

Załącznik IIA



AUTOREFERAT

Zmienność ontogenetyczna mięty (*Mentha species*) czynnikiem warunkującym
zawartość składników bioaktywnych w surowcu

Agnieszka Najda

UNIwersytet PRZYRODNICZY w LUBLINIE
Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu

Katedra Warzywnictwa i Roślin Leczniczych

Lublin 2017

SPIS TREŚCI

1. DANE PERSONALNE	3
2. POSIADANE DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE	3
3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH	4
4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 ROKU O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (DZ. U. NR 65, POZ. 595 ZE ZM.)	4
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego	4
4.2. Omówienie celu naukowego i osiągniętych wyników	4
5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH	23
5.1. Osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora nauk rolniczych	23
5.2. Osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia doktora nauk rolniczych	26
6. AUTORSTWO LUB WSPÓŁAUTORSTWO PRAC NAUKOWYCH LUB INNYCH PRAC TWÓRCZYCH	29
7. BIBLIOMETRYCZNE WSKAŹNIKI DOKONAŃ NAUKOWYCH	30

1. DANE PERSONALNE:

Imię i nazwisko:

Agnieszka Najda

Miejsce zatrudnienia:

Katedra Warzywnictwa i Roślin Leczniczych
Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Kr. Leszczyńskiego 58, 20-068 Lublin
tel. 081 52-47-157

2. POSIADANE DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE:

- **1996 r. dyplom magistra inżyniera rolnictwa** z wyróżnieniem, Wydział Rolniczy, Akademia Rolnicza w Lublinie (obecnie: Wydział Agrobioinżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie)

Tytuł pracy magisterskiej: „Wpływ wernalizacji nasion na wzrost i rozwój wiesiołka dziwnego (*Oenothera paradoxa* Hudziok)”, wykonana w Katedrze Roślin Przemysłowych i Leczniczych, Instytutu Szczegółowej Uprawy Roślin

Promotor: prof. dr hab. Stanisław Berbeć

Recenzent: prof. dr hab. Jan Dyduch

- **2004 r. stopień doktora nauk rolniczych w zakresie ogrodnictwa – specjalizacja warzywnictwo i rośliny lecznicze**, z wyróżnieniem, Wydział Ogrodniczy, Akademia Rolnicza w Lublinie (obecnie: Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie).

Tytuł rozprawy doktorskiej: „Plonowanie i ocena fitochemiczna roślin w różnych fazach wzrostu dwu odmian selera naciowego (*Apium graveolens* L. var. *dulce* Mill. / Pers.)”, wykonana w Katedrze Warzywnictwa i Roślin Leczniczych

Promotor: prof. dr hab. Jan Dyduch

Recenzenci: prof. dr hab. Eugeniusz Kołota
prof. dr hab. Tadeusz Wolski.

Praca uhonorowana przez Kapitułę Nagrody im. Emila Chroboczka Pierwszą Krajową Naukową Nagrodą w Zakresie Warzywnictwa w roku 2006.

- **2006 r. dyplom ukończenia studiów podyplomowych w zakresie „Analizy laboratoryjnej w ochronie środowiska”**, Akademia Rolnicza w Lublinie (obecnie: Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie).

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH:

- **01.10.1996 – 30.01.1998** – asystent stażysta w Katedrze Roślin Przemysłowych i Leczniczych, Wydział Rolniczy, Akademia Rolnicza w Lublinie (obecnie: Wydział Agrobioinżynierii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie),

- **01.04.1998 – 31.03.2007** – specjalista naukowo-techniczny w Katedrze Warzywnictwa i Roślin Leczniczych, Wydział Ogrodniczy, Akademia Rolnicza w Lublinie (obecnie: Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie),
- **01.10.2007 – 30.09.2010** – asystent w Katedrze Warzywnictwa i Roślin Leczniczych, Wydział Ogrodniczy, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie (obecnie: Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie),
- **01.03.2008 – do chwili obecnej** – kierownik Laboratorium Jakości Warzyw i Surowców Zielarskich Katedry Warzywnictwa i Roślin Leczniczych, Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie,
- **01.10.2010 – do chwili obecnej** – adiunkt w Katedrze Warzywnictwa i Roślin Leczniczych, Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie.

4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA WYNIKAJĄCEGO Z ART. 16 UST. 2 USTAWY Z DNIA 14 MARCA 2003 R. O STOPNIACH NAUKOWYCH I TYTULE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTULE W ZAKRESIE SZTUKI (DZ.U. NR 65, POZ. 595 ZE ZM.):

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego:

Osiągnięciem, będącym podstawą ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego jest monografia pt.: „**Zmienność ontogenetyczna mięty (*Mentha species*) czynnikiem warunkującym zawartość składników bioaktywnych w surowcu**” (załącznik III; Rozprawa Naukowa 387, 2017, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, ISSN 1899-2374).

Recenzenci: prof. dr hab. Dorota Jadczak
prof. dr hab. Monika Waksmundzka-Hajnos.

4.2. Omówienie celu naukowego ww. pracy i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

WPROWADZENIE

Zmienność składu chemicznego, a co za tym idzie, także działania farmakologicznego surowców roślinnych jest uwarunkowana wieloma czynnikami, z których najistotniejszym jest czynnik biologiczny, zwany dojrzałością wegetacyjną roślin. Z danych zawartych w piśmiennictwie wynika, iż problemowi temu poświęcono wiele badań dotyczących surowców olejkowych, zwłaszcza zmianom ilościowym olejku eterycznego w roślinach i ich organach w różnych okresach wegetacji oraz zmiennych warunkach uprawowych [Lis i Góra 2000, Fecka i in. 2002, Georgiev i Stoyanova 2006, Zawiślak 2015]. Jednak żadna z dostępnych prac nie dotyczy zmienności składników kształtujących aktywność

przeciwutleniającą surowców. Intensyfikacja prac nad roślinnymi substancjami biologicznie czynnymi, wpływającymi na prawidłowe funkcjonowanie organizmu ludzi i zwierząt, powoduje konieczność podejmowania badań mających na celu identyfikację tych substancji w różnych znanych gatunkach, również w gatunkach mięty cechujących się odmiennym aromatem.

Różnorodność gatunkowa mięty, a także stosunkowo łatwa zdolność krzyżowania w obrębie gatunku, przyczyniły się do powstania wielu jej odmian botanicznych, regionalnych i uprawnych. W Polsce i w wielu regionach świata najbardziej popularna w uprawie jest mięta pieprzowa oraz jej odmiany. W większości krajów mięta pieprzowa stała się składnikiem lokalnej kuchni, wypierając częściowo rodzime gatunki [Spirling i Daniels 2001, Gómez-Baggethun i Reyes-García 2013, Leonti i Casu 2013].

Plantacje mięty pieprzowej zakładane są najczęściej z rozłogów, których reprodukcja staje się jednak kosztowna i coraz trudniejsza, zwłaszcza przy wieloletnim systemie użytkowania plantacji. Wydajność rozłogów zależy od wielu czynników. Ich jakość w dużym stopniu związana jest z wiekiem plantacji matecznej, sposobem użytkowania, a także sposobem zbioru ziela. Z praktyki rolniczej i obserwacji własnych wynika, że rozłogi rzadko pozyskiwane są ze specjalnych plantacji – mateczników. Najczęściej pochodzą one z plantacji produkcyjnych, będących w różnym roku użytkowania i różnej kondycji.

Wzrastające zapotrzebowanie na ziele mięty i rosnące wymagania jakościowe w stosunku do surowca, a także wzrost świadomości konsumentów co do wpływu jakości żywności na stan zdrowia człowieka stymulują pojawianie się nowych produktów spożywczych wzbogaconych w naturalne składniki prozdrowotne. Producenci żywności oferują coraz to nowsze produkty, w tym zmniejszające ryzyko powstania tzw. chorób cywilizacyjnych tj. chorób układu krążenia, chorób jelita grubego, osteoporozy i otyłości. Wszystko to skłania do intensywnych badań nad zawartością i składem roślinnych substancji biologicznie aktywnych obecnych w gatunkach znanych lecz w Polsce nie uprawianych. Wprowadzenie tych gatunków do uprawy mogłoby poszerzyć asortyment dostępnych i popularnych, aromatycznych roślin zielarskich i w przyszłości zaowocować wykorzystaniem ich przez krajowy przemysł farmaceutyczny, spożywczy i kosmetyczny.

OBIEKT BADAŃ

Przedstawione osiągnięcie naukowe dotyczy badań w zakresie technologii uprawy nad roślinami czterech gatunków mięty: *Mentha × piperita* L. var. *citrata* Ehrh. – 'Bergamot', *Mentha × rotundifolia* L., *Mentha crispa* L., *Mentha spicata* L. – spearmint, które stanowiły materiał badawczy w doświadczeniach agrotechnicznych i laboratoryjnych.

Gatunki z rodzaju *Mentha* należą do najbardziej popularnych roślin olejkowych. Mimo to w uprawie, ze względu na pozyskanie surowca zielarskiego dominują *M. × piperita* L., *Mentha spicata*, *M. canadensis*. W Polsce, jako roślina zielarska, uprawiana jest na skalę towarową tylko mięta pieprzowa, której surowiec stanowią ziele i liście zbierane przed kwitnieniem, zawierające oprócz lotnych metabolitów związki polifenolowe w tym kwasy fenolowe i ich estry, flawonoidy, terpeny, kwasy organiczne i związki mineralne. Najnowsze doniesienia literaturowe podkreślają, że inne gatunki np. *M. × piperita* L. var. *citrata*, *M. crispa* L., *M. × rotundifolia* L., zyskują na znaczeniu, co potwierdza wzrost zainteresowania ich uprawą [Garlet i in. 2013, Moldovan i Oprean 2014, Brahmi i in. 2015, Padalia i in. 2015].

Nieliczne doniesienia krajowe i często rozbieżne wyniki badań zagranicznych, dotyczące sposobów rozmnażania, uprawy mięty i kumulacji związków biologicznie czynnych w surowcu w różnych szerokościach geograficznych, nie dają podstaw do ich wykorzystania w warunkach klimatycznych Polski. Dlatego też niezbędne było przeprowadzenie eksperymentów obejmujących swym zakresem zarówno doświadczenia agrotechniczne i analityczne w wieloletnim systemie uprawy mięty, z uwzględnieniem realnej sytuacji trzyletniego użytkowania roślin przez plantatorów.

SZCZEGÓŁOWE CELE BADAŃ

W prezentowanej monografii zamieszczono wyniki badań, których głównym celem było określenie zależności między wzrostem roślin i wydajnością produkcji, składem biochemicznym (olejek eteryczny, polifenole) i aktywnością antyoksydacyjną, które stanowią charakterystykę czterech badanych gatunków z rodzaju *Mentha*.

Przedstawione osiągnięcie naukowe stanowi pierwsze kompleksowe opracowanie porównawcze czterech gatunków mięty w warunkach klimatycznych Polski i Europy.

Cel naukowy badań obejmował realizację następujących zagadnień:

- ocenę wzrostu, plonowania i wartości biologicznej surowca różnych gatunków mięty pozyskanych z uprawy jednorocznej, dwuletniej i trzyletniej w zależności od rodzaju użytych sadzonek (sadzionki pędowe i rozłogowe);
- określenie przydatności materiału rozmnożeniowego pochodzącego z mateczników o różnym wieku (jednorocznych, dwuletnich i trzyletnich);
- określenie zależności pomiędzy wiekiem mateczników a plonem ziela czterech gatunków mięty w różnych latach użytkowania plantacji;
- porównanie wybranych metabolitów wtórnych modyfikujących aktywność antyoksydacyjną oraz określenie zmian zawartości tych związków w badanych surowcach w różnych fazach wzrostu roślin.

OMÓWIENIE WYNIKÓW**POSZUKIWANIE ZALEŻNOŚCI POMIĘDZY SPOSOBEM ZAKŁADANIA PLANTACJI
A WIELKOŚCIĄ I STRUKTURĄ PLONU ZIELA MIĘTY**

Ocena dostępnych sposobów rozmnażania gatunków mięty stanowiła pierwszy etap badań. Doświadczenia agrotechniczne prowadzono w latach 2005-2010, wykorzystując materiał rozmnożeniowy pochodzący z własnych upraw. Spośród dwóch wariantów zakładania plantacji, pierwszy polegał na wykorzystaniu 3-węzłowych szczytowych części pędów, które pobierano corocznie w trzeciej dekadzie sierpnia i ukorzeniano w szklarni w wielodoniczkach DP 5/45 w substracie torfowym wzbogaconym Azofoską (w dawce $5 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$). Kolejny sposób polegał na sadzeniu sadzonek rozłogowych (które posiadały pęd z ukorzenioną częścią rozłogową), pochodzących z jednorocznych roślin matecznych pozyskiwanych corocznie w drugiej dekadzie września bezpośrednio przed sadzeniem ich na miejsce stałe. Ukorzenione sadzonki pędowe, jak i rozłogowe przeniesione do gruntu na miejsce stałe przyjmowały się stosunkowo łatwo, gwarantując uzyskanie pełnej obsady roślin na poletkach. Na tej podstawie wykazano, że oceniane rodzaje sadzonek w celu zakładania plantacji mięty są zasadne i możliwe do wykorzystania w praktyce. Przy wszystkich sposobach zakładania plantacji zachowano taką samą rozstawę roślin $40 \times 20 \text{ cm}$, co gwarantowało obsadę $125 \text{ tys. szt.} \cdot \text{ha}^{-1}$.

Porównując możliwość zakładania plantacji mięty poprzez sadzenie sadzonek rozłogowych i pędowych można stwierdzić wyraźny wpływ rodzaju sadzonek na przezimowanie roślin. W pierwszym roku użytkowania plantacji z sadzonek pędowych procent roślin podejmujących wzrost stanowił 98–100%, zaś z sadzonek rozłogowych 94–95%. W przypadku *M. × piperita* L. var. *citrata* w uprawie z sadzonek rozłogowych braki stanowiły aż 5–6%, zaś najmniej w uprawie *M. spicata* L. z sadzonek pędowych (1%). Rośliny *M. × rotundifolia* L. i *M. crispa* L. z sadzonek pędowych podejmowały wzrost w 100%. W drugim i trzecim roku użytkowania plantacji wybijanie pędów jest mniej równomierne i opóźnione, co potwierdzają obserwacje Németh i in. [2012].

Mnożenie gatunków mięty poprzez sadzonki pędowe powoduje szybszy wzrost i rozwój roślin w pierwszym i drugim sezonie wegetacji. Liczba pędów i rozgałęzień na dwuletnich roślinach pochodzących z uprawy z sadzonek pędowych była większa w porównaniu do roślin, które uprawiano z sadzonek rozłogowych, co znalazło odzwierciedlenie w wysokości plonu liści i ziela. Pędy roślin podczas pierwszego zbioru w uprawie z sadzonek pędowych były dłuższe i charakteryzowały się krótszymi międzywęzłami, a w konsekwencji większym udziałem liści i otrzymanym plonem, zarówno

z rośliny, jak i z jednostki powierzchni. Podczas kolejnego zbioru obserwowano wydłużenie międzywęźli we wszystkich wariantach uprawy.

Wytworzenie odpowiednio dużej liczby pędów o krótkich międzywęźlach i obfitym ulistnieniu ma decydujący wpływ na plon i jakość surowca mięty. W oparciu o to założenie ustalono, że prowadzenie plantacji z sadzonek rozłogowych daje różny efekt. Najwięcej pędów w kępie o najkrótszych międzywęźlach wykazano w uprawie *M. crispa* L. i *M. spicata* L., a różnice między nimi były nieistotne. Najmniej pędów o najdłuższych międzywęźlach tworzyły rośliny *M. × rotundifolia* L. przed pierwszym i kolejnym zbiorem.

Wyniki parametrów wzrostu roślin, plon świeżej i suchej masy ziela i liści porównywanych gatunków mięty w trzech sezonach wegetacyjnych wykazały oczywiste znaczące różnice pomiędzy roślinami *Mentha* pod względem wszystkich badanych parametrów. *M. × rotundifolia* L. przewyższała wysokością roślin inne gatunki. Największą świeżą i suchą masę liści zarówno z rośliny jak i jednostki powierzchni uzyskano w uprawie *M. × piperita* L. var. *citrata* podczas pierwszego i kolejnego zbioru w pierwszym, drugim i trzecim roku użytkowania plantacji. W uprawie *M. crispa* L. uzyskano rośliny o najbardziej ulistnionych i rozgałęzionych pędach, przez co plon świeżej i powietrznie suchej masy ziela był największy. *M. spicata* L. charakteryzowała się najmniejszym udziałem liści w ziele. Wśród badanych gatunków, *M. × piperita* L. var. *citrata* i *M. crispa* L. okazały się z punktu widzenia produkcji bardziej odpowiednie do uprawy w warunkach wschodniej Polski niż inne.

Analizując wyniki przeprowadzonych badań w odniesieniu do roślin *M. × rotundifolia* L. i *M. crispa* L. potwierdzono powtarzalność uzyskanych wyników, zarówno w odniesieniu do rodzaju sadzonek, kolejnych zbiorów i wieku plantacji. W uprawie polowej, w optymalnych warunkach rośliny charakteryzowały się lepszymi parametrami biometrycznymi (wysokość, liczebność pędów, rozgałęzień bocznych i ulistnienie). Ich masa i udział liści w masie ziela nie różniły się lub były większe od osiągniętych w krajach klimatu śródziemnomorskiego i tropikalnego, w których uprawiane są powszechnie lub są rodzimymi gatunkami [Zeinali i in. 2004, El-Wahab i Mohamed 2009, Moldovan i Oprean, 2014].

Wybrane cechy morfologiczne gatunków i odmian roślin mięty są podstawą do określenia ich wartości przemysłowej, rejonizacji i przydatności do uprawy [Lawrence 2007]. Na podstawie przeprowadzonych badań, stwierdzono ujemną korelację między długością najdłuższego pędu a liczbą rozgałęzień bocznych we wszystkich wariantach uprawy. W uprawie *M. × piperita* L. var. *citrata*, *M. crispa* L. i *M. spicata* L. wykazano dodatnią korelację między ulistnieniem a liczbą rozgałęzień. Wybrane cechy morfologiczne roślin

mogą zatem stanowić parametry w ocenie przydatności gatunków mięty do sposobu użytkowania plantacji.

Wielu autorów uważa, że wartość użytkowa mięty określana jest masą ziela i liści, a ich udział w ziele jest najważniejszym wskaźnikiem jakości surowca [Lawrence 2007, Kumar i in. 2010, Zheljazkov i in. 2010b, Kassahun i in. 2011, Khadraoui i in. 2015]. W warunkach Polski największą masę świeżego ziela z rośliny uzyskano w uprawie *M. crispa* L. Największą świeżą masę liści i ich największy udział w ziele (67% - I termin zbioru i 61% - II termin zbioru) uzyskano w uprawie *M. × piperita* L. var. *citrata*. Stosując sadzonki pędowe odnotowano większy udział liści w ziele (66% - I termin zbioru i 63% - II termin zbioru). W drugim i trzecim roku wegetacji udział liści w masie ziela był największy i kształtował się na poziomie 63% – I termin zbioru; 61% – II termin zbioru. Spośród porównywanych gatunków istotnie większą powietrznie suchą masę ziela otrzymano w uprawie *M. crispa* L. z pierwszego i kolejnego zbioru (36,9 i 24,60 g·rośl.⁻¹). Większe różnice notowano pod względem powietrznie suchej masy liści, których największą uzyskano z pierwszego zbioru w uprawie *M. × piperita* L. var. *citrata* (19,0 g·rośl.⁻¹).

Na plantacjach jednorocznych, dwuletnich i trzyletnich największy plon masy ziela uzyskano z uprawy *M. crispa* L., najmniejszy natomiast w uprawie *M. × rotundifolia* L. Charakterystyczne jest, że udział liści w łącznym plonie surowca był większy w uprawie *M. × piperita* L. var. *citrata*. Niezależnie od gatunku, większy plon świeżej masy i po wysuszeniu surowców uzyskano w uprawie mięty z sadzonek pędowych.

Zalecany w praktyce zbiór roślin mięty tuż przed kwitnieniem daje mniejsze plony zwłaszcza liści, a surowiec cechuje się mniejszą zawartością olejku, co potwierdzały już inne opracowania [Węglarz i Załęcki 1985, Zheljazkov i Topalov 1997, Rohloff i in. 2005, Zheljazkov i in. 2010b]. W przeprowadzonym eksperymencie zbiór roślin przeprowadzono na dwa tygodnie przed ich kwitnieniem, w konsekwencji w pierwszym i kolejnych latach wegetacji uzyskano dwa efektywne pokosy. Przyspieszenie zbioru o dwa tygodnie korzystnie wpłynęło zarówno na wysokość plonu, jego strukturę i jakość surowca niezależnie od rodzaju sadzonek i wieku plantacji. Wykazano że termin zbioru obok czynników agrotechnicznych, ontogenetycznych i genetycznych w istotny sposób warunkuje wielkość plonu i jakość surowca badanych gatunków mięty, co potwierdzają badania Mekonnen i Kassahun [2011] w odniesieniu do *M. spicata* L.

Ważnym parametrem w ocenie surowców zielarskich po zbiorze jest współczynnik tzw. usychalności (stosunek świeżej do powietrznie suchej masy). W uprawie z sadzonek pędowych wartość współczynnika usychalności ziela kształtowała się na poziomie 3,6, z sadzonek rozłogowych była większa (4,0). Bardziej niekorzystne wartości współczynnika

usychalności wykazano w odniesieniu do liści w uprawie mięty z sadzonek rozłogowych (średnio 5,9).

ZALEŻNOŚĆ POMIĘDZY RODZAJEM SADZONEK I WIEKIEM PLANTACJI A ZAWARTOŚCIĄ WYBRANYCH METABOLITÓW WTÓRNYCH W ZIELU MIĘTY

Obok wielkości plonu istotne znaczenie w uprawie roślin zielarskich ma jego jakość warunkowana zawartością specyficznych związków biologicznie czynnych w surowcu. W dalszym etapie badań poddano ocenie fitochemicznej cztery gatunki mięty. Wykazano duże różnice pod względem zawartości i składu metabolitów wtórnych oraz ich zmienność w czasie wegetacji roślin podczas wieloletniego użytkowania plantacji. W tym kontekście przeprowadzone badania stanowią rzadkość i są pierwszymi badaniami porównawczymi gatunków mięty w Polsce i Europie.

W celu uzyskania olejku eterycznego przeprowadzono bezpośrednią hydrodestylację z parą wodną przy zastosowaniu aparatu typu Clevengera, co w perspektywie okazało się słuszne, gdyż ujednolicenie norm poprzez wprowadzenie Farmakopei Europejskiej w 2006 roku spowodowało konieczność dostosowania w Polsce wymagań dotyczących oznaczania zawartości olejku eterycznego poprzez zmiany w Farmakopei Polskiej.

Zawartość olejku eterycznego w surowcach podlegała dużym wahaniom i była modyfikowana czynnikami zmienności doświadczenia. Pod względem zawartości olejku eterycznego liście (2,9-3,3%) i ziele (2,4-2,8%) roślin *M. × piperita* L. var. *citrata* okazały się najbardziej wartościowe [Garlet i in. 2013]. Analizowane w niniejszych badaniach rośliny różnych gatunków mięty zbierane w pierwszym terminie gromadziły najwięcej olejku, a rodzaj sadzonek istotnie różnicował zawartość tego składnika, na korzyść sadzonek pędowych. Rośliny w drugim roku wegetacji odznaczały się większą koncentracją olejku eterycznego niż pozyskiwane w pierwszym i trzecim roku wegetacji. Pod względem zawartości olejku porównywane gatunki mięty można przedstawić w kolejności malejącej następująco: *M. × piperita* L. var. *citrata* > *M. crispa* L. > *M. spicata* L. > *M. × rotundifolia* L.

Profilowanie metodą GC/MS wykazało dużą różnorodność chemiczną w zasadniczej kompozycji olejku i utwierdziło w przekonaniu, że uprawa badanych gatunków może mieć istotne znaczenie dla przemysłu. Bowiem o wartości handlowej mięty nadal decyduje olejek eteryczny, zawierający mieszaninę monoterpenu, szeroko stosowanych w przemyśle farmaceutycznym, w wielu gałęziach medycyny, aromatyzowaniu żywności, kosmetyce, przemyśle perfumeryjnym, spożywczym i pokrewnych [Hussain i in. 2010a,b, Chauhan i in. 2012]. Nie bez znaczenia pozostaje bezpieczeństwo stosowania olejków. Badania toksykologiczne mięty pieprzowej wykazały, że pulegon składnik olejku miętowego może

wywoływać zmiany histopatologiczne w wątrobie [Thorup i in. 1983, Zhou i in. 2004] i być prekursorem raka pęcherza moczowego [National Toxicology Program 2011]. Zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady Europy z 2008 roku, w Unii Europejskiej pulegon nie może być stosowany jako substancja aromatyzująca, a jego stężenie w preparatach kosmetycznych nie powinno przekraczać 1% [Nair, 2001]. Poszukiwania gatunków i klonów mięty łagodniejszych, mniej toksycznych i nie wywołujących alergii, które mogłyby zastąpić w przemyśle miętę pieprzową potwierdzają celowość podjętych badań.

Olejek eteryczny badanych gatunków mięty stanowią głównie pochodne tlenowe monoterpenów, węglowodory monoterpenowe, seskwiterpeny i ich pochodne tlenowe. Różnice w zawartości poszczególnych komponentów olejku wynikają z różnorodności i dużej zmienności genetycznej analizowanych gatunków. W oleju roślin *M. × piperita* L. var. *citrata* zidentyfikowano 36 składników, którego najbardziej charakterystycznymi związkami są linalol i octan linalilu. Wykazano odwrotną tendencję akumulacji tych składników w surowcu w zależności od użytkowania plantacji. Linalol dominował w oleju w pierwszym i drugim roku uprawy, w przeciwieństwie do tego, octan linalilu był głównym składnikiem olejku z ziela roślin trzyletnich.

Od pewnego czasu linalol jest jednym z częściej używanych monoterpenów w perfumach, szacuje się, że występuje w 60-90% kosmetyków dostępnych na rynku [Cal i Kryzyzaniak 2006]. Wysokie zawartości linalolu i octanu linalilu w oleju *M. × piperita* L. var. *citrata* są istotne zatem z ekonomicznego punktu. Składniki te używane są w tworzeniu produktów kosmetycznych, takich jak kremy do twarzy i ciała, płyny i środki zapachowe, dezodoranty, szampony, produkty do kąpieli (żele, mydła) i spraye do włosów. Trwają badania nad zastosowaniem ich w produktach nie kosmetycznych, takich jak detergenty i środki czyszczące [Letizia i in. 2003a, b] i leki [Garlet i in. 2013].

W oleju z ziela *M. × rotundifolia* L. zidentyfikowano łącznie 32 składniki. Karwon (49,9-64,3%) i D-limonen (7,2%-17,1%), okazały się być głównymi związkami tego olejku. W oleju z ziela roślin dwuletnich karwon występował w znacznie wyższym stężeniu, podczas gdy, zawartość D-limonenu była najwyższa w oleju z roślin trzyletnich. W uprawie *M. × rotundifolia* L. z sadzonek rozłogowych potwierdzono niższą zawartość karwonu (53,32%), wobec 60,87% z sadzonek pędowych.

Olejek eteryczny *M. crispa* L. z ziela roślin z pierwszego zbioru zawierał łącznie 44 składniki, wśród których dominował tlenek piperitenonu (49,4-54,5%), terpinen-4-ol (5,9-8,3%), β -mircen (3,4-5,5%), D-limonen (3,4-4,3%), germakren-D (2,4-3,0%), tymol (2,2-2,7%) i cis- β ocimen (1,3-2,5%). Najwyższe stężenie tlenu piperitenonu (54,6%), terpinenu-4-ol (7,3%) i germakren-D (2,9%), niezależnie od terminu zbioru stwierdzono w surowcach

pozyskanych w drugim roku wegetacji roślin, podczas gdy olejek z ziela roślin jednorocznych zawierał większe ilości β -mircenu, D-limonenu, tymolu (2,8%) i cis- β -ocimenu.

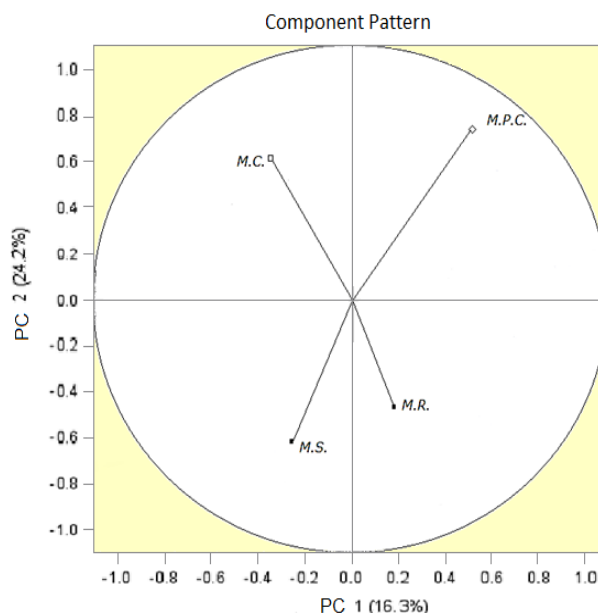
Podstawową kompozycję olejku *M. spicata* L. stanowiły 44 związki, którego najbardziej znaczącymi składnikami w warunkach doświadczenia były karwon i D-limonenem. Wyniki badań wykazały różnice ilościowe głównych składników olejku *M. spicata* L., powodowane rodzajem użytych sadzonek. Olejek z ziela roślin uprawianych z sadzonek rozłogowych charakteryzowały się mniejszą zawartością karwonu i największym stężeniem D-limonenu. Znacznie większe stężenie karwon wykazano w olejku z ziela pozyskanego z drugiego zbioru roślin, podczas gdy D-limonen dominował w olejku z ziela pochodzącego z pierwszego zbioru.

Analiza GC-MS dostarczyła wyczerpujących informacji na temat zasadniczego składu olejku eterycznego mięty, na podstawie których można zidentyfikować i potwierdzić indywidualny wzór dla konkretnego gatunku.

Przeprowadzona analiza PCA (rys. 1) wskazuje podobieństwa i różnice między składnikami olejku badanych gatunków mięty.

M. × rotundifolia L. i *M. spicata* L. mają najbardziej zbliżony profil chemiczny olejku eterycznego, tak więc wykazano, że analiza chromatograficzna może posłużyć do identyfikacji *M. spp.*, co potwierdziła przeprowadzona analiza PCA, a także późniejsze doniesienia Ludwiczuk i in. [20015].

Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że dotychczasowe badania dotyczące mięty koncentrowały się w szczególności na izolacji i składzie olejku eterycznego. Bardzo niewiele jest prac poświęconych kompleksowemu opisowi metabolitów wtórnych obecnych w surowcach mięty. Dlatego też, aby uzyskać szersze informacje dotyczące chemizmu polifenoli różnych gatunków mięty przeprowadzono badania porównawcze tej grupy substancji biologicznie czynnych obecnych w żywności pochodzenia roślinnego i uznawanych za najbardziej istotne składniki o działaniu prozdrowotnym.



Objaśnienia: M.P.C. – *M. × piperita* L. var. *citrata*, M.R. – *M. × rotundifolia* L., M.C. – *M. crista* L., M.S. – *M. spicata* L.

Rys. 1. Wykres analizy PCA dla wszystkich próbek niezależnie od czynników zmienności eksperymentu (w latach 2006–2010)

Powszechność występowania związków fenolowych w świecie roślin sprawia, że są nierozłącznymi składnikami pożywienia. Dzięki właściwościom przeciwutleniającym wielu polifenoli możliwa jest bezpośrednia neutralizacja chemicznych utleniaczy, wolnych rodników oraz kancerogenów środowiskowych i tym samym niedopuszczenie do uszkodzeń materiału genetycznego. W świetle tych faktów istotna staje się identyfikacja nowych aktywnych związków, które prowadzą do rozwoju fitoterapii oraz określenie czynników modyfikujących ich zawartość w roślinach.

Polifenole w ziele czterech badanych gatunków mięty reprezentowane są przez kwasy fenolowe, flawonoidy i garbniki. Przeprowadzone badania wykazały zróżnicowanie gatunkowe mięty pod względem zawartości polifenoli. Najmniejsze stężenie tych związków wykazano w surowcu *M. × rotundifolia* L. 512,1–643,8 GAE·100 g⁻¹ powietrznie suchej masy (p.s.m.), największe natomiast w *M. crispa* L. 758,1–870,4 GAE·100 g⁻¹ p.s.m.

Polifenole, których suma wzrastała w surowcach podczas drugiego zbioru w pierwszym roku wegetacji (z 503,6 mg GAE·100 g⁻¹ do 674,9 mg GAE·100 g⁻¹), ulegała znaczącemu zmniejszeniu w drugim roku uprawy (z 401,0 mg GAE·100 g⁻¹ do 512,8 mg GAE·100 g⁻¹), a następnie ponownie wzrastała w ziele roślin trzyletnich (z 697,8 mg GAE·100 g⁻¹ do 856,3 mg GAE·100 g⁻¹). Podobnie kształtowała się zawartość flawonoidów i fenolokwasów w analizowanych surowcach. Największą średnią zawartość fenolokwasów i najmniejszą flawonoidów wykazano w ziele *M. × piperita* L. var. *citrata*, surowiec *M. crispa* L. zawierał najwięcej flawonoidów, zaś garbników *M. × rotundifolia* L.

W wyniku analizy chromatograficznej ekstraktów z ziela czterech gatunków mięty autorka rozprawy zidentyfikowała łącznie 9 kwasów fenolowych. Przy czym poszczególne gatunki różniły się między sobą pod względem składu jakościowego i ilościowego kwasów fenolowych. Wykazano, że ziele *M. × piperita* L. var. *citrata* zawiera 9 fenolokwasów, *M. spicata* L. 7, *M. × rotundifolia* L. 5, natomiast *M. crispa* L. 4. Wszystkie analizowane ekstrakty zawierały kwas p-kumarowy i p-hydroksybenzoesowy. Przeprowadzone wieloletnie badania pozwalają stwierdzić, że stężenie kwasów fenolowych w analizowanych surowcach jest bardzo stabilne w poszczególnych latach badań, większe zróżnicowanie pod względem ilościowym odnotowano w zależności do rodzaju sadzonek i lat użytkowania plantacji. Przy czym należy podkreślić, że wśród zidentyfikowanych fenolokwasów istniało duże zróżnicowanie.

OCENA PRZYDATNOŚCI ROZŁOGÓW DO UPRAWY MIĘTY W ZALEŻNOŚCI OD WIEKU MATECZNIKA

Badania dotyczące określenia przydatności rozłogów pozyskanych z mateczników w różnym wieku przeprowadzono w latach 2008-2012 na jednorocznych, dwu- i trzyletnich roślinach. W pierwszym roku użytkowania mięty przydatność rozłogów oceniano na podstawie ukazujących się pędów. W uprawie z rozłogów z mateczników rocznych nie obserwowano znaczących różnic między porównywanymi gatunkami, pędy ukazywały się u 98–100% posadzonych rozłogów. Najlepszym materiałem sadzeniowym okazały się rozłogi pozyskane z mateczników rocznych. Najmniej brakujących roślin obserwowano w uprawie *M. crispa* L. niezależnie od wieku mateczników i użytkowania plantacji. Rozłogi pozyskane z mateczników trzyletnich okazały się jakościowo najgorszym materiałem rozmnożeniowym, pędy ukazywały się u 80–88% posadzonych rozłogów. W dostępnym piśmiennictwie nie odnajdujemy informacji dotyczących tego ważnego aspektu uprawy.

Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że wysokość roślin, liczba oraz długość najdłuższego pędu są ujemnie skorelowane z wiekiem mateczników stanowiących źródło materiału rozmnożeniowego w odniesieniu do wszystkich analizowanych gatunków mięty.

Wiek mateczników modyfikował świeżą i powietrznie suchą masę ziela i liści. Rośliny w uprawie z rozłogów pozyskanych z mateczników trzyletnich tworzyły mniejszą świeżą masę ziela i liści w porównaniu z roślinami z mateczników najmłodszych i dwuletnich (odpowiednio 21,7 oraz 41,4 g·rośl.⁻¹ i 41,4 i 42,2 g·rośl.⁻¹). Największy udział liści w ziele wykazano w uprawie z rozłogów pozyskanych z mateczników rocznych, najmniejszy z trzyletnich (odpowiednio 57 i 38% – I termin zbioru oraz 50 i 35% – II termin). Pięcioletnie wyniki badań w trzech cyklach uprawowych jednoznacznie potwierdzają, że rozłogi pozyskane z mateczników rocznych są lepszym materiałem rozmnożeniowym mięty. Rozważając wartość użytkową rozłogów z dwuletnich i trzyletnich roślin matecznych, stwierdzono, że w pierwszym roku wegetacji nieznacznie modyfikowały parametry plonu, jednak w kolejnych latach prowadzenia plantacji są istotnym czynnikiem zmniejszenia i pogorszenia jakości plonu surowca. Większy plon ziela i liści mięty uzyskano z pierwszego zbioru. Charakterystyczne jest, że największy udział plonu masy liści w plonie powietrznie suchej masy ziela w odniesieniu do wszystkich porównywanych gatunków mięty wykazano w uprawie z rozłogów z mateczników rocznych. Udział plonu liści w plonie ziela ulegał gwałtownemu zmniejszeniu w uprawie z mateczników dwuletnich i starszych.

Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że istotnym czynnikiem determinującym przydatność rozłogów jako materiału rozmnożeniowego jest wiek mateczników, z których są pozyskiwane.

ZALEŻNOŚĆ MIĘDZY WIEKIEM MATECZNIKÓW I PLANTACJI A ZAWARTOŚCIĄ WYBRANYCH METABOLITÓW WTÓRNYCH W ZIELU MIĘTY

Ocenę fitochemiczną czterech gatunków mięty przeprowadzono w celu określenia zależności pomiędzy jakością surowca a wiekiem mateczników, z których pozyskano materiał rozmnożeniowy w trzyletnim cyklu uprawy roślin.

Rośliny w uprawie z rozłogów z mateczników rocznych dostarczały najcenniejszego surowca pod względem zawartości olejku eterycznego w uprawie *M. × rotundifolia* L. Natomiast w uprawie *M. × piperita* L. var. *citrata*, *M. crispa* L. i *M. spicata* L. najzasobniejsze w olejek eteryczny surowce pozyskano w uprawie z rozłogów z mateczników dwuletnich. Znacznie mniej olejku zawierały liście i ziele roślin w uprawie z rozłogów z najstarszych mateczników dla wszystkich porównywanych gatunków. Zawartość głównych składników olejku eterycznego *M. × piperita* L. var. *citrata* linalolu, eukaliptolu i α -terpineolu pozostawała w większym stężeniu w surowcach z uprawy rozłogów pozyskanych z mateczników rocznych i dwuletnich. W ziele *M. × rotundifolia* L. zawartość dominujących składników karwonu i D-limonenu była największa w olejku z ziela roślin w uprawie rozłogów pozyskanych z mateczników rocznych. Wraz z wiekiem użytkowania plantacji udział tych składników ulegał zmniejszeniu. Główne składniki olejku *M. crispa* L. (tlenek piperitenonu, terpinen-4-ol) ulegały stopniowemu zmniejszeniu w zależności od wieku użytkowania plantacji i wieku mateczników, z których pozyskiwano materiał rozmnożeniowy. Udział karwonu najważniejszego składnika olejku *M. spicata* L. zmniejszał się, osiągając minimalne wartości w surowcu w trzecim roku wegetacji roślin w uprawie z rozłogów pozyskanych z trzyletnich mateczników.

Odmienne kształtowała się zawartość związków polifenolowych w ziele badanych gatunków mięty. Całkowita zawartość polifenoli w surowcach wzrastała w ziele z drugiego zbioru i była wprost proporcjonalna do wieku mateczników, z których pozyskano materiał rozmnożeniowy. W podobny sposób kształtowała się zawartość flawonoidów i kwasów fenolowych.

Zawartość garbników w badanych surowcach kształtowała się na poziomie od 0,026 mg CAT·100 g⁻¹ do 0,046 mg CAT·100 g⁻¹. Obserwowano wzrost zawartości garbników we wszystkich analizowanych surowcach z drugiego zbioru. *M. × rotundifolia* L. okazała się najzasobniejsza w garbniki.

Stosując chromatografię cieczową wykazano stałą zależność wynikającą z charakteru stresogennego kwasów fenolowych zależne od terminu zbioru i wieku mateczników z których pozyskano materiał rozmnożeniowy. Podczas pierwszego zbioru *M. × piperita* L. var. *citrata* w drugim roku wegetacji wykazano mniejsze stężenie kwasu ferulowego

i rozmarynowego, następnie ich zawartość wzrastała podczas drugiego zbioru osiągając najwyższe stężenie w ziele w trzecim roku wegetacji roślin. Ziele pochodzące z uprawy rozłogów pozyskanych z mateczników trzyletnich zawierało najwięcej kwasu ferulowego, rozmarynowego, galusowego i gentyzynowego.

Inną zależność wykazano w uprawie *M. × rotundifolia* L., której ziele w pierwszym roku uprawy z rozłogów pozyskanych z mateczników rocznych i dwuletnich charakteryzowało się najmniejszą zawartością kwasów fenolowych. Dominującym związkiem w pierwszym roku wegetacji był kwas kawowy, którego udział w ziele w kolejnym roku wegetacji pozostawał na tym samym poziomie. Obserwowany istotny spadek zawartości wszystkich zidentyfikowanych fenolokwasów w ziele (I zbiór), a następnie oczekiwany wzrost ich stężenia podczas drugiego zbioru roślin obserwowano tylko w uprawie z rozłogów pochodzących z mateczników najstarszych w drugim i trzecim roku użytkowania plantacji.

W ziele *M. crispa* L. pozyskanego z pierwszego zbioru roślin głównym związkiem były kwas p-kumarowy, którego zawartość wzrastała osiągając maksymalne wartości w trzecim roku uprawy.

Poziom kwasów fenolowych w ziele *M. spicata* L. w pierwszym roku wegetacji był modyfikowany wiekiem mateczników. W ziele pozyskanym z pierwszego zbioru dominowały kwas rozmarynowy i ferulowy, których zawartość ulegała zmniejszeniu w trzecim roku wegetacji roślin na korzyść kwasu p-kumarowego. W uprawie z mateczników najmłodszych, podczas obu zbiorów zawartość kwasów fenolowych kształtowała się na zbliżonym poziomie. Zidentyfikowane kwasy fenolowe oraz ich zawartość w ziele osiągała większe stężenia podczas drugiego zbioru w uprawie z rozłogów z mateczników dwuletnich i starszych.

OCENIE AKTYWNOŚCI ANTYOKSYDACYJNEJ I STĘŻENIA POLIFENOLI

Powszechnie uważa się, że zawartość związków polifenolowych w surowcu może być skorelowana z ich właściwościami antyoksydacyjnymi. Przeprowadzona ocena aktywności ekstraktów z ziele mięty przy zastosowaniu trzech testów: DPPH• i katonorodnika ABTS•• oraz FRAP, nie określiła w sposób jednoznaczny, który spośród badanych gatunków wykazuje najlepsze właściwości antyoksydacyjne. Według metody DPPH• była to *M. spicata* L., zaś według metody ABTS•• *M. crispa* L., natomiast stosując test FRAP zarówno *M. crispa* L., jak i *M. × piperita* L. var. *citrata*. Oceniając wpływ rodzaj sadzonek, wykazano, że w dwóch metodach była to uprawa z sadzonek rozłogowych (DPPH•, FRAP). Jednoznaczne wyniki z trzech testów aktywności antyoksydacyjne uzyskano jedynie dla wieku roślin.

Analizując wyniki aktywności przeciwutleniającej i zawartość poszczególnych grup związków polifenolowych, zdecydowano wykorzystać najbardziej popularny test wobec rodnika DPPH• do oceny właściwości antyoksydacyjnych ekstraktów z ziela badanych gatunków mięty. Na podstawie uzyskanych danych stwierdzono, że metabolity wtórne istotnie modyfikowały aktywność antyoksydacyjną ekstraktów z ziela mięty. Spośród porównywanych gatunków najwyższe wartości testu DPPH• uzyskano dla ekstraktów z *M. spicata* L. (48,1–60,7 $\mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$), w ziele której wykazano największą zawartość flawonoidów i kwasu rozmarynowego. Najsłabsza zdolność neutralizacji wolnego rodnika cechowała ekstrakty z ziela *M. × rotundifolia* L. (27,1–40,0 $\mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$), w których zawartość związków polifenolowych kształtowała się na najniższym poziomie. Istotnie większą zdolność do wychwytywania rodnika DPPH• wykazano dla ekstraktów z ziela pozyskanego z najstarszych roślin (44,1–59,7 $\mu\text{mol Trolox}\cdot\text{g}^{-1}$). Podobne zależności obserwowano w stosunku do wieku mateczników. Ekstrakty z ziela roślin w uprawie z trzyletnich mateczników wykazywały najwyższą aktywność wobec rodnika DPPH•.

ZAWARTOŚĆ WYBRANYCH SUBSTANCJI BIOLOGICZNIE CZYNNYCH W ZIELU MIĘTY W RÓŻNYCH FAZACH WZROSTU ROŚLIN

Doświadczenie miało na celu prześledzenie zawartości wybranych metabolitów wtórnych w różnych fazach wzrostu i rozwoju roślin mięty. Wykazano, że surowce zebrane w różnych fazach wzrostu i rozwoju roślin całkowicie różnią się pod względem głównych składników olejku. Olejek z ziela *M. × piperita* L. var. *citrata* o najlepszych parametrach uzyskano w początkowej fazie kwitnienia, gdy stężenie linalolu było najwyższe (50,75%).

Olejek *M. × rotundifolia* L. o największym udziale karwonu pozyskano z ziela roślin, których zbiór przeprowadzono jesienią podczas wzrostu wegetatywnego po kwitnieniu.

W przypadku *M. crispata* L. najmniejszym udziałem głównego składnika, tlenu piperitonu, cechował się olejek pozyskany z roślin w fazie wzrostu wegetatywnego przed kwitnieniem (średnio 32,69%). Następnie jego udział wzrastał na początku kwitnienia roślin (średnio 45,19%), po czym w fazie pełnego kwitnienia ulegał zmniejszeniu (39,60%).

Udział dominujących składników olejku mięty zielonej karwonu i D-limonenu ulegał dużym modyfikacjom w zależności od fazy wzrostu roślin. Największą zawartość karwonu wykazano w olejku z surowca roślin, których zbiór przeprowadzono podczas wzrostu wegetatywnego po kwitnieniu (średnio 46,66%), gdy stężenie D-limonenu było najniższe (średnio 13,36%).

Wyniki przeprowadzonych badań dowodzą zróżnicowaną zawartość sumy polifenoli w surowcach poszczególnych gatunków mięty. Ziele zbierane podczas i po zakończeniu

kwitnienia roślin gromadziło najwięcej polifenoli ogółem. Najmniejszą zawartość polifenoli określono w ziele roślin podczas wzrostu wegetatywnego przed kwitnieniem ($306,0 \text{ mg GAE} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$).

Stwierdzono zróżnicowaną zawartość fenolokwasów w badanych surowcach w zależności od fazy rozwojowej roślin. Najwięcej kwasów fenolowych zawierało ziele roślin, których zbiór przeprowadzono w fazie wzrostu przed kwitnieniem (średnio $150,7 \text{ mg GAE} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) i jesienią w fazie po kwitnieniu roślin (średnio $181,9 \text{ mg GAE} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$). Zawartość głównych kwasów fenolowych, *M. × piperita* L. var. *citrata*, *M. × rotundifolia* L. i *M. spicata* L. gromadziły najwięcej kwasu rozmarynowego w okresie wzrostu wegetatywnego przed i po kwitnieniu. Natomiast *M. crispa* L., w której dominującym kwasem był kwas ferulowy, zawierała go najwięcej w wymienionych fazach wzrostu roślin.

Związki flawonoidowe wchodzące w skład surowca mięty charakteryzują się bardzo zróżnicowanymi właściwościami farmakologicznymi, jak również zastosowaniem w lecznictwie. Zawartość flawonoidów w badanych surowcach kształtowała się na poziomie $112,1\text{--}475,0 \text{ mg RE} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ i była zależna od fazy rozwojowej roślin. Najmniejsze stężenie flawonoidów ($112,1 \text{ mg RE} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) wykazano w ziele roślin, których zbiór przeprowadzono w fazie wzrostu wegetatywnego, następnie zawartość flawonoidów wzrastała, osiągając największą koncentrację w ziele podczas fazy pełnego kwitnienia roślin ($431,4 \text{ mg RE} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$).

W wyniku analizy jakościowej związków z grupy flawonoidów w badanym materiale zidentyfikowano: izokwercetynę, katechinę i rutynę, która występowała we wszystkich gatunkach mięty, kwercetynę (w *M. × piperita* L. var. *citrata*, *M. × rotundifolia* L. i *M. crispa* L.), D-glikozyd kwercetyny i kemferolu (w *M. × piperita* L. var. *citrata* i *M. crispa* L.), myricetynę (w *M. × piperita* L. var. *citrata*, *M. crispa* L. i *M. spicata* L.), luteolinę (w *M. crispa* L. i *M. spicata* L.) oraz apigeninę (w *M. × piperita* L. var. *citrata*, *M. crispa* L. i *M. spicata* L.). Uzyskane wyniki znajdują potwierdzenie z badaniami Bimakr i in. [2009] i Mandana i in. [2011] w odniesieniu do *M. spicata* L.

Średnia zawartość większości wykrytych substancji (rutyna, myricetyna, kwercetyna, kemferol, D-glukozyd kemferolu i kwercetyna) była większa w surowcach zbieranych w fazie pełnego kwitnienia roślin. Natomiast surowce pozyskiwane podczas wzrostu wegetatywnego zarówno przed kwitnieniem, jak i po kwitnieniu roślin zawierały średnio więcej D-glukozydu kwercetyny i luteoliny.

Stwierdzono, że zawartość flawonoidów w surowcach badanych gatunków mięty była stabilna w poszczególnych latach badań, co potwierdziła brak istotnych różnic pomiędzy uzyskanymi wynikami.

PODSUMOWANIE

Przedstawione powyżej wyniki badań, opisanych w monografii zgłoszonej do postępowania habilitacyjnego, stanowią pierwsze tak kompleksowe opracowanie w zakresie doskonalenia technologii uprawy mięty oraz oceny fitochemicznej surowca czterech gatunków mięty z uwzględnieniem zmienności sezonowej metabolitów wtórnych w wieloletnim systemie użytkowania plantacji.

Do głównych osiągnięć prezentowanych badań własnych należą:

1. Wykazanie zróżnicowania gatunkowego pod względem cech biometrycznych.
M. × rotundifolia L. przewyższa wysokością rośliny innych gatunków. *M. × piperita* L. var. *citrata* była najlepsza pod względem świeżej i suchej masy liści zarówno z rośliny, jak i jednostki powierzchni w trzyletnim systemie uprawy. *M. crispa* L. odznacza się najkrótszymi międzywęzłami, co odzwierciedla największy plon świeżej i po wysuszeniu masy ziela. *M. spicata* L. charakteryzowała się najmniejszą wysokością roślin i udziałem liści w ziele.
2. *M. × piperita* L. var. *citrata* i *M. crispa* L. okazały się z punktu widzenia produkcji bardziej przydatne do uprawy w warunkach wschodniej Polski.
3. Surowiec *M. × piperita* L. var. *citrata* jest najzasobniejszy w olejek eteryczny i fenolokwasy. Najwięcej flawonoidów zawiera *M. crispa* L., zaś garbników – *M. × rotundifolia* L., co klasyfikuje te gatunki do upraw kreowanych zapotrzebowaniem przemysłu.
4. Wskazanie, że do zakładania plantacji z równym powodzeniem można sadzić sadzonki pędowe i rozłogowe, jednak w dalszych latach uprawy bardziej wydajne okazują się sadzonki pędowe.
5. Udowodnienie, że rozłogi pozyskane z mateczników jednorocznych są jakościowo lepszym materiałem rozmnożeniowym mięty, za czym przemawia przede wszystkim wielkość i jakość plonu.
6. Udowodnienie, że na plantacjach mięty zakładanych z jesienno i wiosennego sadzenia rozłogów w celu pozyskania surowca o wysokiej wydajności olejku zalecanym optymalnym terminem zbioru surowca jest faza tuż przed kwitnieniem. Przyspieszenie zbioru o kolejne dwa tygodnie powinno być zalecane w uprawie z sadzonek.
7. Wskazanie, że zbiór ziela *M. × piperita* L. var. *citrata*, *M. × rotundifolia* L. i *M. spicata* L. powinien być przeprowadzany w fazie wzrostu wegetatywnego przed kwitnieniem i po kwitnieniu roślin, w celu pozyskania surowca o najwyższej

zawartości kwasu rozmarynowego, uznawanego za najbardziej istotny roślinny składnik o działaniu prozdrowotnym.

8. Rośliny mięty w trzecim roku wegetacji odznaczają się wyższym stężeniem kwasów fenolowych i flawonoidów, zaś w drugim większą zawartością olejku eterycznego, co przemawia za koniecznością modyfikacji oceny wartości handlowej surowca mięty.

PIŚMIENNICTWO

- Brahmi F., Madani K., Stévigny C., Chibane M., Duez P., 2014. *Algerian mint species: HPTLC quantitative determination of rosmarinic acid and in vitro inhibitory effects on linoleic acid peroxidation*. J. Coast. Life. Med. 2 (12), 986–992.
- Cal K., Kryzyzaniak M., 2006. *Stratum corneum absorption and retention of linalool and terpinen-4-ol applied as gel or oily solution in humans*. J. Dermatological. 5 (42), 265–267.
- Chauhan R.K., Anwar M., Chand S., Patra D.D., 2012. *Influence of different dates of planting on growth, herb, oil yield and quality of essential oil of menthol mint (Mentha arvensis) in the North Indian Plain*. Arch. Agron. Soil Sci. 58 (2), 223–232.
- El-Wahab A., Mohamed A., 2009. *Evaluation of spearmint (Mentha spicata L) productivity grown in different locations under upper Egypt conditions*. Res. J. Agri. Biol. Sc., 5 (3), 250–254.
- Fecka I., Mazur A., Cisowski W., 2002. *Kwas rozmarynowy, ważny składnik terapeutyczny niektórych surowców roślinnych*. Post. Fitoter. 8 (1–2), 20–25.
- Garlet T.M.B., Paulus D., Flores R., 2013. *Production and chemical composition of Mentha x piperita var. citrata (Ehrh.) Briq. essential oil regarding to different potassium concentrations in the hydroponic solution*. J. Biotec. Biodivers. 4 (3), 200–206.
- Georgiev E., Stoyanova A., 2006. *Peppermint oil*. In: *A guide for the specialist in aromatic industry*. Dimitrov D. (ed), UFT Academic Publishing House, Plovdiv, 219–232.
- Gómez-Baggethun E., Reyes-García V., 2013. *Reinterpreting change in traditional ecological knowledge*. Hum. Ecol. 41(4): 643–647.
- Hussain A.I., Anwar F., Nigam P.S., Ashraf M., Gilani A.H., 2010a. *Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four Mentha species*. J. Sci. Food Agr. 90 (11), 1827–1836.
- Hussain A.I., Anwar F., Shahid M., Ashraf M., Przybylski R., 2010b. *Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of spearmint (Mentha spicata L.) from Pakistan*. J. Essent. Oil Res. 22, 78–84.
- Kassahun B.M., Teixeira Da Silva J.A., Mekonnen S. A., 2011. *Agronomic characters, leaf and essential oil yield of peppermint (Mentha piperita L.) as influenced by harvesting age and row spacing*. Med. Aromat. Plant Sci. Biotechnol. 5 (1), 49–53.
- Khadraoui A., Hachama K., Khodja M., KhelifaA., Mehdaoui R., Harti H., Abid S., Najda B.A., Chahboun N., 2015. *Extraction study and the antibacterial activity of phenol and flavonoid contents in Mentha pulegium L. from Algeria*. J. Mater. Environ. Sci. 6 (9), 2501–2508.
- Kumar A., Patro H., Kewalanand K., 2010. *Effect of zinc and sulphur on herb, oil yield and quality of menthol mint (Mentha arvensis L.) var. Kosi*. J. Chem. Pharm. Res. 2 (4), 42–648.
- Lawrence B.M., 2007. *Oil composition of other Mentha species and hybrids*. W: *Mint: The Genus Mentha. Medicinal and aromatic plants -Industrial profiles*. Edit. B.M. Lawrence, Boca Raton, Florida: CRC Press, Taylor & Francis Group, 1–547.

- Leonti M., Casu L., 2013. *Traditional medicines and globalization: current and future perspectives in ethnopharmacology*. Front. Pharmacol. 25, 4–92.
- Letizia C.S., Cocchiara J., Lalko J., Api A.M., 2003a. *Fragrance material review on linalol*. Food Chem. Toxicology. 41 (7), 943–964.
- Letizia C.S., Cocchiara J., Lalko J., Api A.M., 2003b. *Fragrance material review on linalyl acetate*. Food Chem. Toxicology. 41 (7), 965–976.
- Lis A., Góra J., 2000. *Zmienność składu chemicznego olejków eterycznych*. Aromaterapia 1, 28–34.
- Lorenzo D., Paz D., Dellacassa E., Davies P., Villa R., Canigüeral S., 2002. *Essential oils of Mentha pulegium and Mentha rotundifolia from Uruguay*. Braz. Arch. Biol. Techn. 45, 519–524.
- Ludwiczuk A., Kiełtyka-Dadasiewicz A., Sawicki R., Golus J., Ginalska G., 2016. *Essential oils of some Mentha species and cultivars, their chemistry and bacteriostatic activity*. Natural Product Communications, 11(7), 1015–1018.
- Mekonnen S.A., Kassahun, B.M., 2011. *Effect of inter row spacing and harvesting time on growth and essential oil yield of Spearmint (Mentha spicata L.)*. Int. J. Sust. Agric., 3 (2), 39–43.
- Moldovan R.I., Oprean R. 2014. *Comparative study of essential oil from two species of mint grown in Orăștie*. Farmacia 62 (1), 169–182.
- Nair B., 2001. *Final report on the safety assessment of Mentha piperita (Peppermint) Oil, Mentha piperita (Peppermint) leaf extract, Mentha piperita (Peppermint) leaf, and Mentha piperita (Peppermint) leaf water*. Int. J Toxicol., 20, 61-73.
- National Toxicology Program, 2011. *Toxicology and carcinogenesis studies of pulegone (CAS No. 89-82- 7) in F344/N rats and B6C3F1 mice (Gavage Studies)*. Technical Report Series No. 563. NIH Publication No. 11- 5905. U.S. Department of Health and Human Services, NTP, Research Triangle Park, NC.
- Németh É., Szabó K., Raihárt P., Popp U., 2012. *Die wirkung der caliumversorgung auf die production und drogenqualität von Minzen*. Z Arznei – Gevurzpfla. 17 (4), 158–164.
- Padalia R.C., Verma R.S., Chauhan A., Goswami P., 2015. *Quality evaluation of elite mint cultivars in two cropping seasons in subtropical conditions of Uttarakhand, India*. J. Essnt. Oil Res. 27, (1), 45–51.
- Rohloff J., Dragland S., Mordal R., Iversen T.H., 2005. *Effect of harvest time and drying method on biomass production, essential oil yield, and quality of peppermint (Mentha x piperita L.)*. J. Agric. Food Chem. 53, 4143–4148.
- Spirling L.I., Daniels I.R., 2001. *Botanical Perspectives on health peppermint: more than just an after- dinner mint*. J. R. Soc. Health. 121, 62–63.
- Thorup I., Wurtzen G., Carstensen J., Olsen P., 1983. *Short term toxicity study in rats dosed with pulegone and menthol*. Toxicol. Lett., 19, 207-210.
- Węglarz R., Załęcki R., 1985. *Poszukiwanie zależności pomiędzy terminem zbioru ziela mięty pieprzowej (Mentha piperita L.) a plonem i jakością surowca*. Herba Pol. 31 (4), 175–180.
- Zawiślak G., 2015. *Yield and chemical composition of essential oil from Salvia officinalis L. in third year of cultivation*. Herba Pol. 60 (3), 13–22.
- Zeinali H., Arzani A., Razmjo K., 2004. *Morphological and essential oil content diversity of Iranian mints (Mentha Spp)*. Iranian J. Sci. Technol. Transaction A, 28 (A1), 1–9.
- Zhao Y., Du Q., 2007. *Separation of solanesol in tobacco leaves extract by slow rotary counter-current chromatography using a novel non-aqueous two-phase solvent system*. J. Chromatogr. A, 1151, 193-196
- Zheljazzkov V., Topalov V., 1997. *Effect of planting time and density on yields from rooted mint cuttings*. J. Herbs Spices. Med. Plants, 4, 15–24.

Zheljazkov V.D., Cantrell C.L., Astatkie T., Hristov A. 2010b. *Yield, content, and composition of peppermint and spearmints as a function of harvesting time and drying*. J. Agric. Food Chem. 58, 11400–11407.

5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

5.1. Osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora

Profil moich zainteresowań badawczych rozwija się na dwóch płaszczyznach obejmując zagadnienia zarówno z zakresu agrotechniki i nowoczesnych technologii w uprawie warzyw, roślin przyprawowych oraz leczniczych, jak i analizy fitochemicznej. W okresie zatrudnienia w Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie prowadzone przeze mnie badania związane są z następującymi zagadnieniami:

- ocena wartości sensorycznej oraz składu chemicznego wybranych warzyw, przypraw i ziół w zależności od sposobu ich przetwarzania, z uwzględnieniem przydatności surowca dla przemysłu przetwórczego;
- doskonalenie technologii uprawy czosnku ozimego z wykorzystaniem cebulek powietrznych jako materiału rozmnożeniowego;
- ocena aktywności przeciwdrobnoustrojowej i przeciwgrzybiczej ekstraktów furanokumarynowych i olejków eterycznych, otrzymanych z surowców olejkowych;
- charakterystyka związków fenolowych jako fizjologicznie czynnych składników żywności pochodzenia roślinnego tj. warzyw, ziół i przypraw;
- stabilizacja surowców zielarskich (parametry i sposoby suszenia), ze szczególnym uwzględnieniem zachowania najlepszych cech jakościowych surowca (zawartość substancji aktywnych);
- efektywność działania ekstraktów roślinnych jako naturalnych konserwantów (stabilność utleniająca i mikrobiologiczna) w celu poprawy jakości i trwałości żywności;
- potencjału profilaktycznego i leczniczego ekstraktów roślinnych w procesie angiogenezy nowotworowej i alternatywnych środków przeciwbólowych.

Pracę naukową rozpoczęłam jeszcze na studiach aktywnie uczestnicząc w badaniach prowadzonych w Instytucie Szczegółowej Uprawy Roślin (obecnie Katedra Roślin Przemysłowych i Leczniczych) Akademii Rolniczej (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy) w Lublinie. Moje ówczesne zainteresowania koncentrowały się wokół agrotechnicznych aspektów uprawy modyfikujących jakość surowca roślin leczniczych. Badania z tego zakresu kontynuowałam w mojej pracy magisterskiej zatytułowanej "Wpływ wernalizacji nasion

na wzrost i rozwój wiesiołka dziwnego (*Oenothera paradoxa* Hudziok)", którą obroniłam z wyróżnieniem w 1996 r. Wyniki tej pracy prezentowane były podczas III Symposium nt "Olej z nasion wiesiołka i inne oleje zawierające kwasy n-6 lub n-3 w profilaktyce i terapii" (załącznik IV, publikacja **D1**). Po uzyskaniu tytułu magistra w zakresie rolnictwa, specjalizacja – rośliny specjalne i lecznicze zostałam przyjęta w tejże Katedrze w charakterze asystenta stażysty na staż naukowo-dydaktyczny, podczas którego pod kierunkiem Pana Prof. dr hab. Stanisława Berbecia pogłębiałam wiedzę oraz doskonaliłam warsztat naukowy w zakresie badań agrotechnicznych, aktywnie uczestnicząc w projektach naukowych i badawczych. Jednocześnie pod kierunkiem Pani mgr Marty Benicewicz nabywałam umiejętności z zakresu procedur analitycznych służących do określania zawartości podstawowych związków organicznych obecnych w matrycach roślinnych. Nabyte w tym okresie doświadczenie niewątpliwie ukierunkowało moje zainteresowania naukowe, które rozwijając realizowałam w kolejnych latach mojej kariery zawodowej.

W kwietniu 1998 roku podjęłam pracę w Katedrze Warzywnictwa i Roślin Leczniczych Akademii Rolniczej (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy) w Lublinie na etacie specjalisty naukowo-technicznego, obejmując prowadzenie pracowni fitochemicznej. W tym okresie brałam udział w cyklu prac badawczych prowadzonych przez Pana Prof. dr hab. Jana Dyducha, dotyczących doskonalenia technologii uprawy roślin z rodziny *Apiaceae* (*Umbelliferae*) z przeznaczeniem do przetwórstwa (załącznik IV, publikacja **B4, D8**). Praca ta pozwoliła mi na zapoznanie się z najnowszymi trendami w uprawie polowej roślin przyprawowych i warzywnych, ze szczególnym uwzględnieniem ich wartości biologicznej. W tym czasie odbyłam także kurs I stopnia z zakresu chromatografii cieczowej organizowany przez Katedrę Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Politechniki Gdańskiej.

Od początku mojej pracy zawodowej zainteresowania moje skupiały się na analizie składu chemicznego, zarówno pod względem jakościowym, jak i ilościowym, surowców roślinnych, które realizowałam w pracy doktorskiej. Jej tematyka obejmowała plonowanie i analizę fitochemiczną w różnych fazach wzrostu części nadziemnych roślin selernaciowego (*Apium graveolens* L. var. *dulce* Mill. / Pers.) uprawianego w warunkach klimatycznych Lubelszczyzny. Badaniami objęto związki fenolowe (fenolokwasy, flawonoidy, garbniki) i kumaryny. Celem podjętych badań był również dobór warunków ekstrakcji i rozdziału chromatograficznego wybranych metabolitów wtórnych z grupy polifenoli i kumaryn. Wyniki moich badań były na bieżąco prezentowane w formie referatów ustnych, na konferencjach międzynarodowych i w formie publikacji w *Journal of Planar Chromatography – Modern TLC* (załącznik IV, publikacja **A1** oraz **B5, B6, B14, B17 – B19, B22, D2, D3, D5, D9**).

Swoją pracę doktorską, której promotorem był Pan Prof. dr hab. Jan Dyduch, obroniłam z wyróżnieniem w październiku 2004 roku, natomiast w 2006 roku praca ta została uhonorowana przez Kapitułę Nagrody im. Emila Chroboczka Pierwszą Krajową Naukową Nagrodą w Zakresie Warzywnictwa.

W ramach prac badawczych rozwijałam problematykę dotyczącą sposobów, otrzymywania i analizy olejków eterycznych występujących w roślinach leczniczych oraz surowcach przyprawowych. A następnie prowadziłam szeroko zakrojone interdyscyplinarne badania dotyczące analizy chemicznej surowców olejkowych wykazujących działanie przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze, we współpracy z Katedrą i Zakładem Farmakognozji Akademii Medycznej (obecnie Uniwersytet Medyczny) w Lublinie i Instytutem Roślin i Przetworów Zielarskich w Poznaniu. Wyniki tych badań przedstawiłam na konferencjach o zasięgu krajowym i międzynarodowym, jak również opublikowałam w międzynarodowych czasopismach: *Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*, *Herba Polonica*, *Annales UMCS sec. EEE*, *Postępy Fitoterapii*, *Umbelliferae Improvement Newsletter*, *Folia Horticulturae*, *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities* (załącznik IV, publikacja **A1** oraz **B5, B6-B12, B17- B20, B23-B25, B27, D7**)

Wraz Panem Prof. dr hab. Janem Dyduchem prowadziłam badania mające na celu doskonalenie technologii uprawy czosnku ozimego z sadzenia cebulek powietrznych. Podsumowaniem tego cyklu badań były liczne publikacje (załącznik IV, publikacja **B2, B3, B11, B12, B16, B21, B26**), w których wraz ze współautorem stwierdziłam m.in. istotne zależności między liczbą cebulek powietrznych w baldachach macierzystych a kształtowaniem się cech morfologicznych wyrosłych z nich roślin, wielkości i jakości plonu. W wyniku oceny przydatności cebulek powietrznych jako materiału reprodukcyjnego, wykazano, że stanowią one tańszy i pełnowartościowy materiał rozmnożeniowy.

Równolegle uczestniczyłam w badaniach kierowanych przez Panią Prof. dr hab. Halinę Buczkowską, dotyczących wpływu zabiegów agrotechnicznych na kształtowanie niektórych składników chemicznych w owocach wybranych linii i odmian papryki ostrej (załącznik IV, publikacja **B1, B7-B10, B15, D6**).

W kolejnych latach pogłębiałam wiedzę na temat metod chromatograficznych, z zakresu analizy fitochemicznej uczestnicząc w kursach i szkoleniach, doskonalić swój warsztat badawczy, czego wymiernym efektem są opracowane przeze mnie metody izolacji fenolokwasów (załącznik IV, publikacja **C3, C7, C15, C18-C21**), flawonoidów (załącznik IV, publikacja **A7, A9, A10, C16, C25**), kapsaicynoidów (załącznik IV, publikacja **A4** oraz **B7-B8**), kumaryn (załącznik IV, publikacja **A8, C16, C18-C21**) i enzymów roślinnych (załącznik IV, publikacja **C57**). Opracowane metody wdrażałam konsekwentnie w praktyce,

poszerzając asortyment wykonywanych analiz materiału roślinnego w pracowni fitochemicznej Katedry. W następstwie stały się one przyczynkiem do stworzenia Laboratorium Jakości Warzyw i Surowców Zielarskich, co nastąpiło w 2008 roku.

Przed uzyskaniem stopnia doktora opublikowałam 1 pracę pełnotekstową z IF, 27 oryginalnych artykułów naukowych bez IF i 1 pracę popularno-naukową. Łączna wartości IF= 0,523 i punktacja KBN/MNiSW= 62. Wyniki badań prezentowałam w formie 16 doniesień zjazdowych podczas konferencji krajowych (5) i międzynarodowych (11) oraz wystąpień ustnych na konferencjach krajowych (5) i międzynarodowych (3).

5.2. Osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia doktora

Po uzyskaniu stopnia doktora moja działalność naukowo-badawcza koncentruje się w zakresie pięciu głównych obszarów:

- analizy fitochemicznej wybranych grup metabolitów wtórnych (związki lotne, kwasy fenolowe, flawonoidy) kreujące aktywność antyoksydacyjną surowców i ekstraktów roślinnych;
- stabilizacji surowców zielarskich (parametry i sposoby suszenia) ze szczególnym uwzględnieniem zachowania najlepszych cech jakościowych surowca (zawartość substancji aktywnych);
- efektywności działania ekstraktów roślinnych, jako naturalnych konserwantów (stabilność utleniająca i mikrobiologiczna) w celu poprawy jakości i trwałości żywności;
- identyfikacji gatunków roślin na podstawie sekwencji nukleotydowych zawartości specyficznych metabolitów wtórnych w roślinach leczniczych;
- potencjału profilaktycznego i leczniczego ekstraktów roślinnych w procesie angiogenezy nowotworowej i alternatywnych środków przeciwbólowych.

W prowadzonych badaniach kieruję się zrównoważonym rozwojem pomiędzy badaniami podstawowymi i badaniami stosowanymi. Te obszary badawcze przenikają się wzajemnie, a ich efektami wymiernymi są praktyczne rozwiązania.

Obszerna część mojej pracy naukowej dotyczy analizy fitochemicznej surowców roślinnych. W czasie doskonalenia technik analitycznych ustaliłam profil kwasów fenolowych ekstraktów otrzymanych z liści i pąków ośmiu uprawnych odmian leszczyny. W 2005 roku w ramach współpracy naukowej z dr hab. Magdaleną Gantner z Katedry Entomologii UP w Lublinie, zapoczątkowałam cykl badań których celem było wyjaśnienie przyczyn zróżnicowanej odporności odmianowej rodzaju *Corylus* L., warunkowanej

zawartością metabolitów wtórnych (ze szczególnym uwzględnieniem fenolokwasów i olejku eterycznego). Badania w tym zakresie realizowane były w ramach projektu badawczego nr NN 305 298940 finansowanego ze środków KBN, w którym uczestniczyłam jako główny wykonawca. Wyniki tych badań zostały opublikowane (załącznik IV, publikacja **A3, A5** oraz **C9, C35, C40**) i były prezentowane na konferencjach naukowych (załącznik IV, publikacja **E15, E28, E29**). W kolejnych latach zespół przeprowadził analogiczne badania, poszukując źródeł atrakcyjności roślin odmian borówki wysokiej poszerzając gamę substancji fenolowych o flawonoidy, garbniki i antocyjany, co było możliwe, ponieważ badania wsparte zostały dofinansowaniem w ramach projektu badawczego nr NN 357 209140 finansowanego ze środków KBN (załącznik IV, publikacja **C44, E34, E35**).

Opracowaną, w toku badań nad roślinami z rodziny *Apiaceae* metodę izolacji kwasów fenolowych wykorzystałam w badaniach prowadzonych we współpracy z Katedrą i Zakładem Farmakognozji Akademii Medycznej w Lublinie oraz z Katedrą Roślin Przemysłowych i Leczniczych Akademii Rolniczej w Lublinie do identyfikacji i określenia zawartości fenolokwasów w matrycy ostropestu plamistego, lubczyku ogrodowego, czarciego pazura, pszczelnika mołdawskiego i mniszka pospolitego. Wyniki przeprowadzonych badań zostały opublikowane w pracach (załącznik IV, publikacja **C7, C18-C21, C24**), oraz były prezentowane na konferencjach naukowych (załącznik IV, publikacja **E6, E9, E14**).

Równolegle podjęłam współpracę z dr. Saadatian z Katedry Ogrodnictwa Uniwersytetu Guilan w Iranie i dr Jasour z Aarhus University w Danii, której tematyka badawcza dotyczy oceny metod stabilizacji surowców (suszenie mikrofalowe, w suszarni w 50°C i 70°C, na słońcu, w cieniu) na działanie antyoksydacyjne i zawartość antyoksydantów w owocach dwóch gatunków głogu *Crataegus azarolus* L. i *Crataegus orientalis* L. Prace z tego zakresu są kontynuowane z innymi gatunkami roślin tj. *Rosa rugosa* Thunb., *Rosa canina* L.

Wstępne badania wykazały, że spośród testowanych sposobów, aktywność antyoksydacyjna owoców wzrosła, natomiast całkowita zawartość fenoli zmniejszyła się wraz ze wzrostem temperatury podczas suszenia w suszarce, zaś w przypadku pozostałych metod (mikrofale, na słońcu, w cieniu) wzrastała. Ekstrakty z owoców wysuszonych mikrofalowo wykazywały największą aktywność przeciwutleniającą, która była istotnie skorelowana z wysoką zawartością związków fenolowych. Suszenie w mikrofali okazało się najlepszą metodą do zachowania bioaktywnych związków chemicznych obecnych w owocach głogu (załącznik IV, publikacja **A12**).

Kolejny aspekt prowadzonych badań jest związany z moimi zainteresowaniami koncentrującymi się wokół naturalnych produktów, mających tradycyjne wskazania i potencjał przeciwbólowy. Interdyscyplinarne badania prowadzone są we współpracy

z naukowcami z czterech ośrodków uniwersyteckich (Polski, Włoch, Pakistanu, Omanu), a pierwsze rezultaty zostały już opublikowane (załącznik IV, publikacja **A13**).

Efektom innej współpracy wielośrodkowej jest określenie wpływu potencjału profilaktycznego i leczniczego ekstraktów roślinnych (głównie *Trigonella foenum graecum*) w procesie angiogenezy nowotworowej i obecnie przechodzą w etap badań klinicznych (załącznik IV, publikacja **A14, A17**).

Inspirowana badaniami Pana prof. dr hab. Jana Dyducha, kontynuowałam prace mające na celu wykorzystanie liści czosnku, podobnie jak szczypioru u innych warzyw cebulowych, do bezpośredniej konsumpcji. Wieloletnie badania z tego zakresu w różnych warunkach uprawy (pole, tunel, szklarnia, osłony bezpośrednie krótkotrwałe) były również tematem pracy doktorskiej, której byłam konsultantem w zakresie fitochemicznej oceny surowca z przeznaczeniem na świeże spożycie i do przetwórstwa.

Badania ekotypów czosnku uprawianych lokalnie we wschodniej Polsce prowadziłam wraz z Panem prof. dr hab. Janem Dyduchem, w aspekcie oceny ich cech morfologicznych i wartości biologicznej z uwzględnieniem składników nieodżywczych.

Jednym z nurtów mojej pracy były badania dotyczące uprawianego niekomercyjnie na Lubelszczyźnie nieudomowionego *Allium ampeloprasum*, który pod względem morfologicznym posiada cechy zarówno czosnku jak i pora. We współpracy naukowej z Zakładem Anatomii i Cytologii Roślin UMCS oraz z Instytutem Genetyki Roślin i Patogenów PAN w Poznaniu, potwierdzono, że *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L), również pod względem cech filogenetycznych związany jest zarówno z *A. ampeloprasum* var. *porrum* (por) i z *A. sativum* (czosnek). Badania porównawcze poziomu substancji czynnych u obu gatunków, umożliwiły określenie walorów spożywczych oraz farmakologicznych *A. ampeloprasum* var. *ampeloprasum* GHG-L, który charakteryzuje się znacznie łagodniejszym aromatem i smakiem w porównaniu do *A. sativum*, uprawianego w tych samych warunkach. W oparciu o dane z przeprowadzonych badań molekularnych i biochemicznych dokonano zgłoszenia w bazie danych GenBank - KT809295.1 oraz GenBank - KT809296.1, dokumentując po raz pierwszy na świecie, iż *Allium ampeloprasum* var. *ampeloprasum* (GHG-L) stanowi odrębny gatunek rodziny *Alliaceae*, należący do rodzaju czosnek (*Allium*), co dostarczyło brakujących dotychczas wzorców DNA i danych z zakresu składu chemicznego tego gatunku (załącznik IV, publikacja **A11, A18**).

Mój dorobek naukowy po uzyskaniu stopnia doktora (z uwzględnieniem osiągnięcia zgłoszonego do oceny w postępowaniu habilitacyjnym) obejmuje: 80 publikacji o łącznym impact factor = 20,326 i punktacji wg MNiSW = 640,5 oraz 33 doniesień zjazdowych,

38 referatów i 59 posterów prezentowanych przeze mnie na konferencjach krajowych i międzynarodowych (Załącznik IV).

6. AUTORSTWO LUB WSPÓŁAUTORSTWO PRAC NAUKOWYCH LUB INNYCH PRAC TWÓRCZYCH

Mój dorobek naukowo-badawczy obejmuje:

- 16 prac oryginalnych i 2 prace przeglądowe posiadające Impact Factor
- 86 prac oryginalnych i 3 prace przeglądowe opublikowane w czasopismach nie posiadających IF
- 2 prace pełnotekstowe opublikowane w wydawnictwach pokonferencyjnych
- 8 prac popularno-naukowych
- 13 rozdziałów w książkach o zasięgu krajowym
- 84 prezentacji posterowych na konferencjach międzynarodowych i krajowych
- 43 wygłoszone referaty: 24 na konferencjach międzynarodowych, 19 na konferencjach krajowych.

Tab. 1. Zestawienie całkowitego dorobku naukowego, z uwzględnieniem osiągnięcia naukowego będącym podstawą ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego

Kategoria / czasopismo	Liczba publikacji	IF	Punkty wg MNiSW
Artykuły oryginalne wyróżnione w Journal Citation Report (lista A)			
<i>J. Planar Chromatogr. - Modern TLC</i>	1	0,555	10
<i>European Journal of Entomology</i>	1	1,061	25
<i>Acta Sci. Pol. Hort. Cultus</i>	3	0,691 0,522 0,583	60
<i>Arthropod-Plant Interactions</i>	1	1,179	30
<i>Ann. Agric. Environ. Med.</i>	1	1,126	10
<i>Chemija</i>	1	0,472	20
<i>Food Sci. Technol. Res.</i>	1	0,357	15
<i>Turk. J Agric. For.</i>	1	1,311	25
<i>J. Anal. Methods Chem.</i>	1	1,369	20
<i>Sci. Hortic.-Amsterdam</i>	1	1,365	35
<i>Evid. Based. Complement. Alternat. Med.</i>	1	1,931	30
<i>Tumor Biology</i>	1	2,926	25
<i>Hort. Sci. (Prague)</i>	1	0,436	25
<i>J. Food Prop.</i>	1	1,586	25
<i>Biomed. Pharm.</i>	1	2,326	25
<i>J. Appl. Bot. Food Qual.</i>	1	1,085	20
Łącznie	18	20,881	400

Artykuły w recenzowanych czasopismach krajowych (lista B)			
<i>Acta Agrobotanika</i>	2	-	12
<i>Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus</i>	1	-	4
<i>Annales UMCS, sec. EEE</i>	10	-	15
<i>Annales UMCS, sec. DDD</i>	1	-	6
<i>Aromaterapia</i>	3	-	2
<i>Allium Improv. Newsletter, Madison USA</i>	2	-	4
<i>Allium and Umbelliferae Improv. Newsletter, Madison USA</i>	4	-	8
<i>Episteme</i>	14	-	65
<i>EJPAU</i>	7	-	40
<i>Folia Horticulturae</i>	7	-	15
<i>Folia Univ. Agric. Stetin., Agricultura</i>	2	-	6
<i>Herba Polonica</i>	10	-	58
<i>Postępy Fitoterapii</i>	3	-	2,5
<i>Progress in Plant Protection/ Postępy w Ochronie Roślin</i>	3	-	14
<i>Roczniki AR w Poznaniu</i>	1	-	1
<i>Umbelliferae Improv. Newsletter, Madison USA</i>	7	-	4
<i>Veg. Crops Res Bull.</i>	2	-	13
<i>Zesz. Nauk. ATR w Bydgoszczy</i>	2	-	2
<i>Zesz. Nauk. AR w Krakowie</i>	1	-	0
<i>Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu</i>	2	-	6
Łącznie	89	-	277,5
Artykuły w recenzowanych czasopismach zagranicznych spoza listy MNiSW			
<i>Modern Phytomorphology</i>	3	-	0
<i>J. Genetic and Environ. Resources Conservation</i>	1	-	0
<i>J. Materials & Environ. Sci.</i>	1	-	0
Łącznie	5	-	0
Monografie naukowe			
<i>Monografia naukowa - osiągnięcie</i>	1	-	25
Łącznie	1	-	25
Inne opracowania			
<i>Rozdziały w podręcznikach</i>	13	-	0
<i>Artykuły popularnonaukowe</i>	8	-	0
<i>Abstrakty recenzowane w materiałach konferencyjnych</i>	30	-	0
	0	-	0
Łącznie	51	-	0
Łącznie wszystkie publikacje	164	20,881	702,5

7. BIBLIOMETRYCZNE PODSUMOWANIE OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH

Sumaryczny impact factor publikacji naukowych według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania wynosi IF=20,881

Sumaryczna punktacja MNiSW wszystkich opublikowanych prac: 702,5

Liczba cytowań publikacji (bez autocytowań) według bazy Web of Science (WoS): 44

Liczba cytowań publikacji (bez autocytowań) według bazy Scopus: 52

Indeks Hirscha publikacji według bazy Web of Science (WoS): 4

Indeks Hirscha publikacji według bazy Scopus: 4

Agnieszka Najda