

Dr inż. Anna Wajs-Bonikowska
Politechnika Łódzka
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności

Autoreferat

*Nasiona i szyszki wybranych gatunków drzew iglastych jako odnawialne
źródło związków bioaktywnych i ich potencjalne zastosowanie*

Spis treści

1. Dane podstawowe.....	1
2. Wskazane osiągnięcia wynikające z art. 16 ust. 2 ustawy z dn. 14 marca 2003 (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.).....	2
3. Omówienie osiągnięć badawczych przedstawianych do oceny	5
3.1. Temat badawczy i zakres	5
3.1.2. Celowość przeprowadzonych badań	7
3.1.3. Charakterystyka i wykorzystanie badanych gatunków drzew	10
3.2. Charakterystyka związków lotnych nasion i szyszek wybranych gatunków drzew	13
3.2.1. Wydajność olejków eterycznych z nasion i szyszek oraz ich charakterystyka zapachowa	13
3.2.2. Skład olejków eterycznych z nasion i łusek szyszek wybranych gatunków drzew iglastych	14
3.2.2. Skład enancjomeryczny głównych węglodorów monoterpenowych olejków ...	20
3.2.4. Hydrolaty pozyskane z nasion wybranych gatunków iglaków	21
3.3. Charakterystyka ekstraktów z nasion wybranych gatunków drzew	22
3.3.1. Wydajność ekstraktów	22
3.3.2. Skład ekstraktów z nasion wybranych gatunków drzew iglastych	23
3.4. Aktywność biologiczna olejków eterycznych z nasion i łusek szyszek	28
3.4.1. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa	28
3.4.2. Aktywność antyoksydacyjna.....	30
3.4.3. Aktywność cytotoksyczna olejków	30
3.5. Podsumowanie najważniejszych osiągnięć naukowych przedstawionych do oceny	32
4. Omówienie pozostałych osiągnięć badawczych.....	36
5. Prace eksperckie	43
6. Charakterystyka dorobku dydaktycznego	43
7. Charakterystyka dorobku organizacyjnego i popularyzatorskiego	44

1. Dane podstawowe

Imię i nazwisko: Anna Wajs-Bonikowska
Miejsce zatrudnienia: Politechnika Łódzka,
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności,
Instytut Podstaw Chemii Żywności,
ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź,

Adres e-mail: anna.wajs-bonikowska@p.lodz.pl

Przebieg pracy zawodowej:

październik 2006 – wrzesień 2007 Asystent w Instytucie Podstaw Chemii Żywności, PŁ

od października 2007 Adiunkt w Instytucie Podstaw Chemii Żywności, PŁ

Posiadane dyplomy i stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej:

czerwiec 2001 Tytuł zawodowy **magistra inżyniera technologii chemicznej**
Politechnika Łódzka, Wydział Chemii Spożywczej i Biotechnologii
(obecnie Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności)
Temat pracy magisterskiej: *Badanie retencji składników aromatów
spożywczych podczas obróbki termicznej*
Promotor: dr inż. Magdalena Sikora

wrzesień 2006 Stopień naukowy **doktora nauk technicznych**
w dyscyplinie **technologii chemicznej**, Politechnika Łódzka,
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
Temat rozprawy doktorskiej: *Porównanie metod wyodrębniania i analiza
lotnych składników drewna drzew iglastych oraz nasion czarnuszki*
Promotor: prof. dr hab. inż. Danuta Kalemba

2. Wskazane osiągnięcia wynikające z art. 16 ust. 2 ustawy z dn. 14 marca 2003 (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)

Tytuł osiągnięcia naukowego, które przedstawiam do oceny to:

Nasiona i szyszki wybranych gatunków drzew iglastych jako odnawialne źródło związków bioaktywnych i ich potencjalne zastosowanie

Wyniki badań zostały zebrane i opisane w cyklu siedmiu powiązanych tematycznie publikacji:

- 1. Wajs-Bonikowska A., Szoka Ł., Karna E., Wiktorowska-Owczarek A., Sienkiewicz M.** *Abies concolor* seeds and cones as new source of essential oils – composition and biological activity. *Molecules* **2017**, 22(11), 1880; doi:10.3390/molecules22111880, 12 pp.
IF 2,988; MNiSW 30 pkt. *
Udział: 70%

Indywidualny wkład: koncepcja pracy, zaplanowanie doświadczeń, przeprowadzenie eksperymentów w zakresie identyfikacji składników olejków eterycznych i ilościowym ich oznaczeniu metodą standardu wewnętrznego, dokonanie przeglądu literatury oraz sformułowanie wniosków. Wiodący udział w opisanii części badawczej oraz eksperymentalnej manuskryptu. Opracowanie treści manuskryptu.

- 2. Wajs-Bonikowska A., Szoka Ł., Karna E., Wiktorowska-Owczarek A., Sienkiewicz M.** Composition and biological activity of *Picea pungens* and *Picea orientalis* seed and cone essential oils. *Chemistry and Biodiversity* **2017**, 14(3), e1600264; doi: 10.1002/cbdv.201600264, 12 pp.
IF 1,662; MNiSW 20 pkt. *
Udział: 70%

Indywidualny wkład: opracowanie koncepcji prac, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, przeprowadzenie badań i sformułowanie wniosków. Opracowanie części literaturowej. Współudział w opracowaniu części badawczej oraz eksperymentalnej manuskryptu. Opracowanie treści manuskryptu.

- 3. Wajs-Bonikowska A., Smeds A. I., Willför S.** Chemical composition and content of lipophilic seed extractives of some *Abies* and *Picea* species. *Chemistry and Biodiversity* **2016**, 13(9), 1194–1201; doi: 10.1002/cbdv.201600014.
IF 1,444; MNiSW 20 pkt. *
Udział: 60%

Indywidualny wkład: opracowanie koncepcji pracy. Zaplanowanie doświadczeń. Wiodący udział w przeprowadzeniu badań i sformułowaniu wniosków. Opracowanie części literaturowej. Współudział w opisie części badawczej oraz eksperymentalnej manuskryptu. Opracowanie manuskryptu.

4. **Wajs-Bonikowska A.**, Sienkiewicz M., Stobiecka A., Maciąg A., Szoka Ł., Karna E. Chemical composition and biological activity of *Abies alba* and *A. koreana* seed and cone essential oils and characterization of their seed hydrolates. *Chemistry and Biodiversity* **2015**, 12(3), 407-418; doi.org/10.1002/cbdv.201400167.
IF 1,444; MNiSW 20 pkt. *

Udział: 60%

Indywidualny wkład: Opracowanie koncepcji pracy. Zaplanowanie doświadczeń. Przeprowadzeniu badań w zakresie identyfikacji składników olejków eterycznych, przegląd literatury i sformułowaniu wniosków. Wiodący udział w opisie części badawczej oraz eksperymentalnej manuskryptu. Opracowanie manuskryptu.

5. **Wajs-Bonikowska A.**, Olejnik K., Bonikowski R., Banaszczak P. Composition of essential oils from seeds of *Abies koreana*. *Natural Product Communications* **2013**, 8(2), 227-230.
IF 0,924; MNiSW 20 pkt. *

Udział: 60%

Indywidualny wkład: Opracowanie koncepcji pracy, zaplanowanie doświadczeń, przeprowadzenie badań w zakresie identyfikacji składników olejków i sformułowanie wniosków. Opracowanie części literaturowej, badawczej oraz eksperymentalnej manuskryptu.

6. **Wajs-Bonikowska A.**, Olejnik K., Bonikowski R., Banaszczak P. Analysis of volatile components, fatty acids, and phytosterols of *Abies koreana* growing in Poland. *Natural Product Communications* **2013**, 8(9), 1297-1300
IF 0,924; MNiSW 20 pkt. *

Udział: 60%

Indywidualny wkład: Opracowanie koncepcji pracy, zaplanowanie doświadczeń i sformułowanie wniosków. Współudział w przeprowadzeniu badań. Opracowanie części literaturowej, badawczej oraz eksperymentalnej manuskryptu.

7. **Wajs A.**, Urbańska J., Zaleśkiewicz E., Bonikowski R. Composition of essential oil from seeds and cones of *Abies alba*. *Natural Product Communications* **2010**, 5(8), 1291-1294.
IF 0,894; MNiSW 20 pkt. *

Udział: 75%

Indywidualny wkład: Opracowanie koncepcji pracy, zaplanowanie doświadczeń i sformułowanie wniosków. Współudział w przeprowadzeniu badań. Opracowanie części literaturowej, badawczej oraz eksperymentalnej manuskryptu.

*pkt MNiSW – punkty zgodne z wykazem opublikowanym przez MNiSW w dniu 31 grudnia 2016 roku

Oświadczenia współautorów odnośnie ich udziału w powstawaniu wspólnych doniesień naukowych stanowiących cykl publikacji powiązanych tematycznie zostały zamieszczone w **Załączniku 5**.

Osiągnięcie będące podstawą ubiegania się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk technicznych, w dyscyplinie technologia chemiczna zostało przedstawione w cyklu publikacji o łącznym współczynniku wpływu *Impact Factor*= **10,280**, który zgodnie z kryteriami Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego opublikowanymi w komunikacie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w sprawie wykazu czasopism naukowych z 31 grudnia 2016 roku, ocenia się łącznie na **150** punktów (punktów łącznie z patentami oraz zgłoszeniami patentowymi).

Pozostałe osiągnięcia naukowe zostały opisane w publikacjach o IF =**20,361**.

Sumaryczny *Impact Factor* wynosi **30,641**

Index Hirscha według Web of Science Core Collection wynosi **6** (cytowań bez autocytowań).

Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science: 155 (bez autocytowań)

3. Omówienie osiągnięć badawczych przedstawianych do oceny

3.1. Temat badawczy i zakres

Przedstawiane do oceny osiągnięcie naukowe jest wynikiem badań prowadzonych w latach 2008–2018, z 20-sto miesięczną przerwą na dwa urlopy macierzyńskie.

Wstęp

W dzisiejszych czasach ogromne znaczenie ma wiedza, jak połączyć zapotrzebowanie na odnawialne surowce naturalne, przy jednoczesnym zachowaniu równowagi pomiędzy aspektem ekologicznym a ekonomicznym w eksploatacji zasobów naturalnych naszej planety. Lasy w Polsce stanowią blisko 30% powierzchni terytorium kraju. W innych krajach stopień zalesienia jest dużo wyższy i przykładowo dla Finlandii przekracza 70%. Szwajcaria, Chorwacji, Hiszpania i Słowenia oraz kraje nadbałtyckie szczytą się również wysokim (do 64% w Słowenii) udziałem połąci lasów w stosunku do pozostałych terenów kraju (Rysunek 1). Lasy traktowane są nie tylko jako odnawialne źródło drewna, ale i szerokiej gamy surowców wydzielanych zarówno z drewna, jak i kory, cetyny czy igieł. Produkty te znajdują zastosowanie w medycynie, przemyśle spożywczym i kosmetycznym oraz chemicznym. Zaskakujący jest fakt, iż znane wszystkim drzewa iglaste, których drewno pozyskiwane jest na szeroką skalę i wykorzystywane w budownictwie, posiadają niezbadane pod kątem składu chemicznego, części morfologiczne takie jak: szyszki i nasiona. Poszerzenie wiedzy w zakresie składu i właściwości biologicznych produktów naturalnych takich jak olejki eteryczne i ekstrakty z szyszek oraz nasion drzew iglastych może stanowić podstawę ich przyszłego wykorzystania w przemyśle np. kosmetycznym czy farmaceutycznym.

Składniki lotne roślin, będące ich wtórnymi metabolitami, a także związki biologicznie aktywne ekstraktów roślinnych, pełnią doniosłą rolę zarówno w życiu roślin, jak i człowieka. W świecie roślin rola związków lotnych sprowadza się głównie do funkcji przyciągających pożyteczne owady lub odstrasżających szkodniki. Człowiek wykorzystuje składniki lotne najczęściej w postaci olejków eterycznych, które dzięki właściwościom zapachowym stosowane są do aromatyzowania żywności i napojów. Stosowane są również w perfumerii i przemyśle kosmetycznym, a ze względu na właściwości lecznicze – w medycynie i aromaterapii. Bogactwo i różnorodność składu związków lotnych roślin uzależniona jest od wielu czynników, takich jak m. in. okres zbioru i warunki klimatyczne, i jest przyczynkiem do podejmowania szerokich badań analitycznych w celach poznawczych i aplikacyjnych.

Rola związków pozyskanych w wyniku ekstrakcji surowca roślinnego jest dużo bardziej złożona. I tak przykładowo składniki fenolowe, które zabezpieczają roślinę przed stresem oksydacyjnym, wyizolowane w postaci ekstraktów polarnych chronią organizm ludzki m. in.

przed destrukcyjnym wpływem czynników kancerogennych. Z kolei ekstrakty lipofilowe zwane olejami są powszechnie stosowane m.in. w kosmetykach jako emolienty, środki zagęszczające czy źródło cennych kwasów tłuszczowych. Oleje są ponadto nośnikiem wielu aktywnych biologicznie substancji tj.: witaminy, sterole. Analiza składników ekstraktów roślinnych zarówno mało znanych, dotąd niezbadanych, jak i szeroko stosowanych, ale poznanych w niedostatecznym stopniu, pozostaje nadal wyzwaniem.

Badania opisane w niniejszej monografii obejmowały:

- ^ wydzielenie, określenie zawartości i charakterystykę zapachową oraz oznaczenie składu olejków eterycznych z nasion i łusek szyszek następujących gatunków drzew iglastych: jodły pospolitej (*Abies alba*), jodły koreańskiej (*Abies koreana*), jodły kalifornijskiej (*Abies concolor*), świerka kaukaskiego (*Picea orientalis*) i świerka srebrnego (*Picea pungens*); (publikacje **1, 2, 4, 5, 7**)
- ^ analizę głównych, optycznie czynnych monoterpenowych składników olejków eterycznych nasion i łusek szyszek wyżej wymienionych gatunków; (publikacje **1, 2, 4, 5, 7**)
- ^ ocenę właściwości biologicznych lotnych mieszanin poprzez:
 - określenie ich aktywności antyoksydacyjnej (*A. alba*, *A. koreana*: publikacja **4**)
 - oznaczenie aktywności przeciwdrobnoustrojowej wobec wybranych szczepów bakterii i grzybów
 - ocenę wpływu olejków na przeżywalność ludzkich komórek prawidłowych i nowotworowych a także ocenę określającą wpływ olejków na podziały komórkowe

Badania mikrobiologiczne oraz cytotoksyczne przeprowadzono dla lotnych mieszanin wydzielonych z nasion i łusek szyszek z: *Abies alba*, *A. koreana*, *A. concolor*, *Picea pungens* i *P. orientalis*; (publikacje **1, 2, 4**)

- ^ determinację składu ekstraktów lipofilowych z nasion: jodły pospolitej (*Abies alba*), jodły koreańskiej (*Abies koreana*), jodły kalifornijskiej (*Abies concolor*), jodły greckiej (*Abies cephalonica*), świerka pospolitego (*Picea abies*), świerka kaukaskiego (*Picea orientalis*) i świerka srebrnego (*Picea pungens*); (publikacje **3 i 6**)
- ^ oznaczenie ilościowe składników olejku eterycznego z nasion i szyszek *Abies concolor* z wykorzystaniem metody wzorca wewnętrznego i oznaczeń współczynników korekcyjnych dla poszczególnych grup składników olejków; (publikacja **1**).
- ^ analizę związków lotnych hydrolatów pozyskanych z nasion jodły pospolitej i jodły koreańskiej; (publikacja **4**).

Narzędziami analitycznymi wykorzystanymi w oznaczaniu składników olejków i ekstraktów były metody chromatograficzne, spektrometria mas oraz jądrowy rezonans magnetyczny.

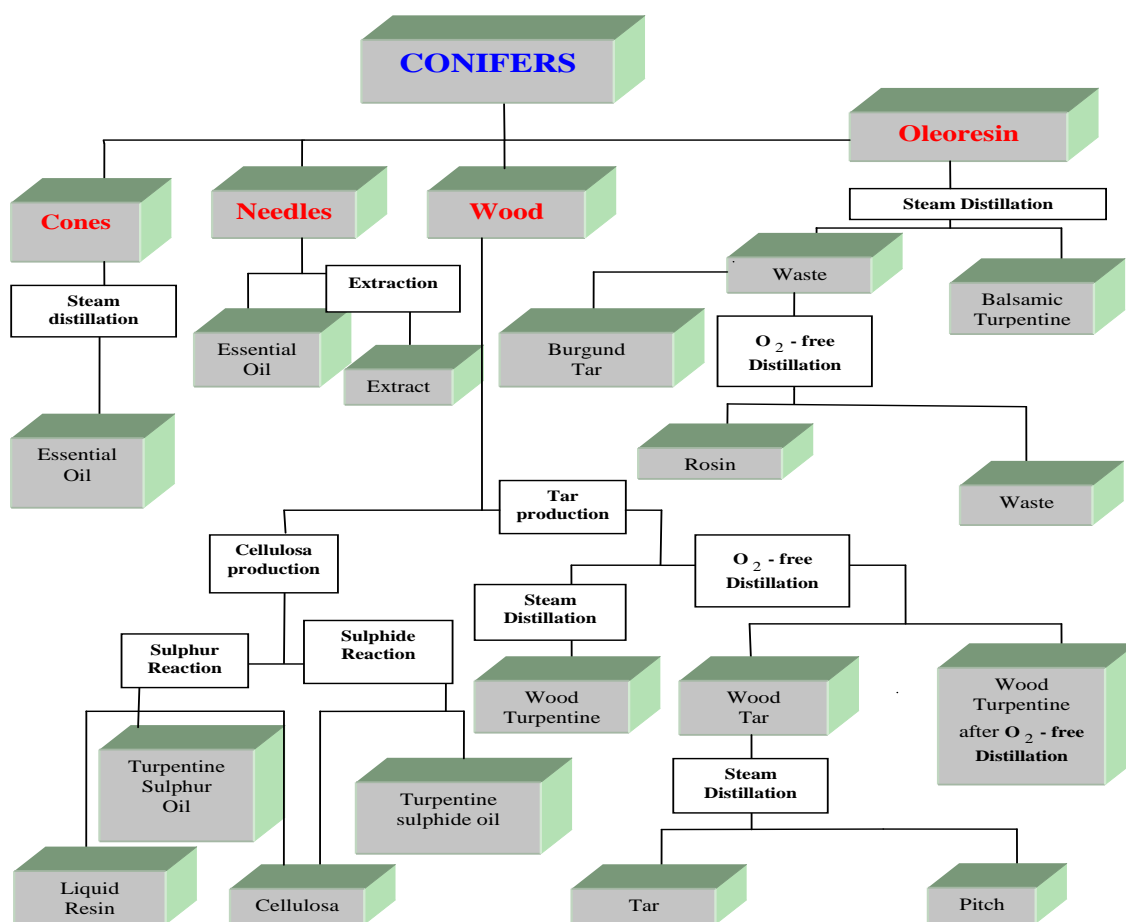
Osiągnięcie badawcze, przedstawione, jako podstawa do oceny w związku z ubieganiem się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk technicznych, w dyscyplinie technologii chemicznej, są efektem własnych badań naukowych oraz badań prowadzonych we współpracy z:

- dr hab. Moniką Sienkiewicz i dr hab. Anną Wiktorowską-Owczarek z Uniwersytetu Medycznego w Łodzi,
- dr hab. Ewą Karną i dr Jakubem Szoką z Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku,
- prof. Stefanem Willförem i dr Anniką Smeds z Uniwersytetu w Turku, w Finlandii,
- dr hab. Radosławem Bonikowskim, dr Agnieszką Krajewską i dr Agnieszką Stobiecką z macierzystej uczelni.

3.1.2. Celowość przeprowadzonych badań

Drzewa, w tym drzewa iglaste mają istotne ekonomiczne znaczenie w funkcjonowaniu społeczeństw. Stanowią one przede wszystkim odnawialne źródło cennego dla nas drewna, ale również różnorodnych produktów, półproduktów czy związków chemicznych stosowanych zarówno w medycynie, przemyśle spożywczym, kosmetycznym, jak i do produkcji farb czy lakierów. Schemat 1 obrazuje skalę wykorzystania produktów pozyskiwanych z drzew iglastych [1].

Zachowanie równowagi pomiędzy aspektem ekologicznym a ekonomicznym w eksploatacji lasów ma ogromne znaczenie. Ważne jest, aby ilość niewykorzystanych, a zarazem bogatych w wiele cennych substancji odpadów generowanych podczas wycinki lasów była minimalna. Gospodarka zasobami leśnymi związana jest z wycinką drzew, których drewno jest ważnym surowcem przemysłowym. Inne części botaniczne drzew rzadko są zagospodarowywane. W warunkach naturalnych każda materia organiczna wcześniej czy później ulegnie degradacji, wpływając na zrównoważone funkcjonowanie ekosystemu leśnego, czego doskonałym przykładem jest Puszcza Białowieska i jej zaskakująca zdolność do samoregeneracji. Natomiast, gdy drewno drzew przeznaczone jest do przerobu, pozostałe części takie jak cetyna (gałęzie z igłami), szyszki, nasiona czy kora stanowią odpad, który może stać się źródłem związków bioaktywnych.



Schemat 1. Produkty i półprodukty wydzielane na skalę przemysłową z drzew iglastych [1]

Cennymi produktami pozyskiwanymi dotychczas na skalę przemysłową, z drzew iglastych są olejki eteryczne, głównie z igliwia czy cetyny, które ze względu na różnorodność składu wykazują nie tylko odmienny, charakterystyczny dla danej rośliny lub jej organu zapach, ale również determinują właściwości terapeutyczne takiej mieszaniny. Olejki eteryczne mają właściwości konserwujące oparte na aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwgrzybowej ich składników. Wykazują też działanie przeciwutleniające. Bardzo ważną zaletą olejków jako produktów naturalnych jest ich biodegradowalność, a także to iż szczepy drobnoustrojów nie są w stanie wykształcić oporności na te naturalne mieszaniny. Ponadto olejki wykazują niską toksyczność w stosunku do organizmu ludzkiego, dzięki czemu mogą być wykorzystywane jako substytuty antybiotyków lub mieszaniny działające w sposób synergiczny ze związkami bakterio- i grzybobójczymi [2].

Kolejnymi surowcami omawianymi w niniejszej monografii są ekstrakty lipofilowe, które pozyskałam z nasion wybranych gatunków drzew iglastych. Ekstrakty te składają się głównie z triglicerydów oraz wolnych kwasów tłuszczowych. Tłuszcze odgrywają doniosłą rolę w organizmach zwierzęcych i roślinnych. Są one nie tylko źródłem energii dla większości

tkanek, ale pełnią również rolę nośnika dla witamin rozpuszczalnych w tłuszczach oraz dostarczają niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych [3].

Niegasnącym zainteresowaniem naukowców cieszą się sterole roślinne czyli fitosterole. Aktualnie trwają badania nad zdolnością związków z tych grup wspomaganie leczenia różnego typu nowotworów, egzem, łuszczycy, cukrzycy czy syndromu chronicznego zmęczenia. Fitosterole stosuje się z powodzeniem w profilaktyce przerostu prostaty. Co istotne są one związkami zmniejszającymi stężenie cholesterolu w surowicy krwi w wyniku hamowania jego wchłaniania. Fitosterole są również efektywnym stymulatorem układu immunologicznego [3].

Wydawałoby się, iż tylko w niedostępnych regionach świata takich jak Amazonia czy Borneo jest jeszcze niezbadana przez człowieka fauna i flora. Okazuje się, iż nawet popularne gatunki drzew szpilkowych klimatu umiarkowanego, posiadają niezbadane pod kątem składu chemicznego, części morfologiczne. Najmniej poznanym, a w przypadku wielu gatunków iglaków w ogóle niezbadanym organem drzew iglastych są nasiona. Badania dotyczące określenia składu szyszek również są fragmentaryczne. Istnieje wiele doniesień na temat zawartości, składu olejków eterycznych, olejków lotnych czy ekstraktów ale w drewnie, igłach, cetynie, korze czy nawet korzeniach drzew iglastych [1-6]. Natomiast nieliczne, a nawet szczątkowe (oznaczono maksymalnie kilka związków) są informacje dotyczące składu olejków eterycznych nasion i szyszek drzew iglastych [7-15]. Co więcej brak jest informacji nt. ich właściwości biologicznych. Badania opisane w cyklu publikacji powiązanych tematycznie, poza opisem związków lotnych, dotyczą również określenia składu ekstraktów lipofilowych nasion drzew iglastych, które we wcześniejszych badaniach zawężone były głównie do identyfikacji kwasów tłuszczowych [16,17].

W niniejszym opracowaniu opisałam badania nasion i łusek szyszek wybranych gatunków drzew iglastych z rodziny *Abies* (jodła) i *Picea* (świerk). Eksperymenty przeprowadziłam na czterech gatunkach jodły: *Abies alba* (jodła pospolita), *Abies koreana* (jodła koreańska), *Abies concolor* (jodła kalifornijska), *Abies cephalonica* (jodła grecka), oraz trzech gatunkach świerka: *Picea abies* (świerk pospolity), *Picea orientalis* (świerk kaukaski) i *Picea pungens* (świerk srebrny). Odmienna budowa morfologiczna i rola jaką spełniają w przyrodzie nasiona i łuski szyszek skłoniły mnie do badania ich pod kątem składu, jako odrębnych struktur drzewnych. Proces separacji nasion od łusek szyszek jest rutynowym zabiegiem prowadzonym w szkółkach leśnych skupujących materiał siewny.

W artykułach stanowiących cykl publikacji poddany ocenie, szczególnie silny nacisk położyłam na eksperymenty pozwalające ocenić skład nasion jodeł, które ze względu na ich kilkukrotnie większe rozmiary od nasion świerkowych, charakteryzowały się wyższą

zawartością olejku eterycznego i oleju. Cykl publikacji zawiera również analizę związków lotnych łusek szyszek wybranych gatunków jodeł i świerków oraz dane opisujące właściwości biologiczne olejków zarówno z nasion jak i łusek szyszek. Dokonałam również charakterystyki składu ekstraktów z nasion wszystkich wyżej wymienionych siedmiu gatunków drzew iglastych.

Celowe jest badanie składu surowców roślinnych mając do dyspozycji materiał pochodzący z wielu egzemplarzy drzew. Publikacja nr 5 niniejszej monografii, w której dokonałam porównania składu nasion, łusek szyszek i igieł z 9 egzemplarzy jodły koreańskiej wskazuje na niekiedy znaczne różnice w obrębie jednego gatunku, rozwijającego się na terenie o powierzchni około 1000 m². Niestety warunek identyfikacji składników pochodzących z co najmniej dwóch egzemplarzy drzew nie zawsze mógł być spełniony w stosunku do innych niż jodła koreańska gatunków iglaków. Spowodowane jest to faktem, iż surowiec roślinny pozyskiwany był z narażeniem zdrowia przez autorkę niniejszych artykułów, z niekiedy bardzo wysokich egzemplarzy jodeł czy świerków. W okresie kiedy nasiona były całkowicie wykształcone i gotowe do „podróży w świat”, szyszki zrywałam ręcznie ze szczytowych partii drzew. Fakt utrudnionego pozyskiwania surowca do badań może być jedną z przyczyn tak ubogiej dotychczasowej literatury na ten temat.

3.1.3. Charakterystyka i wykorzystanie badanych gatunków drzew

Lasy w Polsce stanowią zajmują obszar wynoszącym ponad 9 mln ha. Obszary leśne w 60% złożone są sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris*). Dominacja sosny wynika ze sposobu prowadzenia gospodarki leśnej nie tylko w przeszłości, ale i w obecnych czasach. Takie monokultury są odpowiedzią na zapotrzebowanie przemysłu drzewnego, jednakże są one mało odporne na czynniki zarówno klimatyczne, jak i związane z destrukcyjną działalnością szkodników. W związku z tym systematycznie zwiększa się w lasach udział innych gatunków drzew.

W ramach prac rozszerzających wiedzę na temat składu nasion i szyszek drzew iglastych dokonałam wydzielenia i analizy lotnych związków z nasion sosny zwyczajnej. Badania te nie zostały opublikowane ze względu na ich niskie walory poznawcze i użytkowe. Nasiona sosny są bowiem bardzo drobne i pozbawione niemalże składników lotnych. Wydajność olejku eterycznego z nasion *P. sylvestris*, plasowała się na poziomie 0,08%, a jego walory zapachowe były niskie.

Gatunkiem, którego nasiona i łuski szyszek poddałam szczególnie wnikliwej ocenie była jodła pospolita. *Abies alba* jest głównym i jedynym naturalnie występującym przedstawicielem rodzaju *Abies* w Polsce, a co za tym idzie ma największe znaczenie ekonomiczne i ekologiczne. Uważa się, iż obecnie nie jest gatunkiem zagrożonym.

ograniczony obszar występowania, mają szcążkowe zastosowanie; generalnie są stosowane jako budulec i do produkcji masy celulozowo-papierniczej [18,19]. Interesujące jest to, że olejki eteryczne z igieł jodły koreańskiej są składnikami wielu nowo opatentowanych produktów kosmetycznych [20-24]. Stosuje się je do wybielania skóry [20], są też przydatne w leczeniu chorób alergicznych, takich jak atopowe zapalenie skóry i astma [21,23]. Kosmetyki zawierające olejek z igieł z jodły koreańskiej mogą również hamować syntezę melaniny w komórkach dzięki efektowi antyoksydacyjnemu i zapewniać efekt ochronny skóry wobec promieniowania UV [22].

Kolejnym bardzo popularnym gatunkiem powszechnie stosowany w leśnictwie, do produkcji drewna, celulozy i papieru, a dodatkowo jako tarcica budowlana, na choinki świąteczne i płyty dźwiękowe instrumentów muzycznych [2,18,19] jest świerk pospolity (*Picea abies*) - szeroko rozpowszechniony w Europie Północnej, Środkowej i Wschodniej. Olejek eteryczny z igieł i gałązek wykazuje działanie antyseptyczne i wykrztuśne. Wywar otrzymywany z młodych pędów łagodzi bóle mięśniowe. Z kolei żywica używana jest do produkcji maści i plastrów rozgrzewających. W przemyśle kosmetycznym wykorzystywany jest olejek z igieł świerkowych, jako środek tonizujący, zaś wyciąg z młodych igieł działa przeciwłupieżowo.

Świerk kaukaski (*Picea orientalis*) i świerk srebrny (*Picea pungens*) to gatunki rosnące naturalnie, odpowiednio na Kaukazie i w Górach Skalistych, w Stanach Zjednoczonych. Drewno *P. orientalis* jest stosowane w budownictwie i przemyśle meblarskim [18,19]. Większość wymienionych gatunków została zaintrydukowana poza obszarami swojego naturalnego występowania, gdzie stały się drzewami nasadzeniowymi lub ozdobnymi. Z gatunków tych wydzielane są takie produkty jak oleożywice, żywice, ekstrakty, olejki eteryczne, olejki lotne, czyste związki itp. Produkty te stosowane są w medycynie ludowej. Pomimo szerokiej dystrybucji i ekonomicznych zastosowań surowców naturalnych z gatunków *Abies* i *Picea*, brak jest szczegółowych badań dotyczących składu chemicznego olejków eterycznych z nasion i szyszek oraz ekstraktów z nasion jodeł czy świerków. Przykładowo dotychczas na skalę przemysłową wydziela się olejki eteryczne głównie z cetyny: jodły syberyjskiej, jodły pospolitej (dodatkowo wydziela się tzw. terpentynę strasburską), jodły balsamicznej (oprócz olejku otrzymuje się również balsam kanadyjski), jodły kalifornijskiej, kaukaskiej i sachalińskiej [25]. Olejki zaś z igliwia jodły pospolitej, syberyjskiej i balsamicznej są stosowane do aromatyzowania płynów do kąpieli, mydeł, dezodorantów, i odświeżaczy powietrza. Olejki jodłowe są składnikami leśnych kompozycji zapachowych i męskich kompozycji perfumeryjnych [19,26]. Ze względu na to, iż olejki eteryczne z nasion czy szyszek drzew iglastych są słabo przebadanymi produktami nie były one w centrum zainteresowani przemysłu kosmetycznego czy farmaceutycznego.

3.2. Charakterystyka związków lotnych nasion i szyszek wybranych gatunków drzew

Olejki eteryczne jako wieloskładnikowe mieszaniny, głównie związków terpenowych, są cennym produktem naturalnym oraz stanowią źródło pozyskiwania wielu biologicznie aktywnych składników, o często wysokich walorach zapachowych, przeciwdrobnoustrojowych i antyoksydacyjnych, cytotoksycznych wobec wielu nowotworowych linii komórkowych [2,27].

3.2.1 Wydajność olejków eterycznych z nasion i szyszek oraz ich charakterystyka zapachowa

Wydajność olejków eterycznych waha się najczęściej w przedziale 0,1-2%. W tym zakresie mieszczą się również wydajności olejków eterycznych z igieł drzew iglastych. Uznaje się, że surowce takie jak drewno cedru czy sandałowca, zawierające do 5% olejków eterycznych, stanowią ich bogate źródło. Rekordzistą wśród roślin olejkodajnych są paki goździka, które mogą zawierać nawet do 19% tej lotnej, aromatycznej mieszaniny [2].

Zaskakujący był fakt, że badane nasiona trzech gatunków jodły okazały się być bardzo bogatym źródłem olejków eterycznych. Najlepszym surowcem olejkodajnym są nasiona jodły pospolitej, zawierające 7,4-14,3% (średnio 11,4%) olejku eterycznego (publikacje 4 i 7). Nasiona *A. koreana* charakteryzowały się obecnością olejku na poziomie od 3,2-8,5% (średnio 4,9%; publikacja 4 i 5). W tym samym zakresie mieściła się wydajność olejku z nasion *A. concolor* plasująca się na poziomie 5,4% (publikacja 1).

Olejki eteryczne z nasion zarówno *A. alba*, *A. koreana*, jak i *A. concolor* charakteryzują się bardzo przyjemnym, świeżym, leśnym zapachem z lekką cytrusową nutą. Na bukiet zapachowy olejków jodłowych wpływ miał fakt, iż zawierały one od około 50% do nawet ponad 80% (S)-(-)-limonenu.

Zawartość związków lotnych w łuskach szyszek jodeł była znacznie niższa (nawet dwudziestokrotnie) niż w nasionach tego rodzaju. I tak dla łusek szyszek jodły pospolitej i koreańskiej średnia wydajność olejku wynosiła 0,6%, a dla szyszek jodły kalifornijskiej 0,4%.

Nasiona świerków, znacznie drobniejsze od nasion jodeł, charakteryzowały się niższą zawartością składników lotnych niż nasiona rodzaju *Abies*. Wydajność olejku eterycznego z nasion *P. pungens* wynosiła 1,2%, zaś z nasion *P. orientalis* 0,2%. Uwagę zwraca stosunkowo wysoka w porównaniu z szyszkami jodeł, wydajność olejku z łusek szyszek świerków, wynosząca 0,4% dla obu gatunków świerka.

Olejki z łusek szyszek, ze względu m.in na znacznie mniejszy udział monoterpenu, z drugiej zaś strony często na obecność trudnolotnych związków o szkielecie diterpenowym, charakteryzowały się żywicznym zapachem z ziemistą nutą.

3.2.2. Skład olejków eterycznych z nasion i łusek szyszek wybranych gatunków drzew iglastych

Olejki eteryczne to skomplikowane wieloskładnikowe mieszaniny. Dotychczas poznano struktury kilku tysięcy lotnych składników roślin należących do mono- i seskwiterpenów [2], a mimo to nadal publikowane są prace naukowe ukazujące nowe, dotychczas nieznanne lotne związki. Ponieważ wiedza na temat olejków nasion czy szyszek drzew iglastych jest fragmentaryczna, celowym wydawało się przeprowadzenie eksperymentów związanych z wyizolowaniem jak największej liczby czystych związków w poszukiwaniu nowych, dotychczas nieodkrytych połączeń oraz potwierdzenie struktur składników olejków niepodważalnymi metodami analitycznymi (NMR). Czynnikiem umożliwiającym mi wydzielenie składników olejków była dostatecznie wysoka ich wydajność. Jak wspomniałam wcześniej pozyskanie surowca z wysokich partii drzew nie należy do spraw łatwych i często (mimo chęci) jest nieosiągalne. Dlatego też szczegółowej analizie składników olejków nie tylko metodą GC-MS ale i NMR dokonałam dla produktów pozyskanych z nasion *A. alba*, *A. koreana* i *A. concolor* oraz dla olejku z szyszek *A. alba* – surowców olejkodajnych pozyskanych w dostatecznej ilości. Olejki eteryczne wydzielone zostały w procesie kilkugodzinnej destylacji z parą wodną zmielonych nasion lub łusek szyszek a wstępną identyfikację składników lotnych mieszanin przeprowadzono metodami chromatografii gazowej i spektrometrii mas. W kolejnym etapie olejek eteryczny frakcjonowano na drodze rektyfikacji pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość po rektyfikacji (pogon) poddawany był następującym po sobie rozdziałom metodą chromatografii faszowej, monitorowanym metodą chromatografii cienkowarstwowej, w celu wydzielenia składników o jak najwyższej czystości, których struktury potwierdzano metodą jądrowego rezonansu magnetycznego: ^1H i/lub ^{13}C -NMR. Proces rektyfikacji olejku eterycznego nie generował powstania artefaktów w pogodnie. Skład jakościowy pogonu był identyczny jak skład trudniej lotnej frakcji odpowiednich olejków eterycznych, co było potwierdzone metodą GC-MS. Związki, których obecność w olejkach wybranych gatunków jodeł potwierdzono metodami NMR zostały wyszczególnione w artykułach **1**, **5** i **7**.

Olejki eteryczne z jodły pospolitej (*Abies alba*)

Dotychczasowe badania związane z analizą składu olejku z nasion jodły pospolitej były przedmiotem dwóch publikacji, z lat 50-tych i 70-tych XX w. [9,10], zaś skład związków lotnych szyszek został przedstawiony w jednym doniesieniu naukowym [11].

Badaniu poddałam próbki nasion i łusek szyszek jodły pospolitej, zebrane w różnych miejscach (łódzkie, Bieszczady) i w różnych latach (2007 r. i 2012 r., publikacje **4** i **7**). Skład jakościowy pozyskanych olejków eterycznych zarówno z trzech próbek nasion, jak i dwóch próbek szyszek był podobny, jakkolwiek wyraźne były różnice ilościowe pomiędzy składnikami olejków nasion i szyszek. W olejkach oznaczyłam ponad 100 związków,

obecność 16 potwierdziłam metodą $^1\text{H NMR}$. Olejki z jodły pospolitej składały się głównie z węglowodorów monoterpenowych, których zawartość przekraczała nawet 90%. Cechą charakterystyczną olejków z nasion była wysoka zawartość limonenu, stanowiącego od 70% do 83%. Podobnie jak miało to miejsce dla nasion *A. marocana* i *A. nordmanniana*, dla których dane literaturowe odnotowują zawartość limonenu na poziomie około 70% [7,8]. Kolejne ważne składniki tego olejku stanowiły α -pinen (6,3-11,5%), β -pinen (1,0-2,1), mircen (1,6-2,9%). Dwoma głównymi składnikami olejku z szyszek były te same monoterpeny, co w olejku z nasion, ale w odmiennych proporcjach, α -pinen stanowił 50-57%, a limonen 10-27%.

Wszystkie olejki jodłowe zawierały węglowodory seskwiterpenowe, stanowiące w olejku z nasion ok. 5%. Głównymi związkami z tej grupy były: (*E*)- β -kariofilen oraz δ - i γ -kadinen.

Najważniejszymi składnikami tlenowymi olejków były borneol (0,3% w olejku z szyszek) i octan bornylu. W tabeli 1 umieszczono główne składniki i skład grupowy olejków eterycznych z nasion i szyszek jodły pospolitej.

Olejki eteryczne z jodły koreańskiej (*Abies koreana*)

Zgodnie z moją najlepszą wiedzą brak jest jakichkolwiek doniesień na temat składników lotnych nasion *A. koreana*, natomiast dostępne jest jedno doniesienie literaturowe opisujące skład olejku z całych szyszek jodły koreańskiej [12]. Olejki eteryczne z nasion i szyszek izolowałam oddzielnie z materiału pozyskanego z 10 egzemplarzy drzew. Skład tych olejków przedstawiłam w publikacjach **4** (zbiór surowca w 2012 r.), **5** i **6** (zbiór surowca w 2009 r.). W badanych przeze mnie olejkach sumarycznie zidentyfikowałam ponad 100 terpenów, wśród których dominowały, tak jak i w jodle pospolitej, węglowodory monoterpenowe, stanowiące od 70 do 95% olejku (artykuł **5**, **6**). W grupie tej, jak i w całym olejku dominował, podobnie jak w przypadku jodły pospolitej, limonen stanowiący w zależności od egzemplarza drzewa od 40 do 70% (średnio 56,5%). Składnik ten występował również w łuskach szyszek, ale na wielokrotnie niższym poziomie wynoszącym średnio 9,4%. Olejki z szyszek jodły koreańskiej zdominowane były, podobnie jak w przypadku jodły pospolitej, przez α -pinen, którego średnia zawartość wynosiła ok. 50%. Pozostałymi węglowodorami monoterpenowymi o najwyższej zawartości w olejkach z nasion i szyszek jodły koreańskiej były: β -pinen, kamfen i mircen. Charakterystyczną cechą wszystkich olejków z *A. koreana* była stosunkowo wysoka zawartość seskwiterpenowego alkoholu intermedeolu (do 3% w nasionach i do 1,5% w szyszkach).

Cechą zaś odróżniającą olejki z tego gatunku od olejków jodły pospolitej była wyższa zawartość tlenowych monoterpenów, stanowiących od 1 do 20% olejku. Głównym z nich był octan bornylu, którego zawartość w olejku z nasion wahała się od 0,4% do nawet 18,5% (średnio 7,3%), a w olejku z szyszek wynosiła średnio 2,2%. Polichemizm w obrębie olejków eterycznych jest zjawiskiem szeroko rozpowszechnionym wśród roślin. Różnice te mogą wynikać z faktu, że biosynteza terpenoidów jest kontrolowana przez czynniki genetyczne.

Różnice składu mogą być również wynikiem zmienności ontogenetycznej, która determinowana jest przez wiele czynników środowiskowych. Na podstawie różnic w składzie chemicznym można wyodrębnić chemotypy lub tzw. rasy chemiczne [28, 29]. W obrębie gatunku *A. koreana* nie obserwowałam różnic w jakościowym składzie olejków, który dla materiału z 9 egzemplarzy drzew zebranych w 2009 r. był prawie identyczny. Różnice dotyczyły jedynie zawartości poszczególnych składników. Niższa zawartość węglowodorów monoterpowych, głównie limonenu, α -pinenu, kamfenu skutkowałam wyższą zawartością ich tlenowych pochodnych, głównie octanu bornylu i borneolu, podczas gdy stosunek węglowodorów seskwiterpenowych do ich tlenowych pochodnych nie zmieniał się aż tak drastycznie.

Olejki eteryczne z jodły kalifornijskiej (*Abies concolor*)

A. concolor, powszechnie znana jako jodła kalifornijska, jest gatunkiem rodzimym dla gór zachodniej części Ameryki Północnej [30]. Pomimo iż rdzenni mieszkańcy Ameryki stosowali produkty pozyskane z jodły w celach leczniczych, badania naukowe na jej temat są nieliczne, głównie dotyczą olejków eterycznych z igieł i ekstraktów z kory oraz składu kwasów tłuszczowych nasion [16,31,32]. Nie znalazłam informacji nt. lotnych składników nasion czy szyszek jodły kalifornijskiej. Nowością w stosunku do wykonanej przeze mnie analizy olejków z jodły pospolitej i koreańskiej, było oznaczenie bezwzględnej (g/100 g) zawartości składników olejków jodły kalifornijskiej metodą wzorca wewnętrznego z wykorzystaniem współczynników korekcyjnych. Stosowana rutynowo w analizie olejków eterycznych metoda normalizacji wewnętrznej zafałszowuje często zawartości związków, szczególnie tlenowych pochodnych terpenów, a co za tym idzie zawartość procentowa nie jest jednoznaczna z zawartością składnika w olejku. Skład olejków z nasion i szyszek przedstawiłam w publikacji 1.

Metody chromatograficzne i spektroskopowe pozwoliły zidentyfikować w badanych olejkach eterycznych blisko 100 związków, które stanowiły odpowiednio 97% i 92% olejku z nasion i łusek szyszek. Oznaczone grupy związków z nasion i szyszek jodły kalifornijskiej przedstawiłam w tabeli 1. Główną grupą terpenów wykrytą w olejkach były, tak jak i dla poprzednio opisanych gatunków jodeł, węglowodory monoterpowe, stanowiące odpowiednio 93% i 79%. Wartości te są zbliżone do podawanych w literaturze danych dla olejku z igieł *A. concolor*, w którym węglowodory monoterpowe stanowiły blisko 90% [31,32]. Dominującymi węglowodorami monoterpowymi i jednocześnie głównymi składnikami olejku eterycznego były limonen (47%) i α -pinen (40%). Cechą odróżniającą olejek z nasion jodły kalifornijskiej w stosunku do jodły pospolitej i koreańskiej była niższa zawartość limonenu na korzyść wyższej zawartości α -pinenu.

Do głównych składników olejku z łusek szyszek *A. concolor* należały te same węglowodory monoterpowe, które dominowały w olejkach z szyszek jodły pospolitej i koreańskiej, czyli α -pinen (58%) i β -pinen (4,5%), ale olejek wyróżniał się wysoką

zawartością sabinenu (11%). Drugą co do zawartości grupą charakteryzującą olejek z nasion *A. concolor* były, podobnie jak dla nasion *A. alba* i *A. koreana*, węglowodory seskwiterpenowe stanowiące 1,9%, wśród nich dominowały: γ -kadinen, α -muurolen i α -kopaen. Ta grupa terpenów stanowiła od 5% do nawet 10% olejku z igliwia *A. concolor* [31,32].

W przeciwieństwie do olejku z nasion, drugą główną i najliczniejszą grupą w badanym olejku z szyszek jodły jednobarwnej były tlenowe pochodne monoterpenów (9,2%). W grupie tej przeważały terpinen-4-ol (1,9%), myrtenol i werbenon (2,2%), *trans*-pinokarweol (1,4%) oraz *trans*-werbenol (1,2%). Warto zauważyć, że głównymi tlenowymi pochodnymi monoterpenów w olejku z igieł były octan bornylu i α -terpineol, który w zależności od pochodzenia stanowił odpowiednio 20% i 7% olejku eterycznego [31,32]. Octan bornylu, oznaczono w badanych nasionach *A. concolor* i olejku z szyszek na bardzo niskim poziomie (około 0,3%). Związek ten był jednym z głównych związków lotnych również w badanych nasionach (do 18,6% olejku), oraz szyszkach *A. koreana* (do 12,4% olejku); jednak zawartość tego związku zależała silnie od egzemplarza drzewa. Co ciekawe, octan bornylu stanowił jedynie śladowe ilości olejków eterycznych z nasion i szyszek *A. alba* (publikacje 4 i 7).

Tlenowe pochodne seskwiterpenów obecne były w olejku z jodły kalifornijskiej w mniejszej zawartości zarówno w olejku z nasion (0,2%), jak i z szyszek (0,04%), w porównaniu do olejku z igieł z tego gatunku (do 6,4%) [31,32] oraz badanych przez mnie olejków z jodły pospolitej (do 1,5%) i koreańskiej (do 1,6%).

Skład jakościowy olejków z nasion i szyszek *A. concolor* były bardziej zróżnicowany niż odpowiednich olejków jodły pospolitej i kanadyjskiej. Ostatecznie spośród 98 związków zidentyfikowanych w obu olejkach z jodły kalifornijskiej, 61 substancji lotnych było obecnych tylko w olejku z nasion, zaś 70 terpenów tylko w olejku z szyszek. Najbardziej znaczące różnice odnotowałam w stosunku do zawartość limonenu, który stanowił 47% w olejku z nasion, podczas gdy w olejku z szyszek występował na poziomie poniżej 3%. Co więcej, sabinen – jeden z głównych związków olejku z szyszek (11%), stanowił jedynie 0,2% olejku z nasion. Inną determinantą odróżniającą olejek z szyszek od olejku z nasion była wyższa zawartość tlenowych pochodnych monoterpenowych, które stanowiły odpowiednio 9% i 0,7% w olejku z nasion i łusek szyszek. Prawdopodobnie ze względu na zdrewniałą strukturę łusek szyszek oraz zdolność do wytwarzania żywicy, olejek z szyszek zawierał również wyższe zawartości diterpenów, 3%, podczas gdy olejek z nasion zawierał jedynie śladowe ilości tych terpenów.

Tabela 1. Charakterystyka składu olejków eterycznych badanych gatunków drzew

	<i>Abies alba</i> ^a			<i>Abies koreana</i> ^b			<i>Abies concolor</i> ^c		<i>Picea pungens</i> ^d		<i>Picea orientalis</i> ^d	
	Hydrolat	Nasiona [%]	Szyszki [%]	Hydrolat	Nasiona [%]	Szyszki [%]	Nasiona [g/100 g]	Szyszki [g/100 g]	Nasiona [%]	Szyszki [%]	Nasiona [%]	Szyszki [%]
Liczba zidentyfikowanych składników	25	do 90	do 104	49	do 96	do 81	58	64	70	63	93	68
Dominujący związek	selin-6-en-4-ol	(S)-limonen	(1S,5S)- α -pinen	intermedeol	(S)-limonen	(1S,5S)- α -pinen	(S)-limonen	(1S,5S)- α -pinen	(S)-limonen	(S)-limonen	(1R,5R)- β -pinen	(1R,5R)- β -pinen
<i>Węglowodory monoterpene</i>		do 93,4	do 86,4		do 85,0	do 87,4	92,98	78,88	86,0	90,2	62,8	84,8
<i>Tlenowe pochodne monoterpenu</i>	0,8	do 1,1	do 8,0	12,4	do 13,3	do 19,9	0,71	9,23	10,6	7,8	24,7	10,9
<i>Węglowodory seskwiterpenowe</i>		do 7,0	do 5,8		do 2,7	do 0,8	1,89	0,49	$\leq 0,05$	$\leq 0,05$	3,6	2,3
<i>Tlenowe pochodne seskwiterpenów</i>	95,4	do 3,6	do 3,9	83,1	do 0,9	do 1,6	0,21	0,04	$\leq 0,05$	$\leq 0,05$	2,8	0,4
<i>Węglowodory diterpenowe</i>		0	do 0,2		do 0,1	do 0,2	0,06	1,32	0,8	0,3	1,7	0,3
<i>Tlenowe pochodne diterpenów</i>		do 0,2	do 0,2		do 0,1	do 0,1	-	1,50	$\leq 0,05$	0,2	2,1	0,5
<i>Inne</i>							0,01	0,03	0,7	0,2	1,3	0,1
Suma zidentyfikowanych	95,6	do 99,9	do 98,3	96,3	do 99,3	do 98,5	95,86	91,87	98,1	98,7	99,0	99,3
Zawartość związków lotnych [mg/l]	10,7			37,3								

^a – dane z publikacji 4 i 7; ^b – dane z publikacji 4-6, ^c - dane z publikacji 1; ^d - dane z publikacji 2

Olejki eteryczne ze świerka srebrnego (*Picea pungens*) i świerka kaukaskiego (*P. orientalis*)

Pomimo, iż świerk srebrny i kaukaski są popularnym gatunkami w swoich naturalnych rejonach występowania, a ich uroda sprzyja nasadzeniom w wielu krajach Europy, Ameryki oraz Azji, literatura na temat składu olejków eterycznych i ekstraktów z różnych organów omawianych gatunków jest dość fragmentaryczna. Istnieją nieliczne publikacje, w których opisano skład lotnych terpenów szyszek obu gatunków świerków [13,14]. Nasiona *P. pungens* i *P. orientalis* badane były głównie pod kątem składu kwasów tłuszczowych [14,15], a dodatkowo nasiona świerka kaukaskiego pod kątem składników ekstraktu [33,34].

W wyniku przeprowadzonych eksperymentów w olejkach świerkowych oznaczyłam związki, które stanowiły 98-99% wszystkich składników. Podobnie, jak dla olejków z jodeł, główną grupą terpenową olejków świerkowych były węglowodory monoterpenowe stanowiące od 63% do 90% olejków. Limonen, α - i β -pinen były głównymi terpenami obu badanych gatunków *Picea*, jednak wykryto je w różnych stężeniach.

Dominującym składnikiem olejku nasion i szyszek świerka srebrnego był limonen, stanowiący około 44%. Był to również główny związek, co potwierdzają dane literaturowe, dla olejku z szyszek (40%), z igieł (30%) i ze ściółki (31%) [13]. Innymi głównymi lotnymi składnikami tego gatunku świerka były: β -pinen (nasiona: 23%, szyszki: 25%) i α -pinen (nasiona: 16%, szyszki: 19%). Dane te są zgodne z wynikami prac Hanovera, według którego olejki eteryczne z szyszek zawierały głównie limonen (40%), β -pinen (31%) i α -pinen (15%) [13]. α -Pinen jest dominującym składnikiem olejków z drewna, kory i gałązek *P. pungens* [13,15].

Limonen, α - i β -pinen, są również głównymi związkami w olejkach eterycznych z nasion i szyszek *Picea orientalis*, lecz występują w odmiennych proporcjach. Dominującą lotną substancją był β -pinen (26%, nasiona) i (36%, szyszki). Limonen oznaczono odpowiednio w ilości 19% i 17% olejku z nasion i szyszek. Szyszki świerka kaukaskiego zawierały 2 razy więcej (27%) α -pinenu niż nasiona (14%). Wyniki dotyczące olejku z szyszek są zbliżone do wcześniejszych danych literaturowych na ten temat [14].

Skład olejku z nasion i szyszek świerka srebrnego był podobny. Większość składników występujących w nasionach oznaczyłam również w szyszkach, jakkolwiek nasiona były bardziej bogate w seskwiterpeny oraz diterpeny i ich tlenowe pochodne, co jest dość zaskakującym faktem.

Z kolei olejki z nasion i szyszek świerka kaukaskiego znacząco różniły się składem. Najbardziej zauważalną różnicą była niższa zawartość węglowodorów monoterpenowych w olejku z nasion (63%) w stosunku do olejku z szyszek (85%). Skutkowało to wyższą zawartością głównie tlenowych pochodnych węglowodorów monoterpenowych w olejku z nasion (25%), w szyszkach grupa ta stanowiła 11%.

Spośród 109 zidentyfikowanych przeze mnie związków w badanych olejkach świerkowych, najliczniejszą, stanowiącą prawie 40% wszystkich zidentyfikowanych substancji lotnych, były tlenowe pochodne monoterpenów. Najważniejsze z nich to: *trans*-pinocarveol (1,5-3,8%), myrtenol (1,1-3,5%) i *trans*-carveol (0,3-1,2%). W wyżej wymienionej grupie terpenów wykryto wiele par izomerów, tj. wodzian *cis*- i *trans*-sabinenu, *cis*- i *trans*-pinokarweol, *cis*- i *trans*-karweol, *cis*- i *trans*-p-menta-2,8-dien-1-ol, *cis*- i *trans*-werbenol, α - i β -felandren-8-ol itd.

Węglowodory seskwiterpenowe, jak i diterpenowe oraz ich tlenowe pochodne stanowiły względnie mało liczną grupę związków wśród zidentyfikowanych przeze mnie substancji lotnych we wszystkich badanych olejkach eterycznych ze świerków. Najwyższą zawartość tych grup terpenowych zaobserwowałam dla nasion *P. orientalis* (10%).

Charakterystyczne jest to, że w przeciwieństwie do olejków z szyszek obu gatunków świerków, olejki eteryczne z nasion zawierały śladowe ilości wyższych alkanów.

3.2.2. Skład enancjomeryczny głównych węglodorów monoterpenowych olejków

Naturalne olejki eteryczne zwykle charakteryzują się przewagą jednego z enancjomerów danego terpenu. Ze względu na odmienne cechy zapachowe i właściwości biologiczne istnieje potrzeba ich identyfikacji w produktach naturalnych.

Na rynku dostępnych jest wiele izolatów wydzielonych w postaci czystych składników z olejków. Przykładem może być cytral pozyskiwany z olejku *Listea cubeba*, geraniol z olejku palmarozowego, linalol z olejku z liści *Cinamonnum camphora*, α - i β -pineny z olejków sosnowych, czy santalol z olejku z drewna sandałowego [2]. Obecne trendy „zielonej chemii” oraz tendencje do stosowania składników naturalnych dyskwalifikują syntetycznie otrzymane enancjomery jako potencjalne składniki aromatów spożywczych czy perfum.

Forma prawoskrętna limonenu jest dużo bardziej rozpowszechniona w świecie roślin niż forma lewoskrętna. (*R*)-(+)-Limonen jest głównym składnikiem m. in olejku z owoców cytrusów. Związek ten ze względu na swój atrakcyjny, świeży zapach cytrusowy z nutą pomarańczową jest stosowany w perfumerii. Racemat zaś w produktach chemii gospodarczej [2]. Z kolei forma lewoskrętna limonenu charakterystyczna jest dla terpentyny i olejków z igieł iglaków.

Jak wykazały moje badania lewoskrętna forma limonenu w olejkach z nasion badanych przeze mnie gatunków zarówno jodeł, jak i świerków była dominująca ($\geq 98\%$). Jest to cenny związek zapachowy, który charakteryzuje się leśnym, terpentynowym zapachem, z lekką nutą cytrusową. Dzięki wysokiej zawartości (*S*)-limonenu w olejku, szczególnie z nasion jodeł, produkt ten może stanowić bogate odnawialne źródło tegoż składnika.

Również pozostałe główne węglowodory monoterpenowe występowały zwykle w postaci form lewoskrętnych. Nadmiar enancjomeryczny form lewoskrętnych badanych przeze mnie

głównych węglowodorów monoterpenowych wahał się w przedziale od 58 do 98%, z wyjątkiem β -pinenu w olejku z nasion i szyszek jodły kalifornijskiej. Proporcje poszczególnych enancjomerów oraz tzw. nadmiar enancjomeryczny dla kilku głównych składników olejków z nasion i szyszek drzew iglastych zamieściłam w tabeli 2, a opisałam w publikacjach 1, 2, 4, 5, 7.

Tabela 2. Skład enancjomerów głównych węglowodorów monoterpenowych nasion i szyszek badanych gatunków jodeł i świerków.

Enancjomer	<i>Abies alba</i>		<i>Abies koreana</i>		<i>Abies concolor</i>		<i>Picea pungens</i>		<i>Picea orientalis</i>	
	N ^b	S ^c	N ^b	S ^c	N ^b	S ^c	N ^b	S ^c	N ^b	S ^c
(S)-(-)-Limonen	98,3	98,1	98,0	96,3	97,1	84,1	97,5	97,3	97,9	95,0
(R)-(+)-Limonen	1,7	1,9	2,0	3,7	2,9	15,9	2,5	2,7	2,1	5,0
<i>ee</i> ^a	96,7	96,2	96,0	92,7	94,1	68,1	94,9	94,6	95,7	90,0
(1S,5S)-(-)- α -Pinen	87,7	83,5	92,5	97,0	87,0	95,8	90,8	93,3	83,6	79,2
(1R,5R)-(+)- α -Pinen	12,3	16,5	7,5	3,0	13,0	4,2	9,2	6,7	16,4	20,8
<i>ee</i>	75,5	67,0	84,9	94,0	73,9	91,6	81,6	86,6	67,2	58,4
(1S,5S)-(-)- β -Pinen	88,2	93,7	92,6	95,4	10,1	41,2	98,1	98,0	99,2	97,5
(1R,5R)-(+)- β -Pinen	11,8	6,3	7,4	4,6	89,9	58,8	1,9	2,0	0,8	2,5
<i>ee</i>	76,5	87,3	85,2	90,8	79,8	17,6	96,2	96,0	98,3	94,9
(1S)-(-)-Kamfen	92,7	63,6	96,1	93,8	-	94,2	91,3	89,2	100	88,9
(1S)-(+)-Kamfen	7,3	36,4	3,9	6,3	-	5,8	8,7	10,8	0	11,1
<i>ee</i>	85,4	27,3	92,1	87,0	-	88,5	82,6	78,4	100	77,8

^a (*ee*) - nadmiar enancjomeryczny; ^b(N)-nasiona; ^c(S)-szyszki;

3.2.4. Hydrolaty pozyskane z nasion wybranych gatunków iglaków

Innymi ważnymi z handlowego punktu widzenia mieszaninami zapachowymi pochodzenia roślinnego są hydrolaty, znane również jako hydrozole lub wody kwiatowe. Są one na ogół produktami ubocznymi powstającymi podczas destylacji olejków eterycznych z parą wodną. Hydrolaty zawierają niewielką ilość lotnych składników rozpuszczalnych w wodzie, niektóre z tych związków lotnych o dużej polarności mogą nawet nie występować w olejkach eterycznych. Hydrolaty stosuje się komercyjnie jako składniki kosmetyków, są także stosowane w przemyśle spożywczym. Ich popularność wciąż rośnie, szczególnie w aromaterapii [2,35]. Hydrolaty pozyskane przeze mnie w procesie izolacji olejków z nasion jodły pospolitej i koreańskiej są bardzo atrakcyjnymi mieszaninami zapachowymi. Ważnym

jest, aby poznać ich skład, ponieważ produkty te mogą stać się nowym cennym surowcem dla przemysłu kosmetycznego. Hydrolaty pochodzące z nasion *A. alba* i *A. koreana*, podobnie jak obdarzone wysokimi walorami zapachowymi olejki z nasion jodeł, miały bardzo przyjemne zapachy: świeże i żywiczne. Dodatkowo zapach hydrolatu z nasion jodły koreańskiej charakteryzował się silną nutą kwiatową.

Oznaczona przeze mnie zawartość lotnych związków w hydrolacie z nasion *A. alba* wynosiła 10,7 mg/l, podczas gdy w hydrolacie z nasion *A. koreana* plasowała się na poziomie ponad trzykrotnie wyższym: 37,3 mg/l (publikacja 4). Wydajność hydrolatów dostępnych w handlu waha się zwykle na poziomie 1-5 litrów na kilogram produktu roślinnego, przy czym wodno-rozpuszczalna część olejków w hydrolatach wynosi najczęściej 100-400 mg/l [35].

Jak można było przypuszczać, skład związków lotnych hydrolatów był zdecydowanie odmienny od składu olejków eterycznych wydzielonych z tego samego surowca. Hydrolaty to głównie woda, wzbogacona o przeważnie tlenowe pochodne terpenów. W przypadku testowanych surowców były to tlenowe pochodne węglowodory seskwiterpenowych, które stanowiły blisko 100% i 86% wszystkich zidentyfikowanych składników w hydrolacie, odpowiednio, z nasion *A. alba* i *A. koreana*. Składniki te w dużej mierze nie zostały wykryte w olejkach eterycznych. I tak dla nasion *A. koreana* były to aż 44 związki, których obecność potwierdzono tylko w hydrolacie z tego surowca roślinnego. Polarne związki oznaczone w hydrolatach, mogły występować również w olejkach, ale w śladowych ilościach, poniżej ich poziomu detekcji.

Główne terpeny hydrolatu z nasion *A. alba* to: selina-6-en-4-ol (52%), T-kadinol i T-muurolol (15%), β -himachalol i α -kadinol (11%), intermedeol (10%), 1-*epi*-kubenol (2%), elemol (2%), 1,10-di-*epi*-kubenol (2%) i longiborneol (1%).

Hydrolat nasion *A. koreana* charakteryzował się obecnością głównie: intermedeolu (77%), borneolu (6%), octanu bornylu (2%), selina-6-en-4-olu (2%) oraz α - bisabololu (2%).

3.3. Charakterystyka ekstraktów z nasion wybranych gatunków drzew

3.3.1. Wydajność ekstraktów

Ekstrakty, rozpuszczalne w rozpuszczalnikach organicznych o niskiej polarności zwane są lipofilowymi. Ponieważ nasiona drzew bogate są w materiał zapasowy, z drugiej zaś strony nie są zdrewniałymi fragmentami roślin, złożone są z bardzo licznej grupy składników o stosunkowo niskich masach molowych, których jednak analiza metodą chromatografii gazowej możliwa jest dzięki uprzednim procesom derywatywacji.

Zawartość lipofilowego ekstraktu w badanych nasionach wahała się w przedziale 9,8-41%, w zależności od gatunku drzewa, z którego był on pozyskiwany. Spośród badanych gatunków to nasiona *A. Alba* i *A. cephalonica* charakteryzowały się najwyższą zawartością

ekstraktu, odpowiednio: 41,1% i 32,0%. Zarówno *Abies concolor* jak i *Picea pungens* zawierały porównywalną, ale niższą ilość ekstraktu, odpowiednio: 19,8% i 21,5%. Niższą wydajnością charakteryzował się ekstrakt z nasion *P. abies* (16,8%), zaś najniższą zawartość lipofilowego ekstraktu odnotowano dla nasion świerka kaukaskiego (9,8%). Powyższe dane pochodzą z publikacji nr 3.

Wydajność ekstraktu z nasion z dziesięciu egzemplarzy *A. koreana* była silnie zróżnicowana i wynosiła od 16,3% do 35,4%, co wskazuje na ogromną bioróżnorodność w obrębie jednego gatunku. Wyniki te przedstawiłam w publikacjach 3 i 6.

3.3.2. Skład ekstraktów z nasion wybranych gatunków drzew iglastych

Główną zawartość większości lipofilowych ekstraktów roślinnych stanowią triglicerydy. Mają one szerokie zastosowanie nie tylko jako składniki codziennej diety człowieka, ale również wykorzystywane są w kosmetologii, jako składniki wielu formułacji kosmetycznych przeznaczonych do pielęgnacji twarzy i ciała. Funkcja kwasów tłuszczowych dla zdrowia ludzkiego jest związana głównie z zapobieganiem, opóźnianiem lub leczeniem chorób przewlekłych i ostrych, takich jak nowotwory, choroby sercowo-naczyniowe, osteoporoza i zaburzenia immunologiczne [36].

Oleje roślinne pełnią funkcję bazy kosmetyku, która poprzez tworzenie warstwy ochronnej na skórze zapobiega utracie przez nią wody. Dodatkowo tłuszcze zmiękczej warstwę rogową naskórka, a w stanach zapalnych zmniejszają napięcie skóry osłabiając tym samym odczucie bólu [37]. Kremy ochronne bogate w kwasy tłuszczowe mają zdolność regeneracji naskórka. W wyniku uszkodzenia bariery ochronnej skóry, czy też w wyniku podniesienia transepidermalnej utraty wody ciała lamelarne warstwy ziarnistej skóry mają zdolność wytwarzania lipidów stanowiących warstwę ochronną. Wraz z wiekiem ciała lamelarne odtwarzają się coraz wolniej, jednakże wykazano, iż stosowane w preparatach kosmetycznych lipidy zawierające kwasy tłuszczowe, a zwłaszcza te należące do szeregu omega-6, przyspieszają powstawanie lipidów w ciałkach lamelarnych [38].

Coraz częściej podejmowane są badania mające na celu poszukiwanie nowych surowców roślinnych o właściwościach mogących mieć zastosowanie w profilaktyce chorób cywilizacyjnych, bądź też w różnych gałęziach przemysłu, w tym intensywnie rozwijającego się przemysłu kosmetycznego.

Przeprowadzone dotychczas badania analityczne dotyczące składu ekstraktów, w tym ekstraktów lipofilowych z drzew iglastych, koncentrowały się głównie na surowcach wyodrębnianych z drewna, korzeni, kory, sęków czy igieł iglaków [39,40]. Zgodnie z moją najlepszą wiedzą, opublikowano tylko jeden artykuł o tematyce związanej z identyfikacją składników lipofilowego ekstraktu z drzew rodziny Pinaceae; był to artykuł na temat ekstraktu z nasion cyprysa [41]. Również dane literaturowe związane z poznaniem składu ekstraktów z szyszek są bardzo skąpe. Istnieją tylko cztery publikacje odnoszące się do

analizy ekstraktów lipofilowych w szyszkach. Prace te koncentrują się na analizie składu niektórych gatunków sosen (*Pinus halepensis*, *P. brutia*, *P. pinea*, *P. sylvestris* i *P. nigra*) [42], czterech gatunków jodeł (*A. equi-trojani*, *A. cilicica*, *A. bornmülleriana*) [34] i *A. nordmanniana* [33,34], jednym gatunku cyprysa, a także *Picea orientalis* [33,42] i *Cedrus libani* [41]. Dane na temat wyżej wymienionych gatunków drzew dotyczą przede wszystkim analizy bardziej polarnej frakcji zawierającej fenole i polifenole [43-47]. Eksperymenty związane z oznaczeniem składu lipofilowych frakcji nasion były fragmentaryczne i dotyczyły analizy kwasów tłuszczowych niektórych gatunków z rodziny Pinaceae [16,17], a także lipofilowych ekstraktów z nasion cyprysa [42].

Tak więc, celowe stało się poszerzenie wiedzy na temat składu lipofilowych ekstraktów z nasion siedmiu popularnych gatunków drzew iglastych: *Abies alba* (jodła pospolita), *A. cephalonica* (jodła grecka), *A. concolor* (jodła biała), *A. koreana* (jodła koreańska), *Picea abies* (świerk pospolity), *P. orientalis* (świerk kaukaski) i *P. pungens* (świerk srebrny). Badania te wykonałam m.in. we współpracy z naukowcami z Laboratory of Wood and Paper Chemistry, w Åbo Akademi University w Turku, Finlandii, z którymi wcześniej (w 2003 r.) nawiązałam współpracę podczas pobytu na rocznym stypendium w tej jednostce naukowej.

Jak można było przypuszczać, ekstrakty zróżnicowane były zarówno pod względem składu jakościowego, jak i zawartości poszczególnych grup związków chemicznych. Mimo to, w każdym z badanych ekstraktów oznaczono alkohole żywiczne, aldehydy i kwasy żywiczne oraz kwasy tłuszczowe. W celu identyfikacji zarówno wolnych, jak i połączonych estrowo składników, ekstrakty badano zarówno przed, jak i po hydrolizie zasadowej. Rezultaty tych badań są przedmiotem dwóch publikacji: **3** i **6**. Ekstrakty z nasion okazały się źródłem nie tylko, jak można było podejrzewać tłuszczy, ale również długo-łańcuchowych alifatycznych alkoholi, tokoferoli i steroli oraz tzw. związków żywicznych, które można zakwalifikować do grupy węglowodorów, alkoholi, aldehydów i kwasów żywicznych. Z wcześniejszych badań wynikało, iż lipofilowe ekstrakty z szyszek świerka kaukaskiego i jodły kaukaskiej [33,34], szyszek cyprysa [41] i innych gatunków świerków [42] i jodeł [34] składają się głównie z kwasów żywicznych.

Nasiona, zawierające materiał zapasowy niezbędny do wykształcenia przyszłej rośliny, bogate są we frakcję tłuszczową, zlokalizowaną w tzw. pierwotnym bielmie żeńskim gametofitu [26]. Na podstawie moich badań główną, oznaczoną w nasionach, grupą związków były kwasy tłuszczowe stanowiące 2,5-55,4% w/w suchego ekstraktu. Występowały one zarówno w formie połączeń estrowych typu mono-, di- i triglicerydy, jak i w formie wolnej. Głównymi przedstawicielami tej grupy były kwas linolowy i oleinowy. Kwasy tłuszczowe z rodziny ω -3 (np. α -linolenowy – C18:3) i ω -6 (kwas linolowy – C18:2) z powodu braku tzw. desaturaz nie są syntezowane w organizmie człowieka i większości zwierząt, dlatego też muszą być dostarczone wraz z pożywieniem [37]. Najbardziej optymalne i korzystne dla prawidłowego funkcjonowania organizmu jest spożywanie kwasów ω -6: ω -3, w stosunku 4,5:1, co przekłada się na syntezę odpowiednich eikozanoidów –

związków wpływających m.in. na regulację czynności układu sercowo-naczyniowego, ciśnienie krwi, formowanie się złożeń wewnątrznaczyniowych, stężenie triacylogliceroli w osoczu czy procesy zapalne. Brak w diecie charakterystycznych nienasyconych kwasów tłuszczowych znacząco wpływa na kruchość naczyń, obniżenie odporności układu immunologicznego, zakłócenie procesów krzepliwości krwi, a także zwiększa prawdopodobieństwo rozwoju miażdżycy. Istnieją różnice między efektami aktywności eikozanoidów, będących pochodnymi różnych grup kwasów tłuszczowych [37].

Ekstrakty z badanych przeze mnie gatunków drzew obfitowały zarówno w nasycone, jak i nienasycone kwasy tłuszczowe o długości łańcucha od 14 do 24 atomów węgla, zbudowane maksymalnie z trzech podwójnych wiązań. Ekstrakt z nasion *Picea abies* zawierał największe ilości kwasów tłuszczowych (55% w/w), natomiast ekstrakt z *A. cephalonica* wykazywał najmniejszą zawartość tych związków (2,5% w/w ekstraktu z nasion). Ilość kwasów tłuszczowych w pozostałych badanych ekstraktach z nasion mieściła się w zakresie od 20% w/w do 38% w/w. Łącznie zidentyfikowałam 19 różnych kwasów tłuszczowych. Dwoma dominującymi kwasami ekstraktów z nasion jodeł i świerków były nienasycone kwasy: oleinowy i linolowy. Suma kwasów tych stanowiła od 14% do 31% w/w ekstraktów. Jedynie nasiona *A. cephalonica* zawierały bardzo niskie stężenia tych związków (1,2% w/w). Może to być spowodowane faktem, iż ten gatunek drzewa rozmnaża się jedynie w ciepłym śródziemnomorskim klimacie i dlatego nasiona są tak ubogie w materiał zapasowy.

Warto wspomnieć, iż kwas linolowy oznaczony w ekstraktach z nasion badanych iglaków jako dominujący, odgrywa znaczącą rolę w preparatach kosmetycznych. W przypadku cery suchej, poprawia barierę lipidową naskórka, chroni przed transepidermalną utratą wody oraz normalizuje metabolizm skóry. Kwas linolowy jest również naturalnym składnikiem łoju (sebum). U osób z cerą trądzikową zaobserwowano spadek zawartości tego związku w łoju, czego efektem są blokowane pory i tworzenie się zaskórników, a w rezultacie wyprysków. Zastosowanie kwasu linolowego do pielęgnacji cery tłustej powoduje poprawę pracy gruczołów łojowych, odblokowanie porów, a co za tym idzie zmniejszenie ilości tzw. zaskórników. Ponadto kwas ten jest wbudowywany w strukturę błony komórkowej, a także wykorzystywany do produkcji cementu międzykomórkowego skóry. Oba procesy zachodzą dzięki obecności kompleksu enzymatycznego w warstwie rogowej naskórka. Warto zaznaczyć, że kwas linolowy jest również składnikiem ceramidu 1 (jednego z ośmiu poznanych w tzw. *stratum corneum* skóry człowieka) [37,48].

Kwas pinolenowy¹ był również jednym z głównych charakterystycznych związków w ekstraktach otrzymanych z nasion wszystkich gatunków świerków i jednego gatunku jodły *A. alba*. Wyniki te są zgodne z wcześniejszymi badaniami, w których zidentyfikowano ponadto kwas oktadeka-9,12-dienowy (kwas linolowy) jako najobficiej występujący kwas

¹ kwas pinolenowy w tabeli 2 artykułu 3, znajduje się na pozycji dwunastej. Pomimo prawidłowej jego charakterystyki: 18:3 (5,9,12) jego nazwa zwyczajowa została błędnie zapisana (jako linolenic).

tłuszczowy, a następnie oktadec-9-enowy i oktadeka-5,9,12-trienowy (pinolenowy) [22-24,29]. Rośliny nagonasienne (iglaste), znane są z obecności nietypowych kwasów tłuszczowych z pierwszym miejscem nienasycenia przy piątym atomie węgla (Δ^5 -UPIFA) i konfiguracją (*cis*). Należą do nich kwasy: *cis*-5,9-oktadekadienowy (taksolenowy), *cis*-5,9,12-oktadecatrienowy (pinolenowy), *cis*-5,11-oktadekadienowy (efedrenowy), *cis*-5,11-eikozadienowy (keteleeronowy), *cis*-5,11,14-eikozatrienowy (scjadonowy), *cis*-5,9,12,15-eikozatetraenowy (koniferowy) i *cis*-5,11,14,17-eikozatetraenowy (juniperowy) [16,17]. Analiza lipofilowych ekstraktów nasion badanych gatunków drzew pozwoliła mi na zidentyfikowanie kwasu taksolenowego, pinolenowego i scjadonowego.

Oleje roślinne (oraz odpowiednie glicerydy, sterole i fosfolipidy) są powszechnie stosowane w kosmetykach jako emolienty, środki zagęszczające, a po zmieszaniu z gliceryną, środki czyszczące. Kwasy tłuszczowe jako naturalne składniki skóry chronią też warstwę rogową naskórka przed uszkodzeniami oksydacyjnymi [48].

Fitosterole

W królestwie roślin zidentyfikowano ponad 40 fitosteroli, z których najważniejszymi są: β -sitosterol, kampesterol i stigmasterol. Fitosterole zmniejszają otyłość, chronią przed miażdżycą i zapobiegają rozwojowi nowotworów [49,50]. Związki te, jako dodatki w kosmetykach, mogą pomóc w naprawie uszkodzonej bariery skórnej, zaś β -sitosterol zmniejsza objawy atopowego zapalenia skóry [32,33]. Wśród składników lipofilowych ekstraktów zawartość wolnych steroli wahała się między 0,001% w/w (ekstrakt z nasion jodły pospolitej) a 1,1% w/w (ekstrakt z nasion świerka kaukaskiego), podczas gdy zawartość zestyfikowanych fitosteroli (estrów sterylowych) była wyższa, i stanowiła od 0,06% do 1,7% w/w, odpowiednio w nasionach jodły greckiej oraz świerku kaukaskiego. β -Sitosterol był dominującym fitosterolem, zidentyfikowanym w nasionach wszystkich badanych gatunków; oznaczono go w ilości 0,001-0,759% w/w. Zawartość estrów sterylowych była wyższa niż zawartość wolnych steroli w nasionach wszystkich drzew iglastych.

Tokoferole

Trzy formy tokoferoli, α -, β - i γ zidentyfikowałam w nasionach *Abies koreana*. α -Tokoferol, najbardziej aktywna forma tokoferoli i γ -tokoferol zostały wykryte w nasionach *Abies alba*. Inne badane gatunki jodły, tj. *A. cephalonica* i *A. concolor*, jak również *świerk kaukaski* nie zawierały tokoferoli. β -Tokoferol oznaczyłam w podobnych ilościach w ekstraktach z *P. abies* i *P. orientalis*. Całkowita zawartość tokoferoli (po hydrolizie alkalicznej) wynosiła do maksymalnie 0,0361% w/w ekstraktu (nasiona *A. koreana*). Tokoferole są to związki zaliczane do silnych, rozpuszczalnych w tłuszczach przeciwutleniaczy – stosowanych na szeroką skalę w produktach kosmetycznych, zarówno jako środek konserwujący jak i produkt do pielęgnacji skóry i leczenia blizn [51]. Wykazano również, że naturalne formy witaminy E (na którą składają się molekuly zarówno tokoferoli,

jaki i tokotrienoli) są silniejszymi przeciwutleniaczami oraz mają wyższy wskaźnik retencji w skórze niż ich syntetyczne odpowiedniki [52].

Związki żywiczne (kwasy, alkohole, aldehydy, estry, węglowodory)

Kwasy żywiczne będące diterpenowymi kwasami karboksylowymi, znajdują zastosowanie jako techniczne emulgatory i lepiszcze do produkcji kartonu i papieru. Wykorzystuje się je również do otrzymywania regulatorów wzrostu roślin, biocydów czy farmaceutyków. Z kolei estry kwasów żywicznych (żywiczany), stosuje się jako substancje błonotwórcze. W ekstraktach pozyskanych przez mnie z nasion, oznaczono również kwasy żywiczne, wśród nich dominował kwas abietynowy. Związek ten stosowany jest do wyrobu lakierów, pokostów i mydeł. Pozostałymi dominującymi kwasami żywicznymi ekstraktów z nasion były: neoabietynowy, dehydroabietynowy i palustrowy. Oznaczono je na stosunkowo wysokim poziomie: od 1,8-16,9% ekstraktu. Mieszaniny nienasyconych kwasów żywicznych wykazują doskonałe zdolności powlekające i mogą być stosowane do tworzenia powłok. Ze względu na te właściwości stosowane są w farmacji do powlekania tabletek, do formowania mikrokapsulek i nanocząsteczek. Nasiona drzew iglastych mogą więc stanowić odnawialne źródło tych cennych, naturalnych składników.

Oprócz zwykłych kwasów żywicznych, ekstrakty nasion z badanych drzew iglastych zawierały pochodne kwasów żywicznych takie jak: monohydroksylowane kwasy żywiczne i kwas dihydroksydehydroabietynowy. Inne "związki żywiczne" zidentyfikowane w ekstraktach z nasion to: węglowodory żywiczne (0,081-0,30%), alkohole żywiczne (0,59-3,3%), aldehydy żywiczne (0,47-3,2%) i estry żywiczne (0-0,57%). W porównaniu z kwasami tłuszczowymi i żywicznymi zawartość alifatycznych alkoholi długołańcuchowych była znacznie mniejsza, w zakresie od 0,009 do 0,9% wagowych ekstraktu z nasion. Spośród kilku zidentyfikowanych alkoholi, tj. tetrakozanolu, heksakozanolu, oktakozanolu, nonakozan-10-olu, nonakozano-5,10-diolu i triakontanolu, wszystkie były obecne w nasionach świerka pospolitego i srebrnego. Wiadomo, że długołańcuchowe alkohole alifatyczne odgrywają znaczną rolę w metabolizowaniu cholesterolu poprzez obniżenie zawartości całkowitego cholesterolu i cholesterolu LDL oraz poprzez podwyższenie poziomu lipoprotein o dużej gęstości (HDL) [54], co zapewnia ochronę przed peroksydacją lipidów i mediatorami zaangażowanymi w procesy zapalne [55].

Uzyskane rezultaty stanowią punkt wyjściowy do przyszłych badań nad zastosowaniem nasion drzew iglastych lub izolatów wydzielonych z ekstraktów w medycynie, kosmetyce lub przemyśle farmaceutycznym.

Eksperymenty pokazały duże zróżnicowanie w zawartości badanych składników (kwasów tłuszczowych, fitosteroli, tokoferoli, alkoholi alifatycznych, aldehydów, alkoholi, kwasów i estrów żywicznych) w ekstraktach z nasion iglaków. Różnorodność składu fitozwiązków może stanowić dodatkową zaletę tych ekstraktów, ważną z punktu widzenia przemysłu kosmetycznego.

3.4. Aktywność biologiczna olejków eterycznych z nasion i łusek szyszek

3.4.1. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa

Olejki eteryczne często wykazują bardzo silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe i przeciwtleniające dzięki czemu wykorzystywane są jako naturalne konserwanty w przemyśle spożywczym i kosmetycznym. Jako składniki środków farmaceutycznych o działaniu przeciwdrobnoustrojowym i często synergistycznym w połączeniu z antybiotykami przeciwdziałają uporczywym infekcjom [56]. Dlatego zasadne było dokonanie oceny aktywności olejków z nasion i szyszek jodły pospolitej, koreańskiej, kalifornijskiej oraz świerków srebrnego i kaukaskiego wobec mikroorganizmów ze szczepów wzorcowych i wielolekoopornych szczepów klinicznych bakterii należących do rodzajów: *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* oraz *Acinetobacter*. Bakterie z wymienionych rodzajów są istotnym czynnikiem etiologicznym groźnych infekcji, a także przyczyną zakażeń, również szpitalnych. Szczególnie niebezpieczne jest nabywanie oporności tych drobnoustrojów na stosowane powszechnie w praktyce klinicznej antybiotyki i chemioterapeutyki. Z drugiej strony w ostatnich latach obserwowany jest znaczny wzrost zainteresowania zarówno lekami pochodzenia naturalnego, jak i naturalnymi środkami konserwującymi (również konserwującymi produkty kosmetyczne), do których zaliczyć możemy olejki eteryczne i ekstrakty roślinne. Atrakcyjność olejków eterycznych jako substancji przeciwbakteryjnych jest tym bardziej interesująca, że z uwagi na ich bogaty skład jak dotąd nie stwierdzono mechanizmów nabywania oporności bakterii na nie.

W porównaniu z tymolem, stosowanym jako związek referencyjny, testowane olejki wykazywały łagodne właściwości przeciwdrobnoustrojowe wobec *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* i *Acinetobacter baumannii*. Efekt ten był spowodowany wysoką zawartością węglowodorów monoterpenowych w olejkach eterycznych, związki te bowiem w przeciwieństwie do tlenowych pochodnych terpenów wykazują niską aktywność przeciwbakteryjną. Mają one ograniczoną zdolność rozpuszczania się w wodzie, co w rezultacie ogranicza ich dyfuzję w środowisku i uniemożliwia destrukcję błon i ścian komórkowych mikroorganizmów [56]. Badania przeprowadzone pod moim kierownictwem wykazały, iż spośród testowanych lotnych mieszanin to olejki eteryczne wyizolowane z nasion i szyszek *A. alba* i *A. koreana* wykazywały aktywność przeciwdrobnoustrojową wobec *S. aureus*, *E. faecalis* i *E. faecium* (MIC: 10-23 µl/ml), silniejszą niż te wyizolowane z nasion i szyszek *A. concolor* (MIC: 26-30 µl/ml), co zilustrowano w tabeli 3.

Najsilniejsze zdolności bójcze wobec testowanych mikroorganizmów wykazywały olejki zarówno z nasion, jak i szyszek jodły koreańskiej (wartości MIC odpowiednio: 10,0-28,5 µL/ml i 16,5-33,0 µl/ml). Zgodnie z danymi literaturowymi, również olejek z igieł *A. koreana* wykazywał silniejsze i szersze spektrum działania przeciwbakteryjnego niż olejek eteryczny z igieł i gałązek *A. alba*. Olejek *A. koreana* z igieł był skuteczny przeciwko

następującym szczepom: *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Pseudomonas* i *Enterobacter*, w zakresie 2,05-3,81 mg/ml, podczas gdy *A. alba* wykazywał niewielką aktywność [57-59]. Zarówno olejki eteryczne z nasion jak i szyszek jodły kalifornijskiej wykazywały podobne właściwości przeciwbakteryjne w stosunku do *E. coli* i *K. pneumoniae*, jak te z nasion jodły pospolitej i jodły koreańskiej (MIC: 25,5-34 µl/ml).

Tabela 3. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa (MIC µL/mL) olejków z nasion i szyszek *A. alba*, *A. koreana*, *A. concolor* oraz szyszek *Picea pungens* i *P. orientalis* a także tymolu, jako próby kontrolnej.

Surowiec roślinny		Minimalne stężenie hamujące MIC (µL/m)					
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Abies alba</i>	nasiona	19,0	18,0	16,5	30,0	34,0	32,0
	szyszki	23,0	21,0	20,0	28,0	33,0	31,0
<i>Abies koreana</i>	nasiona	18,0	12,0	10,0	26,0	25,5	22,5
	szyszki	22,0	18,0	15,0	27,0	28,5	24,5
<i>Abies concolor</i>	nasiona	30,0	26,0	30,0	26,0	28,0	-
	szyszki	30,0	26,0	26,0	30,0	28,0	-
<i>Picea pungens</i>	nasiona	20,0	20,0	18,0	12,0	12,0	-
<i>Picea orientalis</i>	szyszki	32,0	30,0	32,0	24,0	24,0	-
Tymol		0,20-0,25	0,10-0,13	0,30-0,39	0,50-0,63	0,60-0,76	0,50

Olejek eteryczny z szyszek *Picea pungens* był aktywny wobec wszystkich testowanych standardowych szczepów bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych o wartościach MIC od 12 µl/ml do 20 µl/ml. Przy najniższym stężeniu 12 µl/ml obserwowano zahamowanie wzrostu *Escherichia coli* i *Klebsiella pneumoniae*. W przypadku olejku eterycznego z szyszek *Picea orientalis* oznaczono wyższe wartości MIC od 24 µl/ml do 32 µl/ml, zbliżone do olejków z nasion i szyszek jodły kalifornijskiej. Wartości MIC w przypadku olejków ze świerka srebrnego dla standardowych szczepów Gram-ujemnych były często ponad dwukrotnie wyższe niż dla pozostałych testowanych olejków z drzew iglastych (artykuł 4). Powyższe rezultaty uzyskałam przy współpracy z pracownikami Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

3.4.2. Aktywność antyoksydacyjna

Wiedza na temat szkodliwości wolnych rodników skłania do poszukiwania substancji wspomagających naturalną obronę antyoksydacyjną organizmu. Dlatego analiza aktywności biologicznych badanych przez mnie fitozwiązków obejmowała także ocenę właściwości antyoksydacyjnych olejków nasion i szyszek jodły pospolitej i jodły koreańskiej. Wolne rodniki są bowiem wysoce reaktywnymi i niebezpiecznymi cząsteczkami, którym przypisuje się kluczową rolę w patogenezie chorób cywilizacyjnych. Wtórne metabolity roślinne m. in. składniki olejków eterycznych, często wykazują silne właściwości antyoksydacyjne, a ich zastosowanie zmniejsza ryzyko zachorowania na wiele chorób cywilizacyjnych, w przypadku zaś stosowania zewnętrznego w preparatach kosmetycznych poprawiają kondycję skóry.

Na podstawie wyników testu DPPH· (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl) najwyższą aktywność przeciwutleniającą stwierdzono dla olejku z szyszek *A. alba*. Plasowała się ona na poziomie: 0,591 mmol/l, w przeliczeniu na troloks. Zarówno olejki z nasion, jak i łusek szyszek *A. koreana* wykazywały średnią zdolność do wychwytywania wolnych rodników, odpowiednio 0,448 i 0,386 mmol/l, w przeliczeniu na troloks. Natomiast najniższą aktywność określono dla olejku z nasion jodły pospolitej (0,215 mmol/l troloksu); (publikacja 4).

3.4.3. Aktywność cytotoksyczna olejków

Olejki z nasion i szyszek jodły pospolitej i koreańskiej wykazywały niską cytotoksyczność zarówno w hodowlach fibroblastów skóry ludzkiej (CRL-1474), jak i komórek raka piersi MCF-7 i MDA-MB-231. W stężeniu do 50 µg/ml olejki nie wykazują negatywnego wpływu na przeżywalność fibroblastów skóry, więc mogą być stosowane jako komponenty preparatów kosmetycznych. Efekt cytotoksyczny wobec komórek nowotworowych zaobserwowano w stężeniach zbliżonych do tych, które powodują obniżenie przeżywalności fibroblastów.. Wartości IC₅₀ dla komórek nowotworowych i prawidłowych były bardzo zbliżone, wynosząc około 100 µg/ml. Tymol – związek o szczególnie silnych właściwościach biologicznych, w tym także dużej aktywności przeciwbakteryjnej, wykorzystany jako punkt odniesienia, wykazywał wyższą toksyczność w stosunku do fibroblastów niż olejki z drzew iglastych. Tak niska cytotoksyczność olejków w stosunku do tymolu spowodowana jest m. in. faktem, iż głównym składnikiem olejków eterycznych nasion zarówno jodły pospolitej, jak i koreańskiej jest (*S*)-limonen. Związek ten nie wykazuje większego wpływu na metabolizm i proliferację komórek nowotworowych, w przeciwieństwie do (*R*)-limonenu, oznaczonego w olejkach na niskim poziomie. (*R*)-limonen, jak wykazują dane literaturowe, przekształcany jest w organizmie człowieka w farmakologicznie czynne pochodne o działaniu przeciwnowotworowym. Ocena cytotoksycznego działania olejków wymaga jednak dalszych badań z wykorzystaniem innych modelowych komórek zwierzęcych i ludzkich.

Ze względu na niewielki wpływ olejków z jodły pospolitej i koreańskiej na wybrane linie komórek nowotworowych, badania związane z oznaczaniem aktywności cytotoksycznej kolejnych olejków (z jodły kalifornijskiej, świerka srebrnego i kaukaskiego) zawężono do określenia ich efektu cytotoksycznego wobec ludzkich fibroblastów skóry oraz komórek śródbłonka naczyń krwionośnych skóry (HMEC-1). Badania te pozwalają stwierdzić w jakim stężeniu olejki mogą być bezpiecznie stosowane jako składniki kosmetyków.

Olejki eteryczne wykazujące działanie przeciwdrobnoustrojowe wpływają również na procesy zachodzące w ludzkich komórkach, prowadząc do zmniejszenia ich żywotności. Sprawia to, że koniecznym staje się skonfrontowanie minimalnego stężenia hamującego rozwój drobnoustrojów (MIC) ze stężeniami wywołującymi obniżenie przeżywalności oraz proliferacji komórek ludzkich. Oceniono zatem wpływ olejków i tymolu na przeżywalność komórek oraz na inkorporację promieniotwórczej tymidyny do DNA fibroblastów, określając wpływ olejków na podziały komórkowe. Cytotoksyczność olejków z nasion i szyszek jodły kalifornijskiej oraz szyszek świerka srebrnego i kaukaskiego była niewiele niższa niż olejków z nasion i szyszek jodły pospolitej i koreańskiej. Ich wartości IC_{50} zawierają się w przedziale 0,1-0,125 $\mu\text{l/ml}$. Olejki z nasion wykazują cytotoksyczność porównywalną z wartościami cytotoksyczności dla olejków z szyszek badanych drzew iglastych. Jednakże ich cytotoksyczność wobec ludzkich fibroblastów skóry oraz komórek śródbłonka naczyń krwionośnych skóry przejawia się w stężeniach dużo niższych niż wartość MIC. I tak olejki z jodły kalifornijskiej, świerka pospolitego i kaukaskiego nie wykazują toksycznego efektu wobec ludzkich fibroblastów skóry oraz komórek śródbłonka jeśli są stosowane w stężeniu niższym niż 0,1 $\mu\text{l/ml}$. Wartość IC_{50} wynosiła około 0,110 $\mu\text{l/ml}$ (szyszki jodły kalifornijskiej) i 0,125 $\mu\text{l/ml}$ (nasiona jodły kalifornijskiej), 0,115 $\mu\text{l/ml}$ (szyszki świerka srebrnego) i 0,105 $\mu\text{l/ml}$ (szyszki świerka kaukaskiego). Wpływ olejków został potwierdzony przez syntezę DNA. Olejek z szyszek jodły kalifornijskiej w stężeniu 0,110 $\mu\text{l/ml}$ zmniejszył syntezę DNA do 86% wartości kontrolnej. Olejek z nasion jodły kalifornijskiej w stężeniu 0,125 $\mu\text{l/ml}$ zredukował syntezę DNA do 66% wartości kontrolnej. Olejek z szyszek świerka srebrnego w stężeniu 0,115 $\mu\text{l/ml}$ zmniejszył biosyntezę DNA do 55% wartości kontrolnej. Olejek z szyszek świerka kaukaskiego w stężeniu 0,105 $\mu\text{l/ml}$ obniżył biosyntezę DNA do 61% wartości kontrolnej. Wpływ badanych olejków iglaków na przeżywalność fibroblastów był słabszy od tymolu, którego IC_{50} wynosiło 0,075 $\mu\text{l/ml}$ (odpowiednik 75 $\mu\text{g/ml}$). Tymol stosowany jako związek referencyjny w stężeniu 0,105 $\mu\text{l/ml}$ obniżył syntezę DNA do 20% wartości kontrolnej.

Z kolei wpływ olejków eterycznych z szyszek świerków: srebrnego i kaukaskiego na obniżenie żywotności linii ludzkich komórek śródbłonkowych (HMEC-1) był silniejszy niż dla fibroblastów skóry. Stwierdzono, że olejki eteryczne ze świerków w stężeniu 0-0,005 $\mu\text{l/ml}$ nie obniżały przeżywalności komórek HMEC-1, a ich wartości IC_{50} wynosiły 0,035 $\mu\text{l/ml}$ i były niższe niż wartości IC_{50} obu badanych olejków w hodowli fibroblastów skóry ludzkiej. Były również niższe od wartości IC_{50} dla olejków z nasion i szyszek jodły

kalifornijskiej (odpowiednio 1,0 $\mu\text{l/ml}$ i 1,38 $\mu\text{l/ml}$). Badania olejków z iglaków wykazały ponadto, iż stężenie olejków wywołujące efekt cytotoksyczny wobec HMEC-1 jest niższe od wartości MIC tych olejków.

Przeprowadzone badania wskazują, że olejki mogą być stosowane jako bezpieczne komponenty kosmetyków dla nieuszkodzonej skóry, przy jednoczesnym zachowaniu ich właściwości konserwujących w stosunku do kosmetyku.

3.5. Podsumowanie najważniejszych osiągnięć naukowych przedstawionych do oceny

Do najważniejszych osiągnięć opisanych w przedstawionym przeze mnie do oceny cyklu publikacji powiązanych tematycznie pod wspólnym tytułem: „Nasiona i szyszki wybranych gatunków drzew iglastych jako odnawialne źródło związków bioaktywnych i ich potencjalne zastosowanie” zaliczam:

- wypełnienie luki informacyjnej, lub znaczne poszerzenie wiedzy na temat składników bioaktywnych nasion i łusek szyszek wybranych gatunków drzew iglastych,
- wykazanie, że nasiona jodeł stanowią bogate źródło cennego ze względu na swoje walory zapachowe olejku eterycznego, którego wydajność w przypadku nasion np. jodły pospolitej dochodzi nawet do ponad 14%,
- dowiedzenie, iż nasiona gatunku *Abies* mogą stanowić naturalne źródło (*S*)-limonenu, który stanowi do 80% lotnej mieszaniny. Ponadto związek ten występuje w wysokiej czystości enancjomerycznej, a jego nadmiar enancjomeryczny waha się w przedziale od 94 do 98%,
- wskazanie na potencjalne zastosowanie w kosmetyce produktu ubocznego generowanego podczas izolowania olejków z nasion iglaków, którym jest woda podestylacyjna (tzw. hydrolat),
- zbadanie aktywności antyoksydacyjnej (średnia) oraz toksyczności (brak efektu toksycznego) wobec komórek raka piersi MCF-7 i MDA-MB-231 olejków z nasion i szyszek jodły pospolitej i jodły koreańskiej,
- określenie cytotoksycznego działania olejków wobec ludzkich fibroblastów skóry oraz komórek śródbłonka (wartości IC_{50} zawierają się w przedziale 0,1-0,125 $\mu\text{l/ml}$). Cytotoksyczność olejków z nasion i szyszek jodły kalifornijskiej oraz szyszek świerka srebrnego i kaukaskiego jest niewiele niższa niż olejków z nasion i szyszek jodły pospolitej i koreańskiej,

- określenie aktywności przeciwdrobnoustrojowej wobec: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* i *Acinetobacter baumannii*, pozyskanych przeze mnie olejków eterycznych, która okazała się niska z uwagi na dużą zawartość węglowodorów monoterpenu,

- stwierdzenie, że minimalne stężenie hamujące rozwój drobnoustrojów (MIC) badanych przeze mnie olejków eterycznych jest wyższe niż działanie cytotoksyczne wobec ludzkich komórek śródbłonkowych. Fakt ten pozwala przypuszczać, iż olejki z nasion i szyszek drzew iglastych mogą być stosowane jako bezpieczne komponenty kosmetyków dla nieuszkodzonej skóry przy jednoczesnym zachowaniu ich właściwości konserwujących w stosunku do gotowego kosmetyku,

- zbadanie składu ekstraktów lipofilowych nasion *Abies alba*, *A. cephalonica*, *A. concolor* i *A. koreana*, oraz *Picea abies*, *P. orientalis* and *P. pungens*, które bogate są w głównie jedno- i wielonienasycone kwasy tłuszczowe. Oleje zawierają ponadto liczne fitozwiązki z grupy: steroli, tokoferoli, alkoholi tłuszczowych, ale również charakterystycznych dla drzew iglastych związków żywicznych,

- stwierdzenie, że ekstrakty (pozyskiwane z wysoką wydajnością) z nasion powyższych gatunków mogą znaleźć zastosowanie jako produkty wpływające na polepszenie stanu zdrowia człowieka czy kondycji skóry.

Reasumując, można stwierdzić, że analiza jakościowa i ilościowa składników olejków eterycznych i ekstraktów lipofilowych z nasion oraz olejków eterycznych z szyszek w połączeniu z oceną ich aktywności biologicznej może stanowić podstawę do zastosowania tych produktów jako składników preparatów kosmetycznych, leczniczych, suplementów diety, czy substancji zapachowych, przy jednoczesnym zwiększeniu wykorzystania biomasy (szyszek) generowanej podczas regularnej wycinki lasów.

Jak pokazują powyższe badania świat przyrody jest dla nas ludzi nadal otwartą księgą z licznymi nieodkrytymi jeszcze stronicami wiedzy, której zarówno poznanie ale i mądre wykorzystanie, bez szkody dla świata winno być priorytetem.

Spis literatury

- [1] Kubeczka K. *Flavour Fragr. J.*, 1987, 2, 137-148.
- [2] Baser K.H., Buchbauer G. *Handbook of Essential Oils Science, Technology, and Applications*, CRC Press, 2009
- [3] Sikorski Z. *Chemia Żywności*, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa, 2006
- [4] Lawrence B.M. *Progress in essential oils. Perfum. Flavor.* 1991;64-67; 2001,72-75; 2003, 70-73.
- [5] Willfor S. *Water-soluble polysaccharides and phenol compounds in Norway spruce and Scots pine stemwood and knots*, PhD-Thesis, Abo Akademi, 2002
- [6] Ciesla W.M. *Non-wood forest products from temperate broad-leaved trees*, Organization of the United Nations, Roma, 2002
- [7] Bazdi B., Oller Lopez J.L., Cuerva J.M., Oltra J. *J. Essent. Oil Res.*, 2006, 18, 160-161
- [8] Sagareishvili T.G. *Chem. Nat. Comp.*, 1999, 35, 586
- [9] Penka M., Cermak J., Tesarik K. *Acta U. Agr. Fac. Silvi.*, 1977, 46, 147-169
- [10] Cermak J., Penka M., Tesarik K. *Acta U. Agr. Fac. Silvi.*, 1978, 47, 3-15
- [11] Dormont L., Roquest A., Malosse Ch. *Phytochem.*, 1998, 49, 1269-1277
- [12] Baran Sz., Stephan von Reuss H., König W.A., Kalembe D. *Flavour Fragr. J.* 2007, 22, 78-83
- [13] J. W. Hanover, *New Forests* 1992, 6, 159-178.
- [14] Tumen I., Harzemsah H., Kilic A., Sivrikaya H., Reunanen M. *Molecules* 2010, 15, 5797-5806
- [15] Lewinsohn E., Gijzen M., Savage T. J., Croteau R., *Plant Physiol.* 1991, 96, 38-43
- [16] Wolff R. L., Deluc L. G., Marpeau A. M., *J. A. O. C. S.*, 1996, 73, 765-772
- [17] Wolff R.L., Lavialle O., Pédrone F., Deluc L.G., Atmüller A.M. *Lipids*, 2001, 36, 439-451
- [18] Seneta W. *Drzewa i krzewy iglaste*. PWN, Warszawa, 1987
- [19] Góra J., Lis A. *Najcenniejsze olejki eteryczne*, Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej, Łódź, 2012
- [20] Ahn S.M., Kim H.G., Hwang H.H., Seo Y.G., Ko J.S., Bu Y.Ch., Kim M.J., Park J.A., Song G.S., *Repub. Korean patent KR 1230644 B1 20130206*, 2013
- [21] Bak J.P., Kim J.B., Park J.H., Yang Y.J., Kim I.S., Choung E.S., Kang S.Ch., *J. Korean Soc. Appl. Bi.* 2011, 54, 367-375
- [22] Park S.G., Ahn H.Ch., Jeon B.J., Jang M.S., *Repub. Korean patent KR 992088 B1 20101104*, 2010
- [23] Kim S.J., *Repub. Korean patent KR 2008081633 A 20080910*, 2008
- [24] Nam Y.W., *Repub. Korean patent KR 2006103992 A 20061009*, 2006
- [25] Guenther E. *The essential oils*. D van Nostrand Co., Toronto, 1952, 4, 214-236
- [26] Góra J., Lis A. *Olejek jodłowy*, *Aromaterapia*. 2000, 1, 5-12
- [27] Kalembe D., Kunicka A. *Curr. Med. Chem.* 2003, 10, 813-829
- [28] *Biodiversity Convention signed in Rio de Janeiro 5.06.1992 (Journal of Laws of the Republic of Poland 2002 no. 184, position 1532)*
- [29] Person M. *Chemodiversity and functions of monoterpene hydrocarbons in conifers*. Ph.D. Thesis, Royal Institute of Technology (KTH), Stockholm, 2003
- [30] Hamric J.L., Libby W.J. *Silvae Genet.* 1972, 21, 29-35
- [31] Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., *Food Chem. Toxicol.* 2008, 46, 446-475
- [32] Lewis M., Nelson J.K., Grant K.E. *65th Northwest and 22nd Rocky Mountain Regional Meeting of the American Chemical Society, Pullman, WA, USA, 20-23 June 2010.*
- [33] Hafizoğlu H., Reunanen M. *Holzforschung* 1994, 48, 7-11.
- [34] Kilic A., Hafizoglu H., Dönmez I.E., Tümen I., Sivrikaya H., Hemming J., Reunanen M., *J. Bartın Faculty Forest.*, 2013, 15, 122-127.
- [35] Suzanne C. *Hydrosols, the next aromatherapy*, Healing Arts Press Rochester, Vermont, 2001
- [36] Agrawal O.P., Agrawal G., Agrawal K., *Text Book of Biochemistry*, Krishna Prakashan 14th edition, India, 2007
- [37] Bojarowicz H., Woźniak B. *Probl. Hig. Epidemiol.* 2008, 89, 471-475.
- [38] Noszczyk M. *Kosmetologia pielęgnacyjna i lekarska*. Wyd. Lekarskie PZWL, W-wa 2012
- [39] Rowe J.W. *Natural Products of Woody Plant II*, Springer-Verlag, Berlin, 1989
- [40] Yang X.W., Li S.M., Shen Y.H., Zhang W.D. *Chem. Biodivers.* 2008, 5, 56-81
- [41] Tümen H., Hafizoglu A., Pranovich M., Reunanen, *Fresen. Environ. Bull.* 2010, 19, 2268-2276

- [42] Kilic A., Hafizoglu H., Tümen I.I., Sivrikaya H., Reunanen M., Hemming J. *Eur. J. Wood Prod.* 2011, 69,37-40.
- [43] Nascimento M.S., Santana A.L.B.D., Maranhão C.A., Oliveira L.S., Bieber L. Phenolic Extractives and Natural Resistance of Wood, Open Access Book, IntechOpen, 2013
- [44] Hergert H.L., *Forest Prod. J.* 1960, 10, 610-17
- [45] Jichang W., Zhenyu W., Ziluan F., Lili Z., Shuangqi T., Keli Y. *Adv. Mat. Res.* 2011, 1, 183-185
- [46] Norin T., Winell B. *Acta Chem. Scand.* 1972, 26, 2287-2296
- [47] Willför S., Nisula L., Hemming J., Reunanen M., Holmbom B. *Holzforschung* 2004, 58, 650-659
- [48] Lamer-Zarawska E., Chwała C., Gwardys A.: Rośliny w kosmetyce i kosmetologii przeciwwstarzeniowej. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2012
- [49] González-Castejón M., Rodríguez-Casado A., *Pharmacol. Res.* 2011, 64, 438-455
- [50] Llaverias G., Escola-Gil J.C., Lerma E., Julve J., Pons C., Cabre A., Cofan M., Ros E., Sanchez-Quesada J.L., Blanco-Vaca F. *J. Nutr. Biochem.* 2013, 24, 39-48
- [51] Passi S., De Pità O., Puddu P., Littarru G.P., *Free Radic Res.* 2002, 36, 471-477
- [52] Khoosal D., Goldman R., *Can. Fam. Physician.* 2006, 52, 855-856
- [53] Mathiowitz E., Chickering D.E., Lehr C-M., *Bioadhesive Drug Delivery Systems: Fundamentals, Novel Approaches, and Development*, Marcel Dekker Inc, New York, 1999
- [54] Hargrove J.L., Greenspan P., Hartle D.K., *Exp. Biol. Med.* 2004, 229, 215-226
- [55] Menéndez R., Más R., Amor A.M., Ledón N., Pérez J., González R.M., Rodeiro I., Zayas M., Jiménez S., *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2002, 80, 13-16
- [56] Paduch R., Kandefer M., Trytek M., Fiedurek J., *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 2007, 55, 315-27
- [57] Oh H.J., Ahn H.M., So K.H., Yun P.Y., Riu K.Z., *J. Appl. Biol. Chem.* 2007, 50, 164-169
- [58] Bagci E., Digrak M., *Flavour Fragr. J.* 1996, 11, 251-256
- [59] Seun-Ah Y., Sang-Kyung J., Eun-Jung L., Nam-Kyung I., Kwang-Hwan J., Sam-Pin L., In-Seon L. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2009, 44, 253-259

4. Omówienie pozostałych osiągnięć badawczych

W latach 2001-2006 byłam studentką studiów doktoranckich przy Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej. Eksperymenty naukowe w ramach mojej rozprawy doktorskiej, którą obroniłam z wyróżnieniem, obejmowały badania analityczne lotnych składników drewna wybranych gatunków drzew iglastych oraz olejków eterycznych roślin rodzaju czarnuszka *Nigella*. Dwuwątkowy temat rozprawy doktorskiej wynika z faktu, iż po trwających dwóch latach badań nad terpenami roślin z rodzaju *Nigella*, wyjechałam przeprowadzić eksperymenty w ramach opracowanego przez siebie i przy współpracy z uczelnią w Finlandii tematu dotyczącego terpenów drewna. Tak więc w trakcie realizacji pracy doktorskiej, w terminie od sierpnia 2003 do lipca 2004 r. byłam stypendystką programu Marie Curie Training Site, w Institute of Wood and Paper Chemistry, w Åbo Akademi University w Finlandii. W wyniku prac badawczych dokonałam identyfikacji związków lotnych bieli i twardzieli drewna oraz opracowałam metodykę wykorzystującą analizę mikroekstrakcji do fazy stałej z fazy nadpowierzchniowej (HS-SPME) w połączeniu z metodami: GC i GC-MS do identyfikacji lotnych terpenów drewna popularnych w Finlandii gatunków drzew iglastych. Wyniki tych prac zostały opublikowane w artykułach naukowych oraz zaprezentowane na konferencjach:

Publikacje:

- Wajs A.**, Pranovich A., Reunanen M., Willför S., Holmbom B. „Headspace-SPME analysis of the sapwood and heartwood of *Picea abies*, *Pinus sylvestris*, and *Larix decidua*” *J. Essent. Oil Res.*, 2007, 19, 125-133
- Wajs A.**, Pranovich A., Reunanen M., Willfor S., Holmbom B. „Characterization of volatile organic compounds (VOCs) in stemwood using solid phase microextraction (SPME)” *Phytochem. Anal.*, 2006, 17, 91-101
- Wajs A.**, Pranovich A., Reunanen M., Willför S., Holmbom B. Solid phase microextraction, dynamic headspace and hydrodistillation – methods for analysis of volatiles in wood. *8th European Workshop on Lignocellulosics and Pulp*. “Kipografija Tërse” Ltd. Press, Riga/Latvia, 2004, 335-338

Doniesienia konferencyjne:

- Wajs A.**, Pranovich A., Reunanen M., Willfor S., Holmbom B. „Solid phase microextraction (SPME), dynamic headspace and hydrodistillation - methods for analysis of volatiles in wood” 8th European Workshop on Lignocellulosics and Pulp 22-25.08.2004 Ryga/Łotwa. Printed in "Kipografija Tërse" Ltd. p.335-338
- Wajs A.**, Pranovich A., Reunanen M., Willför S., Holmbom B. Solid phase microextraction (SPME), dynamic headspace and hydrodistillation -- methods for analysis of volatiles in wood. *Åbo Akademi Process Chemistry Group - Annual Meeting*. 19.08.2004 Turku/Åbo, Finland.

Kolejną częścią doktoratu była poświęcona analizie olejków eterycznych roślin z rodzaju czarnuszka (*Nigella*), uprawianych w Polsce. Z olejku z nasion, z jednego z badanych gatunków: czarnuszki zwyczajnej (*N. sativa*) wyizolowałam i podałam charakterystyce spektroskopowej dwa dotychczas nieodkryte związki: etery metylowe *cis*- i *trans*- tujan-4-olu. Wyniki eksperymentów stały się przedmiotem również kilku publikacji oraz doniesień na konferencjach naukowych.

Publikacje:

- Wajs A.**, Kalemba D. Volatile constituents of seeds of *Nigella orientalis*, cultivated in Poland, *J. Essent. Oil Res.*, 2010, 22, 232-234
- Wajs A.**, Bonikowski R., Kalemba D. Different isolation methods for determination of composition of volatiles from *Nigella damascena* L. seeds, *Nat. Prod. Commun.*, 2009, 4, 1577-1580
- Wajs A.**, Bonikowski R., Kalemba D. Composition of essential oil from seeds of *Nigella sativa* L. cultivated in Poland, *Flavour Frag. J.*, 2008, 23, 126-132
- Wajs A.**, Kalemba D. *Nigella sativa*: skład chemiczny i aktywność biologiczna. *Zeszyty Naukowe P.Ł., Chemia Spożywcza i Biotechnologia*, 2003, 67, 123-136
- Stoyanowa A., Georgiev E., **Wajs A.**, Kalemba D. 2003. A comparative investigation on the composition of the volatiles from seeds of *Nigella sativa* L. from Bulgaria. *J. Essent. Oil Bearing Plant.* 6, 207-209
- Wawrzyniak P., Iwanek D., Kalemba D., **Wajs A.**, Siedlanowski M. 2003. Wpływ stopnia wysuszenia surowca na jakość ekstraktu z nasion czarnuszki siewnej (*Nigella sativa* L.). *X Sympozjum suszarnictwa*. Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej. str.655-663

Doniesienia konferencyjne:

- Wajs A.**, Bonikowski R., Kalemba D. Isolation and structure determination of two new monoterpenoids from the essential oil of *Nigella sativa* L. – *5th International Symposium on Chromatography of Natural Products*. 19-22.06.2006 Lublin
- Wajs A.**, Wojtunik I., Kalemba D. Zastosowanie mikroekstrakcji do fazy stałej (HS-SPME) w analizie lotnych związków organicznych z ekstraktów z nasion czarnuszki siewnej (*Nigella sativa* L.). *VII Polska Konferencja Chemii Analitycznej*. 3-7.07.2005 Toruń
- Wawrzyniak P., Iwanek D., Kalemba D., **Wajs A.**, Siedlanowski M. Wpływ stopnia wysuszenia surowca na jakość ekstraktu z nasion czarnuszki siewnej (*Nigella sativa* L.). *X Sympozjum Suszarnictwa*. 17-19.09.2003 Łódź

Wawrzyniak P., Kalemba D., **Wajs A.** Ekstrakcja nadkrytycznym dwutlenkiem węgla z matrycy ciała stałego pochodzenia roślinnego. *IV Kongres Technologii Chemicznej* 8-12.09.2003 Łódź.

Wajs A., Sielatycka K., Góra J., Kalemba D. Composition of essential oil and fixed oil of *Nigella sativa* L. seeds. *3rd International Symposium on Chromatography of Natural Products*. 12-15.06.2002 Lublin.

Wajs A., Góra J., Kalemba D. Skład chemiczny i aktywność biologiczna olejku eterycznego z czarnuszki siewnej (*Nigella sativa* L.). *VII Sesja Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Jakość i Prozdrowotne Cechy Żywności – Nauka w Praktyce*. 21-22.05.2002 Wrocław.

Od roku 2006, po obronie doktoratu, głównym obszarem moich zainteresowań naukowych jest wykorzystanie technik chromatograficznych w analizie produktów pochodzenia naturalnego. W tematyce tej prowadzę współpracę z następującymi naukowcami spoza Politechniki Łódzkiej:

- prof. Stefanem Willförem (Åbo Akademi University, Finlandia)
- prof. Anną Stojakowską (Instytut Farmakologii, Polska Akademia Nauk, Kraków)
- dr hab. Jolantą Nazaruk (Zakład Farmakognozji, Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku)
- dr hab. Wiesławą Rosłoń (Katedra Roślin Warzywnych i Leczniczych, SGGW, Warszawa)
- dr hab. Ewą Karną i dr Łukaszem Szoką (Zakład Chemii Leków, Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku)
- dr hab. Moniką Sienkiewicz (Zakład Alergologii i Rehabilitacji Oddechowej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi)
- dr Agnieszką Kicel (Zakład Farmakognozji, Uniwersytet Medyczny w Łodzi)
- zespołem prof. Edwarda Roja (Instytut Nowych Syntez Chemicznych w Puławach)

Współpraca z ww. osobami zaowocowała publikacjami i wspólnymi doniesieniami na wielu konferencjach (wykaz publikacji i konferencji znajduje się poniżej).

Moje doświadczenie w dziedzinie analizy związków organicznych pozwoliło mi włączyć się w realizację dwóch projektów badawczych.

- W latach 2010-2014 byłam wykonawcą grantu finansowanego przez MNiSzW pt. „Analogi wybranych acyklicznych seskwiterpenów – otrzymywanie i aktywność biologiczna”. Efektem prowadzonych badań są wymienione niżej patenty, których jestem współautorką.

- W latach 2009-2013 brałam udział w projekcie rozwojowym Narodowego Centrum Badań i Rozwoju „Opracowanie nowej generacji ekologicznych, bezpiecznych w stosowaniu kosmetyków i produktów chemii gospodarczej z udziałem ekstraktów roślinnych otrzymywanych w warunkach nadkrytycznego CO₂” nr PBS1/A5/18/2012 realizowanym w latach 2012-2015 (koordynator na PŁ prof. dr hab. Józef Kula). W wyniku tej współpracy powstały liczne publikacje, patenty i doniesienia konferencyjne, których lista znajduje się poniżej.
- Ponadto w latach 2010-2014 uczestniczyłam w projekcie w ramach Europejskiego Programu Współpracy w Dziedzinie Badań Naukowo-Technicznych „COST action Forests, their Products and Services (FPS), Action FP0901, Analytical Techniques for Biorefineries” (w którym pełniłam rolę przewodniczącego, z ramienia Polski, w Komitecie Zarządzającym).
- W latach 2011-2012 byłam kierownikiem projektu z dotacji na finansowanie działalności polegającej na prowadzeniu badań naukowych lub prac rozwojowych na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności P.Ł.: “Młodzi Liderzy” zatytułowanego ”Bioactive components of seeds of some species of conifers”

Wykaz publikacji:

- Wajs-Bonikowska A.**, Stobiecka A., Radosław B., Krajewska A., Sikora M., Kula J., A comparative study on composition and antioxidant activities of supercritical carbon dioxide, hexane and ethanol extracts from blackberry (*Rubus fruticosus*) growing in Poland, *J. Sci. Food Agric.* 2017, 97, 3576-3583
- Nazaruk J., Chledzik S., Strawa J., Bazydła K., **Wajs-Bonikowska A.**, Chemical composition and antioxidant activity of *Cirsium vulgare*, *Nat. Prod. Commun.* 2017, 12, 51-522.
- Radosław Bonikowski R., Paoli M., Szymczak K., Krajewska A., **Wajs-Bonikowska A.**, Tomi F., Kalembe D. Chromatographic and spectral characteristic of some esters of a common monoterpene alcohols, *Flavor Fragr. J.* 2016, 31, 290-292
- Strawa J., **Wajs-Bonikowska A.**, Leszczyńska K., Ściepuk K., Nazaruk J. Chemical composition and antioxidant, antibacterial activity of *Cirsium rivulare* (Jacq) All. roots, *Nat. Prod. Res.* 2016, 28, 1-4
- Rosłoń W., **Wajs-Bonikowska A.**, Geszprych A., Osińska E., Characteristics of essential oil from young shoots of garden angelica (*Angelica archangelica* L.), *J. Essent. Oils Res.* 2016, 19, 1462-1470
- Rosłoń W., Osińska E., **Wajs-Bonikowska A.** Effect of plantation establishment and raw material stabilization on the useful traits of lovage leaves (*Levisticum officinale* Koch.) *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 2013, 12(1), 141-155
- Wajs-Bonikowska A.**, Stojakowska A., Kalembe D., Chemical composition of essential oils from a multiple shoot culture of *Telekia speciosa* and different plant organs, *Nat. Prod. Commun.* 2012, 7, 625-628

- Nazaruk J. **Wajs-Bonikowska A.**, Bonikowski R. Components and antioxidant activity of fruits of *Cirsium palustre* and *C. rivulare*, *Chem. Nat. Compd.*, 2012, 48(1), 8-10
- Bonikowski R., Kula J., Bujacz A., **Wajs-Bonikowska A.**, Zaklos-Szyda M., Wysocki S. Hydroindene-derived chiral synthons from carotol and their cytotoxicity *Tetrahedron-Asymmetr.*, 2012, 23(14), 1038-1045
- Kicel A., Wolbis M., Kalemba D., **Wajs A.** Identification of Volatile Constituents in flowers and leaves of *Trifolium repens* L. *J. Essent. Oil Res.*, 2010, 22, 624-627
- Bonikowski R., Kula J., Bujacz A., **Wajs A.**, Majzner W. Natural (+)-carotol as a donor of chirality in the synthesis of enantiomerically pure hydroindene building blocks *Tetrahedron-Asymmetr.*, 2009, 20(22), 2583-2588
- Skala E., Kalemba D., **Wajs A.**, Różalski M., Krajewska U., Różalska B., Więckowska-Szakiel M., Wysokińska H. "In vitro propagation and chemical and biological studies of the essential oil of *Salvia przewalskii* Maxim." *J. Biosciences*, 2007, 62, 839-848

Współautor patentów:

1. Sikora M., Krajewska A., Kula J., **Wajs-Bonikowska A.**, Bonikowski R., Stobiecka A., "Naturalny krem pielęgnacyjny do skóry tłustej, łojotokowatej" Patent z dn 28.06.2016, nr patentu 417752
2. Sikora M., Krajewska A., Kula J., **Wajs-Bonikowska A.**, Bonikowski R., Stobiecka A., "Naturalny krem pielęgnacyjny do skóry suchej, starzejącej się", Patent z dn 13.12.2016, nr patentu 408476
3. Sikora M., Krajewska A., Kula J., **Wajs-Bonikowska A.**, Bonikowski R., Stobiecka A., "Naturalny balsam pielęgnacyjny" Patent z dn 13.12.2016, nr patentu 408908
4. Świtakowska P., Bonikowski R., Kula J., **Wajs-Bonikowska A.**, "Acykliczny alkohol, analog nootkatonu", patent polski, PL 220687, 2014
5. Bonikowski R., Świtakowska P., Kula J., **Wajs-Bonikowska A.**, "Pochodna 5,9-dimetylodec-8-en-2-olu" Patent z dn 4.07.2016, nr patentu 408808
6. Bonikowski R., Świtakowska P., Kula J., **Wajs-Bonikowska A.** "Analog geranyloacetonu" Patent RP, PL 216558, 2013

Doniesienia naukowe konferencyjne, wygłaszane

1. Bonikowski R., Maciąg A., Sikora M., **Wajs-Bonikowska A.**, Kula J., Stobiecka A., Dobrzyńska-Inger A., Kostrzewa D., and Rój E., *Salvia officinalis* extracts – A rich source of vitamin E., *International Conference on Food Chemistry and Technology*, San Francisco, USA, 16-18 November 2015.
2. Bonikowski R., **Wajs-Bonikowska A.**, Maciąg A., Sikora M., Kula J., Stobiecka A., Dobrzyńska-Inger A., Kostrzewa D., Rój E. Ekstrakty szalwii lekarskiej – bogate źródło witaminy E. VI Krajowe Sympozjum "Naturalne i Syntetyczne Produkty Zapachowe i Kosmetyczne". Łódź, 2015.
3. Maciąg A., Bonikowski R., **Wajs-Bonikowska A.**, Sikora M., Stobiecka A., Kula J. Chemical composition of SFE CO₂ extracts produced from marigold (*Calendula officinalis* L.), sage (*Salvia officinalis* L.) and chamomile (*Matricaria chamomila* L.), 46th International Symposium on Essential Oils, Lublin, September, 2015.

4. Maciąg A., Bonikowski R., **Wajs-Bonikowska A.**, Sikora M., Stobiecka A., Kula J. Ekstrakty nadkrytyczne CO₂ bogate w witaminę E, I *Konferencja Naukowa Innowacyjne Technologie i Metody Oceny Jakości Kosmetyków i Produktów Chemii Gospodarczej*, Radom, 24 listopada 2015
5. Bonikowski R., Sikora M., Maciąg A., **Wajs-Bonikowska A.**, Stobiecka A., Kula J. Bioaktywne składniki ekstraktów otrzymywanych w warunkach nadkrytycznego CO₂. 57. Zjazd Polskiego Towarzystwa Chemicznego i Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego. *Chemia - Nadzieje i Marzenia*. Warszawa, 2014.
6. **Wajs A.**, Bonikowski R., Kalemba D. Isolation and identification of volatile organic compounds from seeds of coniferous trees. COST Action FP0901. *Analytical Techniques for Biorefineries. Workshop on analytical methods for non-wood raw materials and their products and processes*. Hamburg, Niemcy, 2010.
7. **Wajs A.**, Bonikowski R., Maciejewski M. Different isolation methods for determination of composition of volatiles from plant material. *Challenges in food flavor analysis. A workshop*. Poznań, 2009.
8. **Wajs A.**, Kalemba D. Wpływ metody wydzielenia związków lotnych na efektywność ich oznaczania w surowcu roślinnym, IV Krajowe Sympozjum "Naturalne i Syntetyczne Produkty Zapachowe i Kosmetyczne". Łódź, 2007.

Doniesienia naukowe konferencyjne, prezentowane w postaci plakatów

1. Kicel A., **Wajs-Bonikowska A.**, Granica S., Marchelak A., Matczak M., Olszewska M. Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of fruits from nine *Cotoneaster* medik. species, 2nd International Young Scientists Symposium, Wrocław 15-17.09.2016.
2. Kicel A., Matczak M., Skowronek K., **Wajs-Bonikowska A.**, Olszewska M. Chemical composition of essential oil of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench, 46th International Symposium on Essential Oils, Lublin, 13.09. 2015.
3. Bonikowski R., Sikora M., Maciąg A., **Wajs-Bonikowska A.**, Stobiecka A., Kula J. Bioaktywne składniki ekstraktów otrzymywanych w warunkach nadkrytycznego CO₂. 57. Zjazd Polskiego Towarzystwa Chemicznego i Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego. *Chemia - nadzieje i marzenia*. Warszawa, 2014.
4. Celiński K., Bonikowski R., Bączkiewicz A., **Wajs-Bonikowska A.**, Wojnicka-Półtorak A., Chudzińska E., Buczkowska K., Maliński T. The application of volatiles for species identification within the *Pinus mugo* complex. 9th International Symposium on Chromatography of Natural Products. *The Application of Analytical Methods for the Development of Natural Products*. Lublin, 2014.
5. **Wajs-Bonikowska A.**, Bonikowski R., Kula J., Sikora M., Maciąg A. Ekstrakt pozyskiwany z nasion czarnej porzeczki w warunkach nadkrytycznego CO₂ jako cenny surowiec kosmetyczny. I Międzynarodowa Konferencja "Ziołolecznictwo, Biokosmetyki i Żywność Funkcjonalna". Krosno, 2013.
6. **Wajs-Bonikowska A.**, Bonikowski R. Ekstrakt z nasion jodły koreańskiej jako potencjalny składnik preparatów kosmetycznych. I Międzynarodowa Konferencja "Ziołolecznictwo, Biokosmetyki i Żywność Funkcjonalna". Krosno, 2013.

7. Bonikowski R., **Wajs-Bonikowska A.**, Kula J., Sikora M., Maciąg A. Ekstrakt z nasion truskawki pozyskany metodą ekstrakcji CO₂ w stanie nadkrytycznym jako cenny składnik produktów kosmetycznych. I Międzynarodowa Konferencja "Ziołolecznictwo, Biokosmetyki i Żywność Funkcjonalna". Krosno, 2013.
8. Strawa J., **Wajs-Bonikowska A.**, Bonikowski R., Zapałowska E., Nazaruk J. Badania składu chemicznego wyciągu heksanowego z korzenii *Cirsium rivulare* (Jacq.) All. i możliwości jego wykorzystania w leczeniu cukrzycy. XXII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego. Farmacja - Nauka - Społeczeństwo. Białystok, 2013.
9. **Wajs A.**, Stojakowska A., Kalemba D. Essential oils from different parts and *in vitro* shoots of *Telekia speciosa*, 40th International Symposium on Essential Oils, Wrocław, September, 2010.
10. **Wajs A.**, Bonikowski R., Kalemba D. Isolation and identification of volatile organic compounds from seeds of coniferous trees. COST Action FP0901. Analytical Techniques for Biorefineries. Workshop on analytical methods for non-wood raw materials and their products and processes. Hamburg, Niemcy, 2010.
11. Maciejewski M., Bonikowski R., **Wajs A.** Determination of high impact aroma chemicals in flavors. Challenges in food flavor analysis. A workshop. Poznań, 2009.
12. **Wajs A.**, Bonikowski R., Maciejewski M. Different isolation methods for determination of composition of volatiles from plant material. Challenges in food flavor analysis. A workshop. Poznań, 2009.
13. **Wajs A.**, Urbańska J., Zaleskiewicz E. Volatile organic compounds from seeds of *Picea abies* L. and *Abies alba* Mill. 39th International Symposium on Essential Oils, Quedlinburg, Germany September 7-10.2008
14. **Wajs A.**, Kalemba D. Wpływ metody wydzielenia związków lotnych na efektywność ich oznaczania w surowcu roślinnym, IV Krajowe Sympozjum "Naturalne i Syntetyczne Produkty Zapachowe i Kosmetyczne". Łódź, 2007.
15. **Wajs A.**, Bonikowski R., Kalemba D. Isolation and structure determination of two new monoterpenoides from the essential oil of *Nigella sativa*, 5th International Symposium on Chromatography of natural Products (ISCNPO). The Application of Chromatographic Methods in Phytochemical and Biomedical Analysis. Lublin, 2006.

Swój warsztat badawczy szlifowałam biorąc udział w szkoleniach, między innymi: z zakresu zastosowania metody SPME w analizie żywności: „Zastosowanie metody mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME) w analizie żywności i w ochronie środowiska” (Poznań 2005), kolejne szkolenie dotyczyło analizy aromatów spożywczych "Challenges in Food Flavor Analysis" (Poznań, 2009), brałam też udział w warsztatach z zakresu obsługi dwuwymiarowego chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrią mas (Łódź, 2012). W roku 2017 i 2018 podnosiłam swoje kwalifikacje z zakresu surowców kosmetycznych i legislacji produktów kosmetycznych biorąc udział w kilku szkoleniach organizowanych przez Protec Ingredia Polska, Comercial Quimica Masso oraz na VII Międzynarodowej Konferencji Przemysłu Chemii Gospodarczej.

Od roku 2008 rozpoczęłam współpracę, jako recenzent artykułów naukowych, z czasopismami o zasięgu międzynarodowym tj. *Talanta* (1 recenzja), *Chemistry and Biodiversity* (4 recenzje), *Natural Product Communications* (2 recenzje), *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* (1 recenzja), *Journal of Essential Oil Bearing Plants* (4 recenzje), *Biotechnology and Food Sciences* (1 recenzja); *Waste and Biomass Valorization* (1 recenzja); *Oncotarget* (1 recenzja); *Molecules* (2 recenzje),

5. Prace eksperckie

Praca w Instytucie Podstaw Chemii Żywności PŁ pozwoliła mi wykonać wiele prac zleconych przez jednostki gospodarcze, głównie z przemysłu spożywczego oraz kosmetycznego takich jak m.in.: Laboratoria Natury, P.P.CH i P.R.S., Jaskulski Estates, JAR Jaskulski Aromaty, Stock Polska, T.B. Fruit Polska, Polmos Żyrardów.

6. Charakterystyka dorobku dydaktycznego

Od 2001 roku (od rozpoczęcia studiów III stopnia) na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności PŁ, na kierunkach: Biotechnologia, Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka oraz Ochrona Środowiska prowadziłam zajęcia laboratoryjne z Chemii organicznej. Ćwiczenia audytoryjne z Chemii organicznej prowadzę od 2006 roku. Od 2008 roku do obecnej chwili prowadzę laboratoria z Technologii i analizy aromatów spożywczych, na kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka (studia stacjonarne i niestacjonarne). Od roku 2016 prowadzę zarówno wykład, jak i zajęcia laboratoryjne z przedmiotu, którego jestem kierownikiem: Analiza kosmetyków i surowców kosmetycznych, na kierunku Technologia Kosmetyków. Ponadto opracowałam wykład oraz ćwiczenia laboratoryjne z przedmiotu: Wybrane metody analityczne w biotechnologii środowiska, na kierunku Biotechnologia Środowiska (studia stacjonarne). W 2009 r. opracowałam wykład i zajęcia laboratoryjne dla przedmiotu: Instrumentalne metody analizy chemicznej, dla kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka (studia stacjonarne). W latach 2013-2015 prowadziłam opracowane przez siebie zajęcia laboratoryjne będące fragmentem obszernego przedmiotu Toksykologia, na kierunku Ochrona Środowiska, studia stacjonarne.

W latach 2006-2018 byłam opiekunem 7 prac dyplomowych na studiach I stopnia oraz 10 prac dyplomowych magisterskich, na kierunku Technologia Żywności i Żywnienia Człowieka, a także 5 prac dyplomowych magisterskich dla kierunku Technologia Kosmetyków.

7. Charakterystyka dorobku organizacyjnego i popularyzatorskiego

Od 2015 r. jestem koordynatorem programu Erasmus + na Wydziale Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej. Działalność ta związana jest z koordynowaniem wyjazdów studentów na studia zagraniczne oraz nawiązywaniem współpracy z zagranicznymi jednostkami i ich naukowymi pracownikami. W roku 2007, z ramienia Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności zostałam nadal jestem opiekunem studentów zagranicznych na wydziale. Ponadto w latach 2011-2015 sprawowałam opiekę nad kilkoma rocznikami studentów kierunku Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka.

W latach 2007-2009 uczestniczyłam jako wykładowca w VII, VIII i IX Festiwalu Nauki, Sztuki i Techniki, organizowanym systematycznie przez łódzkie uczelnie i instytuty naukowe, w tym również przez Politechnikę Łódzką.

Od 2016 r. jestem członkiem zespołu redakcyjnego czasopisma „Biotechnology and Food Science”, którego wydawcą jest Politechnika Łódzka. Czasopismo to posiada obecnie 8 pkt. MNiSW, a publikowane jest od kilkudziesięciu lat.

W roku 2007, 2012, 2015 i 2018 byłam/jestem członkiem komitetu organizacyjnego sympozjum zatytułowanego "Naturalne i Syntetyczne Produkty Zapachowe i Kosmetyczne", organizowanego w Łodzi.



Łódź 11.06.2018