cyklu *Natural Appetite Control*.

Apetyt jest jednym z kluczowych czynników determinujących możliwości kontroli i korekty masy ciała, w szczególności dla osób borykających się z problemami w tej materii. Dwie najważniejsze a ponadto stale powiększające się grupy zagrożone problemami związanymi z nieprawidłową masą ciała to osoby starsze i osoby z nadwagą i otyłością. Pierwsza, z tych grup stanowi obecnie 28% populacji ogółnoświatowej, zaś druga to łącznie 51% populacji ogółnoświatowej (*World Health Organisation, 2021a; World Health Organisation, 2021b*).

Problemy z apetytem, czyli psychologiczną potrzebą jedzenia, mogą wynikać z kilku przyczyn. Jedną z nich jest zaburzenie funkcjonowania neuronów *agouti-related peptide (AgPR)*, których aktywność pobudzana jest, kiedy organizm identyfikuje braki energetyczne. W takiej sytuacji neurony AgPR indukują nieprzyjemne odczucia związane z głodem (np. uczucie ssania w żołądku). Ponadto potrzebę jedzenia można powiązać z działaniem podwzgórza – a dokładniej jego częścią nazywaną *lateral hypothalamus (LH)*, w której znajduje się ośrodek satysfakcji i nagrody. Spożycie posiłku stymuluje LH, co z kolei wpływa na terminację poczucia głodu i apetytu (Andermann & Lowell, 2017; Betley et al., 2015; Sternson & Eiselt, 2017). Zaburzone lub mało efektywne funkcjonowanie wymienionych struktur może powodować, że mimo iż organizm nie zgłasza deficytu kalorycznego, czyli nie występuje fizjologiczne zjawisko łaknienia, to apetyt pozostaje wzmożony. Odwrotna sytuacja występuje u osób z osłabionym apetytem – mimo tego, że organizm wykazuje zapotrzebowanie na energię, co powinno skutkować pobudzeniem fizjologicznego uczucia łaknienia, człowiek nie odczuwa psychicznej potrzeby spożywania pokarmów.

Aby regulować poczucie apetytu, zarówno w intencji zwiększenia go jak i zmniejszenia, konsumenci mogą sięgnąć po różne środki dostępne na rynku. Dla osób, których intencją jest redukcja masy ciała od niedawna dostępne są leki o potencjale obniżającym spożycie pokarmów. Są to dwa środki – Saxenda® lek zawierający liraglutyd (analog peptydu GLP-1, którego wydzielanie wpływa na aktywność neuronów AgPR) oraz Mysimba®, lek zawierający bupropion i naltrekson (cząsteczki wpływające na aktywność ośrodka LH). Te dwie propozycje to rozwiązania o potwierdzonym działaniu, jednak znaczącą wadą obu jest ich cena. Koszt leczenia środkiem Saxenda® to około 1100,00 zł miesięcznie, a środkiem Mysimba® to około 450,00 zł miesięcznie; oba leki nie podlegają refundacji w Polsce. Poza tymi środkami



istnieją różne suplementy diety (Dietfactor®, Fatoslimin®) reklamowane jako wspomagające redukcję masy ciała, jednak ich skuteczność jest wysoce wątpliwa i niepotwierdzana rzetelnymi badaniami. Trzecią ścieżką dla osób zmagających się z nadmierną masą ciała jest bardzo inwazyjny zabieg – operacja bariatryczna. Problem przeciwny, jaki stanowi zanik apetytu, również może być niwelowany za pomocą środków farmaceutycznych. Dwa najbardziej powszechne leki proponowane osobom borykającym się z tym problemem to syntetyczne preparaty steroidowe – Anavar®, którego substancję czynną stanowi oksandrolon i Megace® – preparat zawierający octan megestrolu. Obydwa wymienione związki czynne są syntetycznymi steroidami, które nie występują naturalnie w organizmie człowieka. Leki te, mimo znaczącej efektywności mogą powodować dokuczliwe skutki uboczne w postaci cholestatycznego zapalenia wątroby, żółtaczki, zastoinowej niewydolności serca u osób z wcześniejszymi problemami z sercem, nerkami i wątrobą, sprzyjają rozwojowi przerostu gruczołu krokowego i raka gruczołu krokowego u pacjentów w podeszłym wieku a także mogą wchodzić w niepożądane interakcje z lekami stosowanymi w leczeniu zakrzepicy żył głębokich i cukrzycy. Biorąc pod uwagę fakt, że często osobami zmagającymi się z brakiem apetytu są osoby starsze lub przewlekle i terminalnie chorujące, wymienione działania niepożądane mogą być nieakceptowalne.

W odpowiedzi na opisane trudności związane z kwestią z regulacji apetytu pojawił się nurt badań, który skupia się na naturalnej regulacji apetytu opartej na stymulacji sensorycznej. Obiecujące doniesienia zaprezentowali Zoon et al. (2016) w pracy, w której udowodnili, że zapach danego rodzaju pożywienia (np. słodki zapach czekolady) może znacząco wzbudzać apetyt na pokarmy o podobnym zapachu lub gęstości energetycznej. Kolejne badania prowadzone przez ten zespół (Morquecho-Campos et al., 2020, 2021) podały jednak w wątpliwość wcześniejsze doniesienia, wykazując że zapachy reprezentujące grupy produktów podzielone względem dostarczanych makroskładników (białka, węglowodany, tłuszcze) nie wpływają znacząco na zwiększenie spożycia kalorycznego. Z kolei jednak badania przeprowadzone przez Ogawę et al. (Ogawa et al., 2018; Ogawa & Ito, 2016, 2019) na modelach zwierzęcych wykazały, że kiedy zapach tworzony jest przez związki zawierające konkretne struktury chemiczne (strukturę fenylopropanoidową, strukturę fenylopropanoidową z łańcuchem alifatycznym lub grupę waniliową) może znacząco stymulować apetyt.

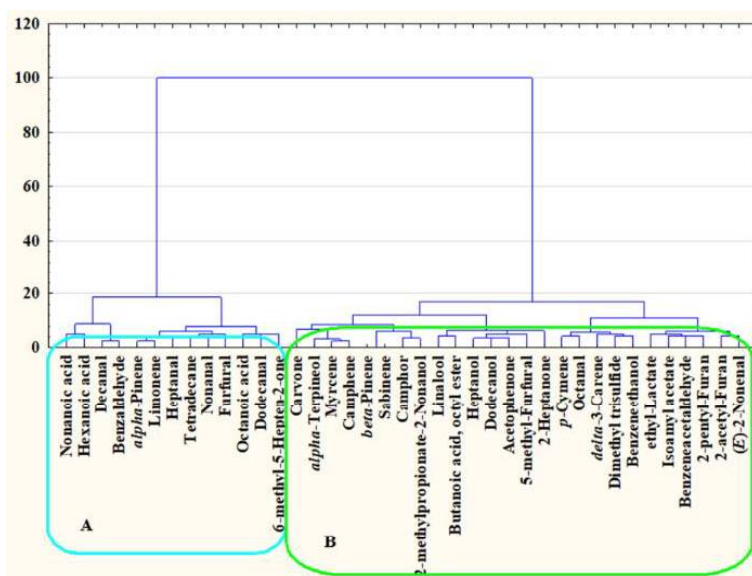
W oparciu o przytoczone doniesienia **postawiłem hipotezę, że istnieje możliwość, że ZLPS tworzące zapachy żywności, która kojarzy się konsumentom z czymś apetycznym albo czymś sycącym mogą zostać wykorzystane w skutecznej, łagodnej regulacji apetytu opartej o działanie na zmysł węchu. Mechanizm tego oddziaływania prawdopodobnie byłby oparty częściowo na reakcji fizjologicznej organizmu wywołanej poprzez wiązanie się cząsteczek ZLPS z receptorami węchowymi, a częściowo na skojarzeniach, przyzwyczajeniach i kulturowych uwarunkowaniach konsumentów.**



Aby zweryfikować powyższą hipotezę, wraz z zespołem przygotowałem trzyetapowy eksperyment. Pierwszą jego częścią było przeprowadzenie ankiety, której celem było ustalenie rodzaju żywności i potraw, jakie mogą mieć wpływ na wzmaganie lub redukcję apetytu konsumentów (treść ankiety dostępna jest w odnośniku w Załączniku 5: Supplementary Materials File S1: Questionnaire). Łącznie odpowiedzi udzieliło 530 respondentów (329 kobiet i 201 mężczyzn) w wieku 18 – 65 lat. Udzielone odpowiedzi były mocno zróżnicowane – jako potencjalnie redukujące apetyt wskazano cały szereg różnych produktów; podobne zjawisko wystąpiło w przypadku produktów mogących apetyt stymulować. Tak znaczne zróżnicowanie wydawało się wynikiem falsyfikującym postawioną przeze mnie hipotezę. Mimo tego kontynuowaliśmy badania przechodząc do drugiego etapu – analizy chemicznej składu ZLPS wydzielanych przez wskazane w ankiecie produkty spożywcze i posiłki.

Wyniki ankiety pozwoliły stworzyć obszerną listę produktów spożywczych i posiłków, wskazanych jako potencjalnie zmniejszające lub zwiększające apetyt (pełna lista jest dostępna w odnośniku w 5, Supplementary Materials File S2: HS-SPME-GC-MS results). Mimo braku widocznych podobieństw między produktami/posiłkami wskazanymi przez respondentów jako możliwie redukujące apetyt, dzięki wykonaniu szczegółowej analizy chemicznej przeprowadzonej za pomocą techniki HS-SPME Arrow wykazaliśmy, że cechą wspólną charakteryzującą wymienione produkty/posiłki jest wydzielanie przez nie pewnych konkretnych i powtarzających się ZLPS. Analogicznie przedstawiała się sytuacja dla grupy posiłków/produktów potencjalnie stymulujących apetyt. Możliwość wyselekcjonowania konkretnych (zestawów) ZLPS o potencjale stymulującym lub redukującym apetyt potwierdziłem za pomocą analizy statystycznej (HCA), której wyniki zaprezentowano na Rysunku 7.

Jako ZLPS o potencjale stymulującym apetyt zidentyfikowaliśmy głównie kwasy organiczne (C_6 , C_8 i C_9), alifatyczne aldehydy (C_7 , C_8 , C_{10} i C_{12}), limonen, furfural, α -pinen, benzaldehyd i 6-metylo-5-heptan-2-on. Nuty zapachowe reprezentowane przez te ZLPS to aromaty serowe i tłuszczowe (kwasy organiczne), ale również cytrusowe i świeże (alifatyczne aldehydy, limonen, 6-metylo-5-heptan-2-on) czy drzewne, kamforowe, piekarnicze i gorzkie (furfural, α -pinen, benzaldehyd). Moje doświadczenie sensoryczne, wsparte analizą literaturową wskazało, że takie zapachy charakteryzujące pożywienie kwaśne albo wypiekane mogą wpływać na intensyfikację pracy ślinianek, a to z kolei może wzbudzać poczucie apetytu (Morris & Tepper, 2021; Murugesu et al., 2015). Z kolei jako ZLPS o potencjale redukującym apetyt zidentyfikowaliśmy estry (np. octan izoamylu), α -terpineol, linalol, β -pinen, kamforę, karwon, 2-acetylofuran, oraz alifatyczne aldehydy i alkohole. Takie związki charakteryzują się nutami owocowymi, kwiatowymi, ziołowymi, balsamicznymi i aldehydowymi.



Rysunek 7 Hierarchiczna analiza skupień (HCA) ZLPS obecnych w różnych rodzajach produktów spożywczych i posiłków w odniesieniu do regulacji apetytu; A - ZLPS powiązane z produktami spożywczymi wskazanymi jako pobudzające apetyt; B - ZLPS powiązane z produktami spożywczymi wskazanymi redukujące apetyt (Łyczko, Godyla-Jabłoński, et al., 2023)

Dzięki otrzymaniu powyższych wyników mogliśmy przystąpić do trzeciego etapu eksperymentu, czyli projektowania prototypów regulujących apetyt. Założyłem, że prototypy będą opracowane na podstawie aromatów spożywczych i/lub EO, które będą fortyfikowane ZLPS wskazanymi w HCA jako redukujące lub stymulujące apetyt. Jako bazowy aromat prototypu dobieraliśmy te zapachy, które uzyskały w ankietach najwięcej wskazań. Przygotowaliśmy kilkadziesiąt prototypów, zarówno o potencjale stymulującym jak i redukującym apetyt, spośród których 26 wybraliśmy do oceny przez panel sensoryczny. 10 panelistów (6 kobiet i 4 mężczyzn w wieku 28-51 lat) wskazało, że dwanaście z prezentowanych prototypów wykazuje potencjał do stymulacji apetytu, 4 do redukcji apetytu; 10 prototypów nie uzyskało żadnej wyraźnej kwalifikacji.

Na podstawie tego trzyetapowego eksperymentu wykazałem, że mimo bardzo indywidualnej percepcji konsumentów istnieje możliwość opracowania środków, które będą miały potencjał łagodnej regulacji apetytu. Planuję kontynuować te badania, tak aby finalnie opracować środek stymulujący apetyt i środek redukujący apetyt, które będą wpływały na dzienne spożycie kalorii w zakresie 4-7%. Taka regulacja, w połączeniu z aktywnością fizyczną i odpowiednią dietą może być efektywnym wspomaganie procesu regulacji masy ciała. Spośród szeregu opracowanych mieszanin ZLPS o potencjale do regulacji apetytu sześć zostało zgłoszonych do ochrony patentowej (P.445245; P.445246; P.445247; P.445248; P.445251 i P.445252).



4.3.5. Wnioski

Fundamentem badań przedstawionych przeze mnie w prezentowanym cyklu publikacji było skupienie się na postawieniu szczegółowych założeń i dobór odpowiednich dla tych założeń technik analitycznych dotyczących ZLPS dotyczących ZLPS występujących w produktach spożywczych. Wykazałem, że odnosząc się do konkretnych właściwości ZLPS poszerza się ich znaczenie w badaniu jakości surowców i produktów spożywczych, a ponadto zweryfikowałem jakie warunki analityczne powinny być zachowane aby uzyskane wyniki dotyczące jakości, w tym jakości sensorycznej, produktów spożywczych były pełne i rzetelne. Ostatecznie wskazałem, że oddziaływanie sensoryczne ZLPS obecnych w żywności nie tylko odnosi się do hedonistycznej wartości produktów spożywczych, ale jest także w stanie umożliwić potencjalne, kierunkowe wykorzystanie ZLPS, na przykład w regulacji apetytu.

Szczegółowe efekty moich badań to wykazanie, że:

1. Traktowanie ZLPS jako jednolitej grupy związków prowadzi do niewłaściwej interpretacji wyników analiz związanych z optymalizacją procesów technologicznych, którym poddawane są rośliny. **Dopiero podział ZLPS na charakterystyczne grupy lub monitorowanie poszczególnych ZLPS umożliwia rzetelną weryfikację jakości uzyskanego produktu w kontekście jego przeznaczenia.** Bez zdefiniowania szczegółowego przeznaczenia ZiP (np. zachowanie największej zawartości olejku eterycznego, zachowanie najwyższych właściwości przeciwutleniających czy zachowanie najlepszych właściwości aromatyzujących) istnieje ryzyko uzyskania produktu, który tylko pośrednio będzie spełniał szczegółowe wymagania konsumentów i producentów.
2. ZLPS są kluczowym elementem w ocenie jakości zapachowej ZiP, jednak sama ocena zawartości ZLPS jest niewystarczającym parametrem w ocenie sensorycznej zapachu. Najistotniejsze jest wydzielenie ZLPS z materiału roślinnego, bowiem to jedynie wydzielone cząsteczki docierają do konsumentów tworząc konkretny zapach. Szczegółowo wykazałem, że skład EO rośliny nie przekłada się na rozkład wydzielanych ZLPS, a także że rozkład enancjomeryczny ZLPS ma nieznaczny wpływ na przewidywanie jakości zapachowej materiału roślinnego. Ponadto wyniki mojej pracy wskazują, że analiza ciekłego roztworu EO, HS-SPME materiału roślinnego i ocena panelu sensorycznego powinny być ze sobą łączone aby dać pełną informację o badanej próbce. **Zastosowanie jednej, wybranej procedury analitycznej ZiP nie jest błędnym założeniem – błędem jest stosowanie tej analizy jako uniwersalnego wyznacznika jakości dla przebadanego materiału roślinnego. Kolejne badania pozwolą na weryfikację tego wniosku w przełożeniu na inne grupy surowców.** Ponadto duże znaczenie występowania i stosunku poszczególnych enancjomerów optycznych ZLPS w analizie pochodzenia i zafalszowań produktów spożywczych nie ma swojego odzwierciedlenia w analizie sensorycznej zapachu ZiP. Przeprowadzone przeze mnie badania wykazały, że wykwalifikowany panel sensoryczny nie jest w stanie dywersyfikować



próbek, których zapach skomponowany jest z mieszaniny różnych związków, które występują jako enancjomery optyczne. **Zakładam, że oznacza to, iż mimo tego, że poszczególne enancjomery optyczne danego ZLPS różnią się charakterem zapachu, to ludzki aparat węchu nie jest w stanie odnotować tych różnic dla złożonych mieszanin ZLPS.**

3. ZLPS obecne w produktach pochodzenia roślinnego poza wykazywaniem różnych aktywności biologicznych (właściwości przeciwdrobnoustrojowe, właściwości przeciwutleniające i inne) oraz wpływem na jakość sensoryczną mogą stanowić swoiste markery fitochemiczne, służące do identyfikacji surowców wykorzystanych do produkcji danego wyrobu. **Poparcie analizy chemicznej szczegółowym przeglądem literaturowym pozwala na wysoce prawdopodobną identyfikację głównych surowców, dzięki czemu możliwe jest jakościowe odtwarzanie nieznanymi lub utraconymi receptur formułacji roślinnych.**
4. ZLPS, które tworzą aromat pożywienia mogą być też wykorzystane jako czynniki regulacji apetytu, szczególnie u osób starszych i osób z nadwagą i otyłością. **Zastosowanie odpowiednich metod analitycznych pozwoliło wyselekcjonować ZLPS o potencjale stymulującym apetyt oraz ZLPS o potencjale redukującym apetyt, a następnie z wykorzystaniem wybranych ZLPS# (lub/i związków lotnych identycznych z ZLPS) opracowywać prototypy środków regulujących apetyt.**

Wyniki weryfikacji hipotez postawionych przeze mnie dla opisanego osiągnięcia przedstawiono w Tabeli 7.



Tabela 7 Przegląd stanu weryfikacji hipotez badawczych

Hipoteza	Potwierdzenie	Komentarz
ZLPS mogą być wyznacznikiem jakości produktów roślinnych uzyskiwanych w procesach technologicznych, jednak z uwagi na zróżnicowanie zachowania się poszczególnych składników mieszaniny ZLPS konieczne jest określenie kontekstu oceny jakości (P.1.).	pełne	-
ZLPS mają wpływ na jakość sensoryczną ZiP, jednak kluczowa dla tej jakości sensorycznej jest efektywność uwalniania ZLPS z materiału roślinnego, a nie sama obecność ZLPS w materiale roślinnym. Ponadto rozkład enancjomeryczny poszczególnych ZLPS ma wpływ na jakość sensoryczną ZiP (P.2. i P.3.)	częściowe	Obecność materiału roślinnego wpływa na wydzielanie ZLPS i rzeczywiste ma znaczenie dla oceny zapachowej jakości sensorycznej ZiP. Badania wykazały jednak, że rozkład enancjomeryczny poszczególnych ZLPS tworzących zapach ZiP nie ma istotnego znaczenia dla tej jakości. Wobec tego, mimo że rozkład enancjomeryczny ZLPS wielokrotnie uznawany jest słusznie za czynnik determinujący geograficzne pochodzenie próbek czy marker w oznaczaniu zafalszowań EO, to nie jest odpowiednim markerem do przewidywania zapachowej jakości sensorycznej ZiP.
ZLPS obecne w produktach pochodzenia roślinnego poza wykazywaniem aktywności biologicznych (właściwości przeciwdrobnoustrojowe, właściwości przeciwtleniające i inne) oraz wpływem na jakość sensoryczną mogą stanowić swoiste markery fitochemiczne służące do identyfikacji surowców wykorzystanych do produkcji danego wyrobu. Poparcie analizy chemicznej szczegółowym przeglądem literaturowym, pozwala na wysoce prawdopodobną identyfikację głównych surowców, dzięki czemu możliwe jest odtwarzanie nieznanych lub utraconych, jakościowych receptur formułacji roślinnych.	częściowe	ZLPS obecne w produktach spożywczych, w tym w suplementach diety, mogą zostać wykorzystane jako markery fitochemiczne do identyfikacji potencjalnych surowców wykorzystanych do opracowania danej formułacji. Niemniej z uwagi na wielorakość związków lotnych połączoną z bogactwem surowców roślinnych w których mogą one występować, konieczne jest połączenie analizy instrumentalnej z dogłębną analizą literaturową aby zwiększyć prawdopodobieństwo prawidłowej identyfikacji potencjalnych surowców.
ZLPS mają potencjał do moderowania apetytu (zarówno stymulacji jak i redukcji) poprzez samą obecność wybranych ZLPS, a nie charakterystykę zapachu, który te ZLPS tworzą (P.5.).	pełne	-



Inne osiągnięcia

Poza przedstawioną dotychczas aktywnością moja działalność naukowa skupia się również na innych aspektach badawczo-analitycznych dotyczących zarówno związków lotnych jak i nielotnych. Większość moich osiągnięć została przedstawiona w postaci publikacji naukowych w renomowanych czasopismach międzynarodowych. Obecnie (stan na 22.10.2023) jestem współautorem 41 oryginalnych prac naukowych, 1 pracy przeglądowej oraz 1 rozdziału w monografii, a także samodzielnym autorem 1 rozdziału w monografii. Ponadto brałem udział w licznych badaniach, których efektem były zgłoszenia patentowe, udzielone patenty czy wdrożone *know how*. Spośród tych osiągnięć postanowiłem opisać te, w których mój wkład był najistotniejszy, a ich efekty najbardziej wymierne i użyteczne, zaś ich związek z dyscypliną technologia żywności i żywienia jest bezpośredni lub przynajmniej pośredni:

- 1) identyfikacja optymalnego składu kluczowych związków zapachowych *Lavandula angustifolia* Mill.;
- 2) udział w weryfikacji możliwości stosowania mikropropagacji w hodowli roślin przyprawowych;
- 3) identyfikacja dotąd nieznanymi dla rośliny przyprawowej *Kelussia odoratissima* Mozaff. kwasów fenolowych oraz flawonoidów oraz udział w opracowaniu strategii identyfikacji związków ftalidowych obecnych w *K. odoratissima*;
- 4) opracowanie koncepcji projektu innowacyjnego podłoża ogrodniczego do uprawy ziół i roślin leczniczych oraz weryfikacja jego użyteczności;
- 5) opracowanie metody izolacji i analizy furanokumaryn obecnych w produktach wytworzonych z *Heracleum sosnowskyi*.

Pierwszym znaczącym osiągnięciem w mojej karierze naukowej była realizacja pracy doktorskiej. W ramach swoich badań skupiłem się na poszukiwaniu optymalnych metod suszenia dla roślin przyprawowych oraz farmakopealnych. Wśród wybranych przeze mnie roślin znalazły się lawenda lekarska (*L. angustifolia* Mill.; liście i kwiaty), bazylija tajska (*Ocimum basilicum* var. *thyrsiflora*; ziele) oraz kolendra (*Coriandrum sativum* L.; ziele).

Mimo że zespół pod kierownictwem prof. dr. hab. inż. Antoniego Szumnego (ówcześnie prof. uczelni) zajmował się już wcześniej badaniami związanymi z doбором odpowiednich metod suszenia materiałów roślinnych (Calín-Sánchez et al., 2013; Politowicz et al., 2018; Szumny et al., 2010), to zaproponowany przeze mnie plan badawczy różnił się od wcześniej ustalanych założeń. Wczesniejsze prace obejmowały stosowanie różnych metod suszenia (CD, VMD, CPD-VMFD, liofilizacja) oraz ocenę ich wpływu na ogólną zawartość EO w suszonych produktach i ocenę wpływu suszenia na jakość sensoryczną produktów, podczas gdy hipotezy i założenia, które w toku prac badawczych samodzielnie



stawiałem, dotyczyły nie tylko doboru optymalnej metody suszenia dla wybranych roślin, ale także dogłębnej analizy w poszukiwaniu przyczyn, z powodu których część suszonych produktów została oceniona gorzej niż inne pod względem jakości sensorycznej. Na potrzeby niniejszego autoreferatu przedstawię najważniejsze z osiągnięć, którego dokonałem w ramach pracy doktorskiej – identyfikację optymalnego składu EO z lawendy.

Za najważniejsze składniki aromatotwórcze lawendy uznaje się linalol oraz octan linalilu, natomiast duże ilości eukaliptolu, kamfory oraz borneolu mają negatywny wpływ na aromat lawendy, nadając mu niepożądane żywiczne i zielone nuty zapachowe. Ponieważ w liściach lawendy obserwuje się wysokie zawartości związków pogarszających jej aromat, uznawane są one za surowiec o niskiej wartości użytkowej. Prowadzone przeze mnie prace wykazały, że zastosowanie suszenia (szczególnie CD w temperaturze 60 °C) obniża udział niepożądanych składników w fazie gazowej, a także zwiększa w niej udział procentowy linalolu i octanu linalilu. Wynik ten może bezpośrednio przełożyć się na zwiększenie użyteczności surowca jakim są liście lawendy. Wyniki tych badań zostały przedstawione w publikacji:

Lyczko, J.*, Jalożyński, K., Surma, M., Masztalerz, K., & Szumny, A. (2019). HS-SPME Analysis of True Lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) Leaves Treated by Various Drying Methods. *Molecules*, 24(4), 764. <https://doi.org/10.3390/molecules24040764>

Mój wkład w przygotowanie tej publikacji obejmował opracowanie planu badawczego, hipotez, analizę i interpretację danych, opracowanie wyników, przygotowanie wstępnej wersji manuskryptu oraz wprowadzenie korekt po recenzjach a także wyciągnięcie wniosków.

Następne przeprowadzone przeze mnie badania lawendy dotyczyły jej kwiatów. Kwiaty lawendy są często stosowanym materiałem aromatyzującym oraz stanowią główne źródło olejku lawendowego, który wykorzystywany jest w przemyśle spożywczym, kosmetycznym i farmaceutycznym. Postanowiłem jednak zaprojektować badania w odmienny sposób niż w przypadku badania liści lawendy – uzupełniłem plan badań o szczegółową analizę sensoryczną. Wyniki uzyskane po przeprowadzeniu oceny sensorycznej wskazały metody suszarnicze, które uzyskują najlepszą ocenę panelistów. Wykonane eksperymenty pozwoliły także powiązać wybór panelistów z określonym składem chemicznym produktu. Na etapie projektowania badań założyłem, że poszukiwana będzie metoda suszarnicza pozwalająca odzyskać największe ilości linalolu oraz octanu linalilu. Analiza danych wykazała jednak, że najlepszą oceną uzyskały nie te próbki, w których obu składników jest najwięcej, ale te, w których fazie gazowej jest zachowany stosunek linalol:octanu linalilu 1 : 2. Uzyskane wyniki dobrze ukazują, jak złożonym problemem jest suszenie roślin leczniczych i przyprawowych. Biorąc pod uwagę największy odzysk EO ogółem wobec kwiatów lawendy powinno się stosować CD w 50 °C, jeżeli jednak głównym celem byłoby uzyskanie produktu o zawartości procentowej głównych składników aromatotwórczych 1:2, korzystne jest oprócz CD w 50 °C wykorzystanie suszenia VMD przy mocy 360 W lub CPD-VMFD. Wyniki tych badań zostały ujęte w publikacji:



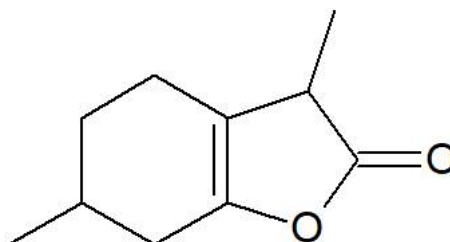
Łyczko, J.*, Jąłoszyński, K., Surma, M., García-Garví, J.-M., Carbonell-Barrachina, A. A., & Szumny, A. (2019). Determination of various drying methods' impact on odour quality of true lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) flowers. *Molecules*, 24(16), 2900. <https://doi.org/10.3390/molecules24162900>

Mój wkład w przygotowanie tej publikacji obejmował opracowanie planu badawczego, hipotez, analizę i interpretację danych, opracowanie wyników, przygotowanie wstępnej wersji manuskryptu oraz wprowadzenie korekt po recenzjach a także wyciągnięcie wniosków.

Swoje umiejętności analityczne wykorzystałem również podczas przeprowadzania prac związanych ze stosowaniem mikrorozmnażania roślin aromatycznych z wysoką zawartością ZLPS. Pozyskiwanie materiału roślinnego o ustabilizowanych cechach genotypowych i fenotypowych przyczynia się do optymalizacji wyników upraw przemysłowych. Na uprawy prowadzone w warunkach polowych mają wpływ rozmaite czynniki, począwszy od jakości gleby, warunków pogodowych i zabiegów agrotechnicznych, aż po naturalną zmienność genetyczną i chemotypową (Başer & Gerhard Buchbauer, 2016; Raghavan, 2007). Znormalizowanie upraw poprzez stosowanie kultur *in vitro*, również w przypadku mięty, pozwoliłoby na uzyskiwanie satysfakcjonującego i stabilnego plonu oraz otrzymanie roślin o atrakcyjnym przemysłowo profilu i zawartości ZLPS (Santoro et al., 2013).

W zaplanowanym badaniu wykorzystaliśmy jeden z najpopularniejszych gatunków mięty – *Mentha piperita* L. Główne ZLPS charakteryzujące ten gatunek to mentol, karwon, octan mentylu, menton, limonen i eukaliptol (Łyczko, Kiełtyka-Dadasiewicz, Skrzyński, et al., 2023), zaś celem tego badania była weryfikacja wpływu różnych regulatorów wzrostu na przebieg upraw *in vitro*. Zbadano cztery rodzaje podłoży suplementowanych (MS Murashige & Skoog, 1962), w których jako regulatory wzrostu wykorzystaliśmy 1) kwas indolilo-3-butyrowy (IBA), 2) 6-benzyloadenionopurynę (BA), 3) mieszaninę BA / kwas indolilo-3-octowy (IAA), 4) mieszaninę 2-izopentyl adeniny (2iP) / IAA.

Stosowanie regulatorów wzrostu istotnie skróciło czas namnażania roślin w kulturach *in vitro*. Analiza ZLPS, za którą byłem odpowiedzialny wykazała 53 związki, spośród których zidentyfikowałem 51. Największy udział w profilu ZLPS roślin pochodzących z hodowli *in vitro* miała mieszanina limonenu i eukaliptolu, przy jednoczesnym niskim stężeniu karwonu i braku mentolu oraz mentonu. Był to zaskakujący wynik z uwagi na to, że karwon, mentol i menton są zazwyczaj najbardziej charakterystycznymi ZLPS występującymi w mięcie pieprzowej (Ludwiczuk et al., 2016). Ponadto zidentyfikowałem interesujący z uwagi na właściwości zapachowe związek – mentofurolakton (Rysunek 8). Jego zapach jest opisywany jako silny, fenolowo-miętowy i przyjemnie kumarynowy (Picard et al., 2017; *The Good Scents Company*, 2023). Mentofurolakton występuje naturalnie w EO z mięty pieprzowej, jednak nie w znacznych ilościach. Dla próbek pochodzących z hodowli z dodatkiem mieszaniny 2iP - IAA udział mentofurolaktonu w profilu ZLPS sięgał nawet 19.37%.



Rysunek 8. Mentofuroolakton

Identyfikacja ZLPS w kulturach *in vitro* mięty nie należy do łatwych zadań, ponieważ o ile ten sposób hodowli przedstawia sobą liczne zalety, szczególnie w wymiarze stabilizacji upraw, o tyle może też prowadzić do uzyskania roślin o nietypowym profilu ZLPS. Tak nieprzewidywalny skład ZLPS roślin aromatycznych wymaga od badającego znacznych umiejętności i doświadczenia w zakresie analizy produktów roślinnych, w tym ZiP. Pełne wyniki tych badań zaprezentowano w pracy:

Łyczko, J., Piotrowski, K., Kolasa, K., Galek, R., & Szumny, A. (2020). *Mentha piperita* L. micropropagation and the potential influence of plant growth regulators on volatile organic compound composition. *Molecules*, 25, 2652.

*Mój wkład w przygotowanie tej publikacji obejmował analizę i interpretację danych, opracowanie wyników, udział w przygotowaniu wstępnej wersji manuskryptu oraz wprowadzenie korekt po recenzjach a także wyciągnięcie wniosków związanych z przemianami chemicznymi zachodzącymi podczas uprawy mięty *in vitro*.*

Inną rośliną wykorzystywaną przyprawowo i leczniczo, której analizę przeprowadziłem, była występująca endemicznie w Iranie – *Kelussia odoratissima* Mozaff. *Kelussia* (brak odpowiednika w języku polskim) cechuje się przyjemnym, słodkim zapachem, wobec czego jest często używana do aromatyzowania potraw, zwłaszcza, że dodatkowo charakteryzuje się silnymi właściwościami przeciwutleniającymi, przeciwzapalnymi i obniżającymi ciśnienie. Roślina ta nie jest jednak szerzej poznana, a jej badaniem zajmują się głównie irańskie zespoły badawcze. Możliwość badania *K. odoratissima* była wynikiem współpracy z prof. Mehdim Rahimmalek, z którym wcześniej pracowałem w ramach programu ULAM 2021 (NAWA).

Wraz z zespołem przeprowadziłem analizę składu chemicznego *K. odoratissima*. Badania dotyczyły zarówno frakcji związków lotnych jak i nielotnych. Wykorzystując techniki hydrodestylacji aparatem Derynga, HS-SPME, LC-MS/MS oraz GC-MS oznaczyliśmy szeroką pulę związków, z których część zidentyfikowana została po raz pierwszy. Za swój główny sukces w zakresie analizy związków nielotnych uważam identyfikację kwasów fenolowych i flawonoidów obecnych w *K. odoratissima*. We wcześniejszych badaniach (Ebrahim Sajjadi et al., 2012) wśród kwasów fenolowych oznaczono jedynie kwas ferulowy, podczas gdy moja analiza pozwoliła na identyfikację siedmiu kolejnych kwasów



fenolowych. Z kolei poprzednie badania flawonoidów wykazały obecność kilku związków, w tym diosminy, rutyny i kwercetyny. Wykonane w naszym zespole analizy pozwoliły mi dodatkowo zidentyfikować wcześniej nieoznaczoną wśród związków obecnych w *K. odoratissima* – neohesperederynę.

Analiza związków lotnych w *K. odoratissima* zaowocowała identyfikacją aż 78 ZLPS, w tym licznej grupy ftalidów. Szczegółowa analiza wyników rozpadu masowego następującego w efekcie jonizacji związków umożliwiła potwierdzenie obecności etyloftalidu, izobutyloftalidu oraz 1-fenyl-3-penten-1-onu. Zaproponowana przez nas analiza fragmentacji jest istotnym wkładem i uzupełnieniem danych dostępnych w popularnie stosowanych bazach danych służących do identyfikacji ZLPS występujących w ZiP (np. danych biblioteki National Institute of Standards and Technology - NIST). Przygotowane przez nas propozycje interpretacji widm masowych mogą być skutecznym narzędziem służącym do identyfikacji tych i pokrewnych ZLPS.

Wykonana przez nasz zespół analiza *K. odoratissima*, a zwłaszcza oznaczenie dotychczas niezidentyfikowanych i wartościowych biologicznie związków może przyczynić się do pełniejszego wykorzystania tej endemicznej dla Iranu przyprawy w technologii żywności i gastronomi. Należy tu podkreślić, że *Kelussia odoratissima* należy do gatunków zagrożonych, więc potencjał jej zastosowania jest obecnie znacznie ograniczony. Mój udział w badaniach związanych z mikropropagacją ZiP pokazuje jednak, że możliwe jest prowadzenie upraw nawet zagrożonych roślin w celach użytkowych. Pełne wyniki badań związanych z *K. odoratissima* przedstawiono w pracy:

Rahimalek, M., Szumny, A., Gharibi, S., Pachura, N., Miroliaei, M., & **Łyczko, J.** (2023). Chemical investigations in *Kelussia odoratissima* Mozaff. leaves based on comprehensive analytical methods: LC-MS, SPME, and GC-MS analyses. *Molecules*, 28(16), 6140. <https://doi.org/10.3390/molecules28166140>

Mój wkład w przygotowanie tej publikacji obejmował analizę i interpretację danych, opracowanie wyników i udział w przygotowaniu wstępnej wersji manuskryptu.

Od 2019 roku wchodzę w skład działającego na UPWr Wiodącego Zespołu Badawczego - Waste and Biomass Valorization Group (WBVG). W ramach prac WBVG wziąłem udział w dwóch projektach o wysokim potencjale aplikacyjnym: pierwszy z nich dotyczył opracowania innowacyjnego podłoża ogrodniczego do uprawy ziół i roślin leczniczych, drugi – opracowania metody analizy frakcji furanokumarynowej w kompoście wyprodukowanym z barszczu Sosnowskiego (*Heracleum sosnowskyi* Manden.)

Pierwszy projekt został już sfinalizowany wdrożeniem poprzez udzielenie zainteresowanemu kontrahentowi *know how* (nr rejestru UPWr UM/UP/2023/05/00035; nr rejestru Biura Rzecznika Patentowego 01/23/KH/32). W ramach programu Inkubator Innowacyjności 4.0. (Projekt: Wsparcie zarządzania badaniami naukowymi i komercjalizacja wyników prac B+R w jednostkach naukowych i przedsiębiorstwach - POIR 2014-2020 (Działanie 4.4)) zespół WBVG wykonał badania w ramach



projektu *Innowacyjne podłoże ogrodnicze do uprawy ziół i roślin leczniczych wytwarzane z waloryzowanych materiałów odpadowych powstających w produkcji rolnej i energetycznym przekształcaniu biomasy*. **Projekt ten był dla mnie szczególnie istotny, ponieważ byłem inicjatorem i pomysłodawcą tematu badań.** Jeszcze jako doktorant podczas spotkania Zespołu poprosiłem Lidera o możliwość przedstawienia mojego pomysłu, w którym zaproponowałem aby członkowie Zespołu doświadczeni w przetwarzaniu materiałów odpadowych przygotowali specjalne podłoża, które będą wykorzystywane do uprawy roślin leczniczych i ziół. Zainteresowała mnie kwestia możliwości użytecznego wykorzystania odpadów do produkcji podłoża, które pozwoli zachować przynajmniej bazową (pod względem zawartości EO i składników bioaktywnych) jakość uprawianych roślin. Projekt został zaakceptowany przez Członków Zespołu i skierowany do aplikowania o finansowanie. Z uwagi na sedno badań związane z projektowaniem podłoża uprawowego, kierowniczką projektu została moja koleżanka z zespołu dr hab. inż. Agnieszka Medyńska-Juraszek, prof. uczelni.

Pomysł projektu okazał się na tyle atrakcyjny, że uzyskał finansowanie w ramach programu Inkubator Innowacyjności 4.0. Otrzymane przez nas wyniki wykazały, że stosowanie podłoży z przetworzonych materiałów odpadowych nie tylko nie pogarsza jakości uprawianego materiału roślinnego, ale również w wybranych przypadkach wpływa pozytywnie na rośliny, znacząco zwiększając zawartość olejków eterycznych czy związków bioaktywnych takich jak kwas kawowy i kwas rozmarynowy, a także poprawiając rozwój systemu korzeniowego. Zastosowanie skomponowanego do uprawy podłoża skutkowało np. 10-krotnym zwiększeniem stężenia linalolu oraz 3-krotnym wzrostem stężenia eukaliptolu; związków o znaczących cechach aromatycznych i bioaktywnych (np. przeciwdrobnoustrojowych).

Drugi projekt dotyczył *Heracleum sosnowkyi* (barszcz Sosnowskiego), rośliny inwazyjnie się rozprzestrzeniającej i stanowiącej duże zagrożenie dla ludzi. Głównym niebezpieczeństwem związanym z barszczem Sosnowskiego są zawarte w nim fototoksyczne furanokumaryny, które – wydzielone przez roślinę w warunkach intensywnego nasłonecznienia, wysokiej temperatury, w odpowiednim momencie rozwojowym – mogą powodować oparzenia skóry i dróg oddechowych. Z tego względu od dawna poszukuje się sposobu skutecznej utylizacji barszczu Sosnowskiego. Z kolei inne odmiany barszczu np. barszcz mantegazyjski (*H. mantegazzianum*) i barszcz perski (*H. persicum*) po odpowiednim przetworzeniu wykorzystuje się jako przyprawy – stąd istotna jest także możliwość określenia zawartości toksycznych furanokumaryn w przetworzonym materiale roślinnym.

Zespół WBVG, reprezentowany przez dr Sylwię Dąbrowską-Stegenta podjął się wykonania projektu finansowanego przez Narodowy Fundusz Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej, którego celem było zaproponowanie rozwiązań utylizacji barszczu dla gminy Kępice (Załącznik 8). Moją rolą w tym projekcie była analiza zawartości furanokumaryn w świeżych mieszankach przygotowanych do kompostowania i w gotowych kompostach. Ponieważ według wykonanego przeze mnie przeglądu



literatury metoda oznaczania furanokumaryn w przetworzonym materiale roślinnym (kompostcie) nie była znana, zaproponowałem własny sposób przeprowadzenia tej analizy.

W pierwszym kroku zarówno rośliny jak i komposty zostały poddane suszeniu i rozdrobnieniu młynkiem elektrycznym. Kolejno odważono po 2 g barszczu oraz korespondująca ilość poszczególnych kompostów – tak aby w każdej naważce kompostu znajdowały się 2 g barszczu. Próby zostały następnie zalane octanem etylu cz.d.a. w stosunku [w/v] próbka : rozpuszczalnik 1:10 i poddane wytrząsaniu przez 24 h na wytrząsarce laboratoryjnej (150 rpm). Po tym czasie pobrano ekstrakt i ekstrakcje powtórzono 2-krotnie. Po połączeniu ekstraktów rozpuszczalnik odparowano za pomocą laboratoryjnej wyparki próżniowej a uzyskany suchy ekstrakt rozpuszczono w 50% roztworze acetonitrylu (LC-MS analysis grade). Przed analizą chromatograficzną próbki poddano wirowaniu i filtracji przez filtry strzykawkowe (0,22 μ m). Ekstrakcje furanokumaryn dla każdej próby wykonano w trzech powtórzeniach. Rozdział chromatograficzny furokumaryn obecnych w barszczu oraz wytworzonych z niego kompostach został przeprowadzony za pomocą kolumny Kinetex C-18 o wymiarach 100 x 3 mm, i ziarnach wypełnienia 2 μ m (Phenomenex, Torrance, CA, USA). Rozdziału dokonano za pomocą gradientu stężeń eluentów: 0,01% roztworu kwasu mrówkowego (A) oraz acetonitrylu (B) według programu: 0-1 min 5% B, narost do 15 min 90 % B, 15-17 min 90% B, spadek do 18 min do 5% B i 18-23 min 5% B. Identyfikacja związków została oparta o równoległą analizę roztworu wzorcowego.

Na podstawie opracowanej przeze mnie analizy furanokumaryn udało się ustalić, że przeprowadzone w odpowiednich warunkach kompostowanie, redukuje zawartość furanokumaryn w materiale biologicznym nawet 10-krotnie. Według mojej najlepszej wiedzy była to pierwsza skuteczna próba oznaczania furanokumaryn w materiale kompostowanym. Metoda ta może też być skutecznie stosowana w analizie zawartości furanokumaryn w przyprawach, w których wykorzystano rośliny z rodzaju *Heracleum*.



Literatura

- Adams, R. P. (2012). *Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy*. Academic Press.
- Amar, Z., & Lev, E. (2005). Vesalius. *Acta Internationalia Historiae Medicinæ. Vesalius*, 11, 81q–887.
- Andermann, M. L., & Lowell, B. B. (2017). Toward a Wiring Diagram Understanding of Appetite Control. *Neuron*, 95(4), 757–778. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.06.014>
- Asekun, O. T., Grierson, D. S., & Afolayan, A. J. (2007). Effects of drying methods on the quality and quantity of the essential oil of *Mentha longifolia* L. subsp. *Capensis*. *Food Chemistry*, 101(3), 995–998. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.052>
- Başer, K. H. C., & Gerhard Buchbauer (Eds.). (2016). *Handbook of Essential Oils. Science, Technology, and Applications* (2nd ed.). CRC Press.
- Betley, J. N., Xu, S., Cao, Z. F. H., Gong, R., Magnus, C. J., Yu, Y., & Sternson, S. M. (2015). Neurons for hunger and thirst transmit a negative-valence teaching signal. *Nature*, 521(7551), 180–185. <https://doi.org/10.1038/nature14416>
- Bicchi, C., Liberto, E., Matteodo, M., Sgorbini, B., Mondello, L., Zellner, A., Costa, R., & Rubiolo, P. (2008). Quantitative analysis of essential oils: a complex task. *Flavour and Fragrance Journal*, 23, 382–391. <https://doi.org/10.1002/ffj>
- Calín-Sánchez, Á., Figiel, A., Lech, K., Szumny, A., & Carbonell-Barrachina, Á. A. (2013). Effects of drying methods on the composition of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil. *Drying Technology*, 31(2), 224–235. <https://doi.org/10.1080/07373937.2012.725686>
- Calín-Sánchez, Á., Szumny, A., Figiel, A., Jalozyński, K., Adamski, M., & Carbonell-Barrachina, Á. A. (2011). Effects of vacuum level and microwave power on rosemary volatile composition during vacuum-microwave drying. *Journal of Food Engineering*, 103(2), 219–227. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.10.018>
- Chua, L. Y. W., Chong, C. H., Chua, B. L., & Figiel, A. (2019). Influence of drying methods on the antibacterial, antioxidant and essential oil volatile composition of herbs: a Review. *Food and Bioprocess Technology*, 12(3), 450–476. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2227-x>
- Chua, L. Y. W., Chua, B. L., Figiel, A., Chong, C. H., Wojdyło, A., Szumny, A., & Lech, K. (2019a). Characterisation of the convective hot-air drying and vacuum microwave drying of *Cassia alata*: Antioxidant activity, essential oil volatile composition and quality studies. *Molecules*, 1–20. <https://doi.org/10.3390/molecules24081625>
- Chua, L. Y. W., Chua, B. L., Figiel, A., Chong, C. H., Wojdyło, A., Szumny, A., & Łyczko, J. (2019b). Drying of *Phylla nodiflora* leaves: Antioxidant activity, volatile and phytosterol content, energy consumption, and quality studies. *Processes*, 7(4). <https://doi.org/10.3390/pr7040210>
- Ebrahim Sajjadi, S., Shokoohinia, Y., & Moayedi, N.-S. (2012). Isolation and identification of ferulic acid from aerial parts of *Kelussia odoratissima* Mozaff. In *Jundishapur Journal of Natural Jundishapur J Nat Pharm Prod* (Vol. 7, Issue 4). www.jjnpp.com
- El-Za'eddi, H., Martínez-Tomé, J., Calín-Sánchez, Á., Burló, F., & Carbonell-Barrachina, Á. (2016). Volatile composition of essential oils from different aromatic herbs grown in mediterranean regions of Spain. *Foods*, 5(4), 41. <https://doi.org/10.3390/foods5020041>
- EMA/HMPC. (2016). *Public statement on Salvia officinalis L., aetheroleum Public statement on Salvia officinalis L., aetheroleum* (Vol. 44).
- Figiel, A., Szumny, A., Gutiérrez-Ortiz, A., & Carbonell-Barrachina, Á. A. (2010). Composition of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as affected by drying method. *Journal of Food Engineering*, 98(2), 240–247. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.01.002>
- Gao, X., Lv, S., Wu, Y., Li, J., Zhang, W., Meng, W., Wang, C., & Meng, Q. (2017). Volatile components of essential oils extracted from Pu-erh ripe tea by different extraction methods. *International Journal of Food Properties*, 20, S240–S253. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1295256>



- Ghasemi Pirbalouti, A., Salehi, S., Craker, L., Pirbalouti, A. G., Salehi, S., & Craker, L. (2017). Effect of drying methods on qualitative and quantitative properties of essential oil from the aerial parts of coriander. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 4, 35–40. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2016.07.006>
- Kaliora, A. C., & Kountouri A.M. (2007). Chemopreventive activity of mediterranean medicinal plants. In A. G. Georgakilas (Ed.), *Cancer Prevention: From Mechanisms to Translational Benefits*. INTECH Open Access Publisher.
- Lisanti, M. T., Laboyrie, J., Marchand-Marion, S., de Revel, G., Moio, L., Riquier, L., & Franc, C. (2021). Minty aroma compounds in red wine: Development of a novel automated HS-SPME-arrow and gas chromatography-tandem mass spectrometry quantification method. *Food Chemistry*, 361. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130029>
- Longaray Delamare, A. P., Moschen-Pistorello, I. T., Artico, L., Atti-Serafini, L., & Echeverrigaray, S. (2007). Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food Chemistry*, 100(2), 603–608. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.078>
- Ludwiczuk, A., Kiełtyka-Dadasiewicz, A., Sawicki, R., Golus, J., & Ginalska, G. (2016). Essential oils of some *Mentha* species and cultivars, their chemistry and bacteriostatic activity. *Natural Product Communications*, 11(7), 1015–1018.
- Łyczko, J., Godyła-Jabłoński, M., Pachura, N., Adamenko, K., Klemens, M., & Szumny, A. (2023). Natural Appetite Control: Consumer perception of food-based appetite regulating aromas. *Nutrients*, 15(13), 2996. <https://doi.org/10.3390/nu15132996>
- Łyczko, J., Kiełtyka-Dadasiewicz, A., Issa-Issa, H., Skrzyński, M., Galek, R., Carbonell-Barrachina, Á. A., & Szumny, A. (2023). Chemistry behind Quality - Emission of volatile enantiomers from *Mentha* spp. plant tissue in relationship to odor sensory quality. *Foods*, 12(10). <https://doi.org/10.3390/foods12102057>
- Łyczko, J., Kiełtyka-Dadasiewicz, A., Skrzyński, M., Klisiewicz, K., & Szumny, A. (2023). Chemistry behind Quality - The usability of herbs and spices essential oils analysis in light of sensory studies. *Food Chemistry*, 411. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135537>
- Łyczko, J., Masztalerz, K., Lipan, L., Lech, K., Carbonell-Barrachina, Á. A., & Szumny, A. (2020). Chemical determinants of dried Thai basil (*O. basilicum* var. *thyrsiflora*) aroma quality. *Industrial Crops & Products*, 155, 112769. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112769>
- Maffei, M., Chialva, F., & Sacco, T. (1989). Glandular trichomes and essential oils in developing peppermint leaves. Variation of peltate trichome number and terpene distribution within leaves. *New Phytologist*, 111, 707–716.
- Maffei, M. E., Gertsch, J., & Appendino, G. (2011). Plant volatiles: Production, function and pharmacology. In *Natural Product Reports* (Vol. 28, Issue 8, pp. 1359–1380). <https://doi.org/10.1039/c1np00021g>
- McAdam, K. G., Tetteh, J., Bishop, L., Digard, H., Cote, J., Lubbe, S., & Liu, C. (2020). A combined study of headspace volatiles using human sensory, mass spectrometry and chemometrics. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64491-6>
- Mohammed, H. A., Al-Omar, M. S., Mohammed, S. A. A., Aly, M. S. A., Alsuqub, A. N. A., & Khan, R. A. (2020). Drying Induced Impact on Composition and Oil Quality of Rosemary Herb, *Rosmarinus Officinalis* Linn. *Molecules*, 25(12). <https://doi.org/10.3390/molecules25122830>
- Morquecho-Campos, P., de Graaf, K., & Boesveldt, S. (2020). Smelling our appetite? The influence of food odors on congruent appetite, food preferences and intake. *Food Quality and Preference*, 85, 103959–103965. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2020.103959>
- Morquecho-Campos, P., de Graaf, K., & Boesveldt, S. (2021). Olfactory priming for eating behavior – The influence of non-conscious exposure to food odors on specific appetite, food preferences and intake. *Food Quality and Preference*, 90, 104156–104163. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2020.104156>



- Morrin, M., & Tepper, B. J. (2021). Multisensory marketing: effects of environmental aroma cues on perception, appetite, and consumption of foods and drinks. *Current Opinion in Food Science*, 40, 204–210. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.04.008>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497.
- Muruges, J., Annigeri, R. G., Raheel, S. A., Azzeghaiby, S., Alshehri, M., & Kujan, O. (2015). Effect of yogurt and pH equivalent lemon juice on salivary flow rate in healthy volunteers - An experimental crossover study. *Interventional Medicine and Applied Science*, 7(4), 147–151. <https://doi.org/10.1556/1646.7.2015.4.3>
- Ogawa, K., & Ito, M. (2016). Appetite-Enhancing Effects of Curry Oil. *Biol. Pharm. Bull.*, 39(9), 1559–1563.
- Ogawa, K., & Ito, M. (2019). Appetite-enhancing effects of nutmeg oil and structure–activity relationship of habituation to phenylpropanoids. *Journal of Natural Medicines*, 73(3), 513–522. <https://doi.org/10.1007/s11418-019-01295-7>
- Ogawa, K., Tashima, A., Sadakata, M., & Morinaga, O. (2018). Appetite-enhancing effects of vanilla flavours such as vanillin. *Journal of Natural Medicines*, 72(3), 798–802. <https://doi.org/10.1007/s11418-018-1206-x>
- Öztekin, S., & Martinov, M. (Eds.). (n.d.). *Medicinal and Aromatic Crops. Harvesting, Drying and Processing* (1st ed.). Haworth Food & Agricultural Products Press™.
- Pachura, N., Zimmer, A., Grzywna, K., Figiel, A., Szumny, A., & Łyczko, J. (2022). Chemical investigation on *Salvia officinalis* L. affected by multiple drying techniques - The comprehensive analytical approach (HS-SPME, GC-MS, LC-MS/MS, GC-O and NMR). *Food Chemistry*, 397. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133802>
- Perry, Y., & Lev, E. (2003). The medical activities of the London Jews' Society in nineteenth-century Palestine. *Medical History*, 47(1), 67–88. <https://doi.org/10.1017/s0025727300056362>
- Picard, M., de Revel, G., & Marchand, S. (2017). First identification of three p-menthane lactones and their potential precursor, menthofuran, in red wines. *Food Chemistry*, 217, 294–302. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.070>
- Piesik, D., Aksoy, J., Łyczko, J., Bocianowski, J., Buszewski, B., Piesik, M., & Mayhew, C. A. (2022). Relationships between volatile organic compounds released by wheat plants following artificial stress and their potential influence on natural pest management. *Applied Sciences (Switzerland)*, 12(15), 1–13. <https://doi.org/10.3390/app12157762>
- Piesik, D., Wenda-Piesik, A., Krasieńska, A., Wrzesieńska, D., & Delaney, K. J. (2016). Volatile organic compounds released by *Rumex confertus* following *Hypera rumicis* herbivory and weevil responses to volatiles. *Journal of Applied Entomology*, 140(4), 308–316. <https://doi.org/10.1111/jen.12238>
- Politowicz, J., Lech, K., Sánchez-Rodríguez, L., Figiel, A., Szumny, A., Grubor, M., & Carbonell-Barrachina, Á. A. (2018). Volatile composition and sensory profile of oyster mushroom as affected by drying method. *Drying Technology*, 36(6), 685–696. <https://doi.org/10.1080/07373937.2016.1274903>
- Preedy, V. R. (Ed.). (2016). *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Academic Press.
- Raghavan, S. (2007). *Handbook of Spices, Seasoning and Flavorings*. CRC Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Rahimmalek, M., & Goli, S. A. H. (2013). Evaluation of six drying treatments with respect to essential oil yield, composition and color characteristics of *Thymys daenensis* subsp. *daenensis*. Celak leaves. *Industrial Crops and Products*, 42(1), 613–619. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.012>
- Rohloff, J., Dragland, S., Mordal, R., & Iversen, T. H. (2005). Effect of harvest time and drying method on biomass production, essential oil yield, and quality of peppermint (*Mentha × piperita* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4143–4148. <https://doi.org/10.1021/jf047998s>



- Roshanak, S., Rahimmalek, M., & Goli, S. A. H. (2016). Evaluation of seven different drying treatments in respect to total flavonoid, phenolic, vitamin C content, chlorophyll, antioxidant activity and color of green tea (*Camellia sinensis* or *C. assamica*) leaves. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 721–729. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2030-x>
- Sadowska, U., Kopeć, A., Kourimska, L., Zarubova, L., & Kloucek, P. (2017). The effect of drying methods on the concentration of compounds in sage and thyme. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(6). <https://doi.org/10.1111/jfpp.13286>
- Santoro, M. V., Nievas, F., Zygadlo, J., Giordano, W., & Banchio, E. (2013). Effects of growth regulators on biomass and the production of secondary metabolites in peppermint (*Mentha piperita*) micropropagated *in vitro*; *American Journal of Plant Sciences*, 04(05), 49–55. <https://doi.org/10.4236/ajps.2013.45a008>
- Schnittny, H. R. (2015). Balsam Jeruzolimski. In *Herbarium św. Franciszka*.
- Sellami, I. H., Rebey, I. B., Sriti, J., Rahali, F. Z., Limam, F., & Marzouk, B. (2012). Drying sage (*Salvia officinalis* L.) plants and its effects on content, chemical composition, and radical scavenging activity of the essential oil. *Food and Bioprocess Technology*, 5(8), 2978–2989. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0661-0>
- Sternson, S. M., & Eiselt, A. K. (2017). Three Pillars for the Neural Control of Appetite. *Annual Review of Physiology*, 79, 401–423. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021115-104948>
- Szumny, A., Figiel, A., Gutiérrez-Ortiz, A., & Carbonell-Barrachina, Á. A. (2010). Composition of rosemary essential oil (*Rosmarinus officinalis*) as affected by drying method. *Journal of Food Engineering*, 97(2), 253–260. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.10.019>
- Thamkaew, G., Sjöholm, I., & Galindo, F. G. (2020). A review of drying methods for improving the quality of dried herbs. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0(0), 1–24. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1765309>
- <http://www.thegoodscentcompany.com/search2.html>. *The Good Scents Company*. (01.10.2023).
- Vallino, M., Faccio, A., Zeppa, G., Dolci, P., Cerutti, E., Zaquini, L., Faoro, F., & Balestrini, R. (2021). Impact of drying temperature on tissue anatomy and cellular ultrastructure of different aromatic plant leaves. *Plant Biosystems*. <https://doi.org/10.1080/11263504.2021.1922535>
- Wińska, K., Mączka, W., Łyczko, J., Grabarczyk, M., Czubaszek, A., & Szumny, A. (2019). Essential oils as antimicrobial agents - myth or real alternative? *Molecules*, 24(11). <https://doi.org/10.3390/molecules24112130>
- World Health Organisation. (2021a). Ageing and Health.
- World Health Organisation. (2021b). Obesity and Overweight.
- Zoon, H. F. A., de Graaf, C., & Boesveldt, S. (2016). Food odours direct specific appetite. *Foods*, 5(1), 1–10. <https://doi.org/10.3390/foods5010012>



5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej

Moją pierwszą zagraniczną aktywnością naukową był wyjazd na ostatnim semestrze studiów magisterskich (2016/2017) na wymianę studencką w ramach programu Erasmus+. Spędziłem wówczas 5 miesięcy na Faculdade de Ciências Universidade do Porto (Załącznik 7). Podczas wymiany tej nie realizowałem już regularnych kursów, ale odbyłem staż laboratoryjny, w ramach którego zrealizowałem projekt *Screening for activity against fish pathogens among bacteria isolated from Portuguese salterns* pod opieką prof. Olgi Maria Oliveira da Silva Lage. Projekt ten został oceniony przez komisję wydziałową FCUP na 18/20 punktów. **Doświadczenie to było dla mnie niezwykle cenne, ponieważ pokazało mi inną kulturę prowadzenia prac laboratoryjnych. Już we wczesnym etapie swojej kariery zawodowej mogłem porównać rozwiązania stosowane w Polsce i za granicą, wybierając z nich najlepsze praktyki, które mogę obecnie stosować w swoich zespołach.**

Dwa kolejne doświadczenia zagraniczne związane były z podnoszeniem kwalifikacji zawodowych i opierały się na krótkoterminowym szkoleniu w centrum badawczo-rozwojowym firmy Shimadzu w Kioto (Załącznik 7) oraz na miesięcznym stażu w centrum badawczo-rozwojowym firmy Shimadzu Europa w Duisburgu (Załącznik 7). Pierwsze szkolenie odbyło się we wrześniu 2018 roku i dotyczyło technik chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas oraz techniki MALDI stosowanych również w analizie żywności. Dwudniowy kurs obejmował szkolenie teoretyczne i część praktyczną przy aparaturze. Najcenniejszym doświadczeniem dla mnie była praca z aparatem iMScope Trio, który jest unikalnym połączeniem mikroskopu optycznego (obserwacje w świetle widzialnym i fluorescencyjnym) ze spektrometrem mas o wysokiej rozdzielczości. Następny zagraniczny staż miał miejsce w centrum badawczo-rozwojowym firmy Shimadzu Europa (19.02.-18.03.2019), w ramach programu PROM (NAWA). Miałem wtedy okazję odbycia szkoleń i treningów dotyczących analiz chromatograficznych sprzężonych ze spektrometrią mas. Staż w Duisburgu podzielony był na dwie części, pierwsza związana była z chromatografią gazową, druga – z chromatografią cieczową. Jednym z pośrednich efektów tego wyjazdu, było zrealizowanie badań dotyczących jakości białka ziemniaczanego. W badaniach tych wykorzystałem analizę HS-SPME Arrow do oceny różnych wariantów przygotowanego białka ziemniaczanego pod kątem zawartych w profilu aromatycznym takich ZLPS, które mogą obniżać atrakcyjność białka ze względów sensorycznych. Wyniki tych badań zaprezentowano w publikacji:

Pęksa, A., Miedzianka, J., Szumny, A., Łyczko, J., Nemś, A., & Kita, A. (2019). Colour and flavour of potato protein preparations, depending on the antioxidants and coagulants used. *International Journal of Food Science and Technology*, 1–12. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14377>



Zagraniczne wyjazdy szkoleniowe w centrach Shimadzu stały się niezwykle istotnym elementem mojego rozwoju osobistego. Miałem możliwość zapoznać się z licznymi technikami i metodami stosowanymi przez twórców i operatorów sprzętu analitycznego, co w znacznym stopniu rozwinęło moje możliwości obsługi aparatury w Polsce.

Następne dwa pobyty zagraniczne to wizyty studyjne w Uniwersytecie im. Miguela Hernandeza w Elche, w zespole prof. Angela Carbonell-Barrachina (Załącznik 7). Zespół Food Quality and Safety zajmuje się analizą żywności, w tym analizą sensoryczną. W ramach dwóch wizyt studyjnych# (18-23.09.2019 oraz 02-06.11.2021) opracowywałem z hiszpańskim zespołem metodykę badań sensorycznych dla prób ZiP przywiezionych z Polski oraz organizowałem panele sensoryczne, podczas których próbki te były analizowane. **Efekty tych wizyt stanowią część dwóch publikacji naukowych, wchodzących w skład mojej rozprawy doktorskiej:**

Łyczko, J., Masztalerz, K., Lipan, L., Iwiński, H., Lech, K., Carbonell-Barrachina, Á. A., & Szumny, A. (2021). *Coriandrum sativum* L. - effect of multiple drying techniques on volatile and sensory profile. *Foods*, 10(2), 403. <https://doi.org/10.3390/foods10020403>

Łyczko, J., Masztalerz, K., Lipan, L., Lech, K., Carbonell-Barrachina, Á. A., & Szumny, A. (2020). Chemical determinants of dried Thai basil (*O. basilicum* var. *thyrsoiflora*) aroma quality. *Industrial Crops & Products*, 155, 112769. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112769>

oraz publikacji będącej efektem badań realizowanych w ramach projektu Preludium,

Łyczko, J., Kiełtyka-Dadasiewicz, A., Issa-Issa, H., Skrzyński, M., Galek, R., Carbonell-Barrachina, Á. A., & Szumny, A. (2023). Chemistry behind Quality - Emission of volatile enantiomers from *Mentha* spp. plant tissue in relationship to odor sensory quality. *Foods*, 12(10). <https://doi.org/10.3390/foods12102057>.

Równie istotnym naukowym doświadczeniem zagranicznym był staż z zespołem prof. Luigi Mondello w Uniwersytecie w Mesynie (Załącznik 7), który zrealizowałem w ramach projektu Erasmus+ w dniach 01.11-31.12.2019. Zespół, którym kieruje prof. Mondello uznawany jest za jeden z najlepszych na świecie zespołów zajmujących się analityką, w tym analityką żywności. Sam prof. Mondello pojawiał się na liście 100 najbardziej znaczących osób na świecie w zakresie nauk analitycznych w latach 2013, 2015, 2021 i na liście 10 najbardziej znaczących liderów w roku 2023 według magazynu *The Analytical Scientist*. Zespół z Mesyny zajmuje się tworzeniem nowych metod analitycznych, konstrukcją sprzętu analitycznego oraz tworzeniem spektrometrycznych baz danych. **Pobyt we Włoszech był dla mnie możliwością zapoznania się ze stylem pracy i filozofią nauki najwyższej klasy specjalistów**



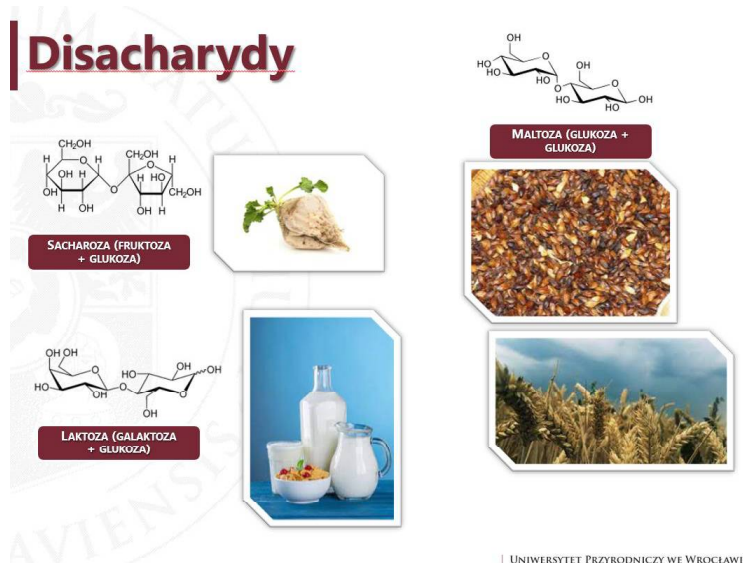
w dziedzinie analityki, w tym analityki żywności. Pozyskane podczas tego stażu wiedzę i umiejętności z dużymi sukcesami stosuję w pracy swojej i mojego zespołu.

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę

Od drugiego roku doktoratu (2018/2019) jestem zaangażowany w prowadzenie zajęć dydaktycznych w Katedrze Chemii Żywności i Biokatalizy (nazwa obecna), z wyłączeniem roku akademickiego 2021/2022, w którym oddelegowany byłem na pełen etat do kierowania projektem. Jako doktorant prowadziłem ćwiczenia laboratoryjne w ramach kursów z chemii fizycznej i chemii dla kierunków biotechnologia, technologia żywności i żywienia, ogrodnictwo oraz medycyna roślin. W roku akademickim 2022/2023 zostałem koordynatorem kursów z chemii dla kierunku rolnictwo niestacjonarne oraz kursu instrumentalne metody analizy żywności dla kierunku zarządzanie jakością i analiza żywności. Dla kierunku rolnictwo niestacjonarne przygotowałem cykl ćwiczeń laboratoryjnych i wykładów obejmujących tematykę chemii ogólnej i nieorganicznej oraz chemii organicznej. Dla kierunku zarządzanie jakością i analiza żywności przygotowałem cykl wykładów skupiających się na metodach chromatograficznych w analizie żywności; ten sam cykl wykładów poprowadziłem dla kierunku biotechnologia.

Przygotowując treści ćwiczeniowe i wykładowe biorę pod uwagę specyfikę kierunku studiów. Dla kierunku rolnictwo niestacjonarne staram się odnosić prezentowane treści, choć dotyczące nauk podstawowych, do rzeczywistych potrzeb przyszłych rolników (Rysunek 9). Ponadto staram się stosować nowoczesne metody nauczania, opierając pytania z kolokwii i egzaminów nie o wiedzę teoretyczną, ale o zagadnienia problemowe, których rozwiązania wymagają zarówno wiedzy teoretycznej jak i kreatywności.

Do tej pory miałem również możliwość sprawowania opieki nad dyplomantami na studiach inżynierskich. Dyplomantka inż. Wiktoria Szewior oraz Dyplomant inż. Krzysztof Klisiewicz zrealizowali pod moją opieką projekty, które stały się podstawą do nadania im stopnia zawodowego inżyniera. Pani Szewior obroniła pracę pt. *Projekt metody izolacji kannabinoidów z past konopnych*, Pan Klisiewicz - pracę pt. *Symultaniczna izolacja olejku eterycznego i nielotnych związków bioaktywnych - projekt i optymalizacja metody*. Obecnie pozostają opiekunem kolejnych dwóch prac inżynierskich, które są w trakcie realizacji.



Rysunek 9. Przykładowy slajd z prezentacji dla kierunku rolnictwo niestacjonarne

Dodatkowo w ramach pracy w UPWr byłem zaangażowany w projekt *Klasa patronacka Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu trzecią misją uczelni*. Był to projekt finansowany w ramach programu *Program Operacyjny Wiedza Edukacja i Rozwój 2014-2020*, który z ramienia UPWr koordynowało Centrum Kształcenia Ustawicznego UPWr. Celem programu było podniesienie kompetencji uczniów z LO nr XIII we Wrocławiu w zakresie chemii i biologii. W ramach projektu miałem możliwość przygotować dla licealistów i licealistek autorski program zajęć z chemii organicznej i nieorganicznej. Oprócz treści dydaktycznych (instrukcje, wstępy teoretyczne do zajęć) przygotowałem także zamówienia na materiały niezbędne do przeprowadzenia zajęć.

Od jesieni 2021 roku jestem regularnie angażowany przez Wrocławski Park Technologiczny S.A. do przeprowadzania szkoleń dotyczących chromatografii gazowej i spektrometrii mas (Załącznik 8). Szkolenia odbywają się w niewielkich, maksymalnie sześciuosobowych grupach i obejmują zarówno zagadnienia teoretyczne jak i zajęcia praktyczne przy aparaturze. Program szkoleń, w obydwu częściach, przygotowałem całkowicie samodzielnie. Kursanci oprócz zapoznania się z treściami teoretycznymi mają możliwość wykonania prac konserwacyjnych przy sprzęcie, a także rzeczywistego opracowywania metod analitycznych. Uczestnikami szkoleń są zarówno przedstawiciele świata akademickiego (np. z Politechniki Rzeszowskiej, Politechniki Wrocławskiej) jak i pracownicy przedsiębiorstw i administracji rządowej (np. J.S. Hamilton, Straż Graniczna). W ramach szkoleń we Wrocławskim Parku Technologicznym byłem również zaangażowany w szkolenie studentów i studentek (z Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu oraz Uniwersytetu Wrocławskiego).



7. Inne ważne informacje dotyczące kariery zawodowej

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora we wrześniu 2021 roku rozpocząłem pracę w Katedrze Chemii (późniejszej Katedrze Chemii Żywności i Biokatalizy) Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Już podczas pierwszych miesięcy mojej samodzielnej pracy zostałem zaproszony do współtworzenia konsorcjum aplikującego o granty europejskie. Współpracę zaproponował mi dr hab. inż. Dariusz Piesik (obecnie prof. dr hab. inż. Dariusz Piesik) z Politechniki Bydgoskiej im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich, który był pomysłodawcą projektu i jego głównym Koordynatorem. Mimo mojego krótkiego stażu zawodowego, dr hab. inż. Piesik docenił moje dotychczasowe osiągnięcia oraz doświadczenie i zaproponował mi, abym został kierownikiem *work package'u* z ramienia UPWr w ramach składanego wniosku grantowego. W lutym 2022 złożyliśmy wniosek w ramach *call'u* HORIZON-CL6-2022-FARM2FORK-02-two-stage. Wniosek ten nie został zakwalifikowany do finansowania, jednak Koordynator docenił moje zaangażowanie oraz efekty pracy, i zaprosił do kolejnego przedsięwzięcia, realizowanego również w ramach funduszy europejskich. Ponowny wniosek złożyliśmy w marcu 2023 roku w ramach *call'u* HORIZON-CL6-2023-BIODIV-01. Niestety ta aplikacja również nie została pozytywnie rozpatrzona (potwierdzenie złożenia aplikacji przedstawia Załącznik 9). Obecnie pracujemy nad kolejnym zgłoszeniem projektowym w konsorcjum międzynarodowym. W ramach środków europejskich zostałem także zaproszony do pełnienia roli *co-Supervisora* w propozycji projektu stażu podoktorskiego dla dr Vanessy Garcia w ramach *call'u* HORIZON-MSCA-2022-PF-01 (potwierdzenie aplikacji Załącznik 9). Wraz z aplikantką przygotowałem projekt aplikacji i opracowałem treści merytoryczne wniosku. Niestety ów wniosek również nie uzyskał finansowania.

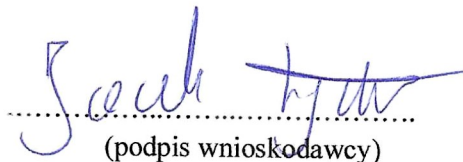
Obecnie pełnię rolę promotora pomocniczego dwóch uczestniczek szkoły doktorskiej, mgr Kamili Lewandowskiej (promotor pracy prof. dr hab. inż. Robert Kupeczyński) oraz mgr inż. Marty Klemens (promotor pracy prof. dr hab. inż. Antoni Szumny). Obydwie doktorantki kończą obecnie pierwszy rok edukacji w szkole doktorskiej. Ponadto **Pani Klemens złożyła wniosek w konkursie Preludium 22, w którym pełnię rolę opiekuna naukowego** (wniosek w trakcie oceny merytorycznej).

Dodatkowym dowodem uznania mojego doświadczenia i umiejętności w zakresie technologii żywności i żywienia na arenie międzynarodowej jest regularne zapraszanie mnie do recenzowania manuskryptów zgłaszanych do renomowanych czasopism międzynarodowych. Szczegóły mojego doświadczenia w recenzowaniu oryginalnych prac naukowych i przeglądów literatury podaję w Załączniku 2 do Wniosku przewodniego.



Ponadto zostałem w ostatnim czasie zaproszony przez wydawnictwo MDPI do pełnienia roli głównego *Guest Editor* w czasopiśmie *Foods*, w *Special Issue: Chemical Analysis of Plant Non-volatile Extracts and Essential Oils in Light of Their Application in Food*. Zarówno sam temat jak i cały opis SI jest moją inicjatywą. Do współpracy zaprosiłem dr Leontinę Lipan (University Miguel Hernandez of Elche) oraz prof. dr hab. inż. Antoniego Szumnego (UPWr).

Dowodami uznania mojego dorobku, doświadczenia i umiejętności było także zaproszenie mnie w roli prelegenta na VI Akademię Chemii Analitycznej (ACA) (Załącznik 8) oraz włączenie mnie do działającej przy Wrocławskim Centrum Akademickim Akademii Młodych Uczonych i Artystów (AMUiA) (Załącznik 8). ACA to cykliczne wydarzenie organizowane przez firmę Shim-Pol, podczas którego uczestnicy mają możliwość poszerzać swoją wiedzę dotyczącą m.in. chromatografii (GC i LC), spektrometrii mas czy przygotowania prób do analizy. Jako wykładowcy zapraszani są uznani w środowisku naukowcy zajmujący się zagadnieniami analitycznymi w tym prof. dr hab. Piotr Stefanowicz (Uniwersytet Wrocławski), prof. dr hab. Bogusław Buszewski (Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu), prof. dr hab. inż. Agata Kot-Wasik (Politechnika Gdańska) czy dr n. med. Paweł Szpot (Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu). Podczas ACA odbywającej się w maju 2022 miałem przyjemność wygłosić wykład pt. *Technika HS-SPME Arrow w analizie lotnych związków organicznych pochodzenia naturalnego. Ujęcie praktyczne*. Z kolei AMUiA jest pierwszą tego typu inicjatywą w Polsce. Celem działającej od 2010 roku Akademii jest wspieranie talentu wybitnych młodych naukowców i artystów. Zaproszenie do Akademii skierowane jest do osób w wieku do 35 lat, wywodzących się ze środowisk akademickich instytutów badawczych, uczelni z Wrocławia i Dolnego Śląska reprezentujących rozmaite dziedziny i dyscypliny nauki i sztuki. Osoby te muszą wykazać się wybitnymi osiągnięciami w swojej dyscyplinie oraz zainteresowaniem aktywną współpracą z przedstawicielami rozmaitych dziedzin nauki i sztuki.


(podpis wnioskodawcy)