



dr Urszula Złotek
Katedra Biochemii i Chemii Żywności
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Załącznik II
Autoreferat w języku polskim

Lublin, 2018

Spis treści

1. Dane osobowe	3
2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe	3
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	3
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.)	3
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego	3
4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia	3
4.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania	6
4.3.1. Wprowadzenie	6
4.3.2. Cel naukowy oraz omówienie wyników badań	9
4.3.3. Podsumowanie	19
5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych	21
6. Zestawienie dorobku	29

1. Dane osobowe

Imię i nazwisko: Urszula Jolanta Złotek

Miejsce pracy: Katedra Biochemii i Chemii Żywności
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Skromna 8, 20-704 Lublin

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

2012 dr nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia – specjalność: biochemia żywności, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii

2004 mgr biologii, specjalność: biochemia, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi

1997 mgr pielęgniarstwa, Akademia Medyczna w Lublinie, Wydział Pielęgniarstwa

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

2013–obecnie adiunkt, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Katedra Biochemii i Chemii Żywności

2004–2013 asystent, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii, Katedra Biochemii i Chemii Żywności

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

Osiągnięcie będące podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego stanowi cykl ośmiu publikacji naukowych ujętych pod wspólnym tytułem:

”Elicytacja jako czynnik kształtujący aktywność biologiczną i przydatność technologiczną wybranych ziół i warzyw liściastych”.

4.2. Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia

Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia:

O1. Szymanowska U., **Złotek U.**, Karaś M., Baraniak B. (2015). Anti-inflammatory and antioxidative activity of anthocyanins from purple basil leaves induced by selected abiotic elicitors. *Food Chemistry*, 172, 71-77.

(MNIŚW= 40 pkt., IF= 4.052*, 4.498; liczba cytowań wg WoS=20, Scopus=22)**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na tworzeniu koncepcji przeprowadzonych badań, wykonaniu części doświadczeń dotyczących uprawy bazylii w kontrolowanych warunkach, oznaczania właściwości przeciwzapalnych (właściwości inhibitujące aktywność lipooksygenazy), oznaczenia zawartości antocyjanów oraz analiza techniką HPLC; interpretacji wyników, udział w napisaniu manuskryptu oraz pełnieniu roli autora korespondencyjnego. Mój udział procentowy szacuję na 65%.

O2. Złotek U., Szymanowska U., Karaś M., Świeca M. (2016). Antioxidative and anti-inflammatory potential of phenolics from purple basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves induced by jasmonic, arachidonic and β -aminobutyric acid elicitation. *International Journal of Food Science & Technology*. 51(1), 163-170.

(MNIŚW= 25 pkt., IF= 1.640*, 1.755; liczba cytowań wg WoS=7, Scopus=9)**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na tworzeniu koncepcji przeprowadzonych badań, wykonaniu części doświadczeń dotyczących uprawy bazylii w kontrolowanych warunkach, oznaczeniu właściwości przeciwzapalnych (właściwości inhibitujące aktywność lipooksygenazy), części oznaczeń dotyczących właściwości antyoksydacyjnych (aktywność przeciwrodnikowa wobec ABTS, siła redukcji), oznaczeniu aktywności enzymów oraz zawartości związków fenolowych; analizie i interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu oraz pełnieniu roli autora korespondencyjnego. Mój udział procentowy szacuję na 75%.

O3. Złotek U., Michalak-Majewska M., Szymanowska U. (2016). Effect of jasmonic acid elicitation on the yield, chemical composition, and antioxidant and anti-inflammatory properties of essential oil of lettuce leaf basil (*Ocimum basilicum* L.). *Food Chemistry*, 213, 1-7.

(MNIŚW= 40 pkt., IF= 4.529*, 4.498; liczba cytowań wg WoS=5, Scopus=5)**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na tworzeniu koncepcji przeprowadzonych badań, wykonaniu części doświadczeń dotyczących uprawy bazylii w kontrolowanych warunkach, oznaczeniu właściwości przeciwzapalnych (właściwości inhibitujące aktywność lipooksygenazy), oznaczeń dotyczących właściwości antyoksydacyjnych; interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu oraz pełnieniu roli autora korespondencyjnego. Mój udział procentowy szacuję na 70%.

O4. Złotek U., Świeca M. (2016). Elicitation effect of *Saccharomyces cerevisiae* yeast extract on main health-promoting compounds and antioxidant and anti-inflammatory potential of butter lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(7), 2565-2572.

(MNIŚW= 35 pkt., IF= 2.463*, 2.43; liczba cytowań wg WoS=6, Scopus=6)**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na tworzeniu koncepcji przeprowadzonych badań, wykonaniu części doświadczeń dotyczących uprawy sałaty w kontrolowanych warunkach, oznaczeniu właściwości przeciwzapalnych (właściwości inhibitujące aktywność lipooksygenazy), oznaczeń dotyczących właściwości antyoksydacyjnych; zawartości związków fenolowych ogółem, zawartości chlorofilu i karotenoidów, analizie i interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu oraz pełnieniu roli autora korespondencyjnego. Mój udział procentowy szacuję na 90%.

O5. Złotek U., Szychowski K.A., Świeca M. (2017). Potential *in vitro* antioxidant, anti-inflammatory, antidiabetic, and anticancer effect of arachidonic acid-elicited basil leaves. *Journal of Functional Foods*, 36, 290–299.

(MNIŚW= 45 pkt., IF= 3.144*, 3.46; liczba cytowań wg WoS=1, Scopus=1)**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na tworzeniu koncepcji przeprowadzonych badań, wykonaniu części doświadczeń dotyczących uprawy bazylii w kontrolowanych warunkach, oznaczeniu właściwości przeciwzapalnych, oznaczeń dotyczących właściwości antyoksydacyjnych; przeciwcukrzycowych, oznaczeniu zawartości i potencjalnej biodostępności związków fenolowych, analizie i interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu oraz pełnieniu roli autora korespondencyjnego. Mój udział procentowy szacuję na 85%.

O6. Złotek U. (2017). Effect of jasmonic acid and yeast extract elicitation on low-molecular antioxidants and antioxidant activity of marjoram (*Origanum majorana* L.). *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 16(4), 371-377.

(MNIŚW= 15 pkt., IF= 0, liczba cytowań wg WoS=0, Scopus=0)

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na tworzeniu koncepcji przeprowadzonych badań, wykonaniu wszystkich doświadczeń, analizie i interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu oraz pełnieniu roli autora korespondencyjnego. Mój udział procentowy szacuję na 100%.

O7. Złotek U. (2017). Effect of abiotic elicitation on the quality and antioxidant potential of lettuce and endive during storage. *Journal of Food Biochemistry*, 41(6), 1-9.

(MNIŚW= 20 pkt., IF= 1.0*, 0,983; liczba cytowań wg WoS=0, Scopus=0)**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na tworzeniu koncepcji przeprowadzonych badań, wykonaniu wszystkich doświadczeń, analizie i interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu oraz pełnieniu roli autora korespondencyjnego. Mój udział procentowy szacuję na 100%.

O8. Złotek U. (2018). Antioxidative, potentially anti-inflammatory, and antidiabetic properties, as well as oxidative stability and acceptability, of cakes supplemented with elicited basil. *Food Chemistry*, 243, 168–174.

(MNiSW= 40 pkt., IF= 4.529*, 4.498; liczba cytowań wg WoS=0, Scopus=0)**

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na tworzeniu koncepcji przeprowadzonych badań, wykonaniu wszystkich doświadczeń, analizie i interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu oraz pełnieniu roli autora korespondencyjnego. Mój udział procentowy szacuję na 100%.

Łącznie:

Impact Factor – 21.357*, 22.122**

Punkty MNiSW – 260

*obowiązujące w roku wydania publikacji (w przypadku publikacji z lat 2017-2018 przyjęto wartość IF wyliczoną dla 2016 roku)

**średni pięcioletni Impact Factor

Oświadczenia współautorów prac, .określające ich indywidualny wkład w powstanie publikacji
– **Załącznik IV**

4.3. Omówienie celu naukowego ww. prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

4.3.1. Wprowadzenie

Żywność pochodzenia roślinnego od dawna polecana jest w diecie człowieka ze względu na bogactwo składników regulujących metabolizm oraz zapobiegających wielu chorobom. Warzywa liściaste takie jak sałata czy endywia spożywane najczęściej w formie nieprzetworzonej są szczególnie cenne ze względu na zawartość witamin, związków mineralnych, błonnika oraz innych substancji bioaktywnych w tym związków fenolowych i barwników roślinnych. Również rośliny zielarskie z uwagi na walory smakowe i prozdrowotne zyskują obecnie coraz większą popularność w diecie człowieka, głównie jako naturalne przyprawy (Hu, 2003; Llorach et al., 2008; Gawlik-Dziki, 2012). W ostatnich latach bioaktywne składniki żywności znajdują się w centrum zainteresowania zarówno naukowców jak i konsumentów. Do związków takich zaliczamy wiele spośród wtórnych metabolitów roślin, które spełniając istotne funkcje w procesach fizjologicznych roślin (np. jako cząsteczki sygnałowe, czy biorące udział w reakcjach obronnych roślin), dostarczane do organizmu człowieka z pożywieniem decydują o właściwościach prozdrowotnych żywności pochodzenia roślinnego. Zagrożenie związane z występowaniem chorób cywilizacyjnych powoduje konieczność poszukiwania metod zwiększania aktywności biologicznej składników żywności. Jednym z kierunków takich działań

są zabiegi zwiększające zawartość związków bioaktywnych o udokumentowanym działaniu prozdrowotnym. Stosowane mogą być na różnych etapach produkcji żywności: poczynając od hodowli roślin czy zwierząt poprzez zmiany procesów technologicznych oraz warunków przechowywania gotowych produktów (Liu, 2013; Schreiner, 2005).

Modyfikowanie warunków uprawy powoduje zmiany poziomu składników prozdrowotnych w roślinach (Złotek i wsp., 2014; Kim i wsp. 2006). W celu zwiększenia poziomu fizjologicznie czynnych składników w roślinach można w ich uprawie stosować takie zabiegi jak elicytacja czy biofortyfikacja. Obecnie jedną ze stosowanych na świecie strategii wpisującej się w nowe kierunki uprawy roślin, a tym samym poprawy jakości i aktywności biologicznej żywności pochodzenia roślinnego jest elicytacja. Proces ten polega na indukcji reakcji obronnych roślin poprzez zastosowanie czynników zwanych elicytorami. Elicytory mogą być abiotyczne (czynniki fizykochemiczne oraz substancje chemiczne i fitohormony pełniące rolę mediatorów) i biotyczne (mikroorganizmy, ekstrakty grzybowe lub bakteryjne) (Edreva, 2004; Angelova i wsp., 2006, Szpitter i Królicka, 2005). Dotychczas w badaniach naukowych najpowszechniej stosowane są różne elicytory w roślinnych hodowlach komórkowych w celu intensyfikacji produkcji metabolitów wtórnych, głównie dla celów farmaceutycznych. Spotykane są także prace dowodzące, iż elicytacja stosowana w czasie wzrostu rośliny może również powodować zwiększoną produkcję związków bioaktywnych (Baenas, 2014; Szpitter i Królicka, 2005).

Wśród bioaktywnych składników roślin, których biosynteza może zostać zwiększona w wyniku indukcji metabolizmu wtórnego wymienić należy witaminy, barwniki roślinne, monoterpény oraz związki fenolowe. Prozdrowotne działanie związków fitochemicznych wynika m.in. z ich właściwości przeciwnowotworowych, przeciwbakteryjnych, przeciwutleniających, przeciwzapalnych, wspomagających system immunologiczny (Schreiner, 2005; Tyagi i wsp., 2010). Grupą roślinnych metabolitów wtórnych o szeroko udokumentowanych właściwościach bioaktywnych są związki fenolowe. Pozytywne działanie polifenoli związane jest przede wszystkim z ich szeroko udokumentowanymi właściwościami przeciwutleniającymi, wynikającymi z ich zdolności do neutralizowania wolnych rodników, przerywania łańcuchowych reakcji autoutlenienia, chelatowania jonów metali przejściowych, inhibitowania aktywności enzymów proutleniających, jak również działania jako czynniki redukujące przekształcające wodoronadtlenki do związków stabilnych (Carocho i Ferreira, 2013; Wang i in., 2011). Zdolności przeciwutleniające związków fenolowych, związane głównie z procesem hamowania peroksydacji lipidów błon komórkowych, czynią tą grupę związków ważną w profilaktyce chorób układu krążenia, a zdolność do inhibitowania aktywności enzymów proutleniających determinuje ich właściwości przeciwzapalne. Jednym z czynników prowadzących do rozwoju nowotworów jest nasilenie utleniających modyfikacji lipidów, białek czy kwasów nukleinowych. Przeciwutleniające działanie związków fenolowych może więc być również jednym z mechanizmów przeciwnowotworowego działania tych związków. Intensywne badania nad

działaniem związków bioaktywnych na organizm człowieka wskazują także na zdolność niektórych związków fenolowych (głównie kwasów fenolowych tj. kwas rozmarynowy, kawowy, chlorogenowy czy galusowy) do inhibowania aktywności enzymów (α -amylazy i α -glukozydazy) katalizujących w organizmie reakcję hydrolizy polisacharydów. Hamowanie aktywności tych enzymów powoduje spowolnienie uwalniania glukozy z polisacharydów wykazując tym samym pozytywny terapeutyczny efekt w przypadku cukrzycy typu 2 (Obok i in., 2015).

Z uwagi na fakt, że abiotyczne lub biotyczne stropy indukują biosyntezę wybranych składników roślin założono, że mogą one kształtować wielokierunkową aktywność biologiczną żywności pochodzenia roślinnego. Żywność roślinną wytworzoną z zastosowaniem elicytacji zaliczyć można do grupy żywności funkcjonalnej, w której zwiększona została zawartość związków bioaktywnych poprzez indukcję metabolizmu wtórnego roślin (Siró et al., 2008).

Działanie elicytorów uruchamia szlaki metaboliczne zaangażowane w odpowiedź roślin na czynniki stresowe. Istotna jest więc intensywność oraz czas działania czynnika indukującego, by nie dopuścić do zahamowania wzrostu lub rozwoju rośliny. Istnieją bowiem prace wskazujące na możliwy negatywny wpływ elicytacji na rozwój wegetatywny roślin (De Román et al., 2011, Faessel et al. 2008), dlatego tak ważny jest dobór warunków przeprowadzenia tego procesu.

W wyniku indukcji reakcji obronnych w roślinach obok zwiększonej biosyntezy niskocząsteczkowych metabolitów wtórnych następuje również indukcja syntezy tzw. białek związanych z patogenezą (ang. PR protein) wśród których wyróżniamy enzymy obronne takie jak oksydaza polifenolowa (PPO) czy peroksydaza (POD) (Raju i wsp., 2008; Mayer, 2006). Enzymy te zaangażowane w metabolizm wtórny roślin mogą jednak kształtować również jakość organoleptyczną produktów roślinnych. Podwyższona aktywność enzymów związanych z metabolizmem związków fenolowych (PPO, POD) w tkankach roślinnych może wiązać się z obniżeniem poziomu polifenoli, jak również z ciemnieniem tkanek (brązowienie enzymatyczne), co może powodować obniżenie jakości konsumenckiej żywności pochodzenia roślinnego (Ioannou i Ghoul, 2013).

Brak jest badań dotyczących przydatności technologicznej surowców roślinnych wytworzonych z zastosowaniem procesu elicytacji. Zwiększona zawartość związków bioaktywnych może determinować wzrost jakości prozdrowotnej warzyw liściastych lub ziół, ale jednocześnie indukcja enzymów metabolizmu wtórnego może obniżać jakość konsumencką oraz przydatność warzyw liściastych gotowych do spożycia po przechowywaniu (tzw. ready-to-use). Z kolei wzbogacanie ziół w cenne związki o działaniu przeciwutleniającym, przeciwmikrobiologicznym (składniki olejku eterycznego, związki fenolowe) może spowodować zwiększenie ich wykorzystania w technologii żywności jako źródła bioaktywnych składników lub jako naturalnych konserwantów.

4.3.2. Cel naukowy oraz omówienie wyników badań

Hipoteza badawcza przeprowadzonych prac zakłada, że odpowiednio dobrane warunki elicytacji ziół i wybranych warzyw liściastych spowodują wzrost zawartości metabolitów wtórnych o ukierunkowanej aktywności biologicznej.

Głównym celem prac stanowiących osiągnięcie naukowe będące podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego zgodnie 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.) jest określenie warunków elicytacji wybranych ziół i warzyw liściastych, wpływu tego procesu na zawartość i aktywność metabolitów wtórnych oraz możliwości wykorzystania otrzymanych produktów w technologii żywności.

Szczegółowe cele pracy obejmują:

1. Określenie wpływu abiotycznej i biotycznej elicytacji na zawartość związków bioaktywnych (związków fenolowych, witaminy C, chlorofilu i karotenów oraz składników olejku eterycznego) w wybranych ziołach i warzywach liściastych.
2. Określenie wpływu abiotycznej i biotycznej elicytacji na wielokierunkową biologiczną aktywność metabolitów wtórnych (aktywność przeciwutleniająca, przeciwzapalna, przeciwcukrzycowa oraz antynowotworowa) wybranych ziół i warzyw liściastych.
3. Ocena jakości elicytowanych ziół i warzyw liściastych oraz ich przydatności w technologii żywności.
4. Analiza wpływu abiotycznej i biotycznej elicytacji na plon wybranych ziół i warzyw liściastych.

Ad 1. Jakość prozdrowotną żywności pochodzenia roślinnego w dużym stopniu determinuje zawartość związków fitochemicznych odgrywających ważną rolę w regulacji procesów metabolicznych w organizmie człowieka. W pracach wchodzących w skład **Osiągnięcia** oceniono wpływ elicytacji abiotycznej przy użyciu elicytorów chemicznych: kwasu arachidonowego (AA), kwasu jasmonowego (JA) i kwasu β -aminomasłowego (BABA) - prace **O1, O2, O3, O5, O6 i O7** oraz elicytacji biotycznej przy użyciu ekstraktów z drożdży (YE) - prace **O4, O6** na zawartość związków fenolowych, witaminy C, chlorofilu i karotenów oraz składników olejku eterycznego w wybranych roślinach jadalnych. W wyżej wymienionych pracach dokonałam analizy wpływu zastosowanych zabiegów elicytacji na rośliny spożywane głównie w stanie nieprzetworzonym, dla których modyfikacje dążące do biofortyfikacji w związki bioaktywne możliwe są jedynie na etapie wzrostu roślin tj. warzywa liściaste

(sałata i endywia – prace **O4, O7**) oraz zioła (bazylia purpurowa, bazylia sałatowa oraz majeranek – prace **O1, O2, O3, O5, O6**). Uprawa badanych roślin prowadzona była w kontrolowanych warunkach fitotronu (SANYO MLR- 350 H). Ich siewki poddano zabiegowi elicytacji jednokrotnie (prace: **O1, O2, O3, O5, O6, O7**) lub kilkakrotnie – praca **O4**. Proces przeprowadzono poprzez oprysk roztworami odpowiednich elicytorów, a następnie po upływie 15 dni od elicytacji materiał roślinny został zebrany i poddany analizie.

W pracy **O1** (wykonanej częściowo w ramach projektu Iuventus Plus pt. "Badanie czynników indukujących syntezę antocyjanów i aktywność enzymów przeciwutleniających w wybranych roślinach i procesu inhibitowania aktywności lipooksygenazy i cyklooksygenazy przez otrzymane produkty" nr **IP2010 042070**, którego byłam wykonawcą) wykazano, że abiotyczna elicytacja z użyciem 10^{-6} M roztworu kwasu arachidonowego, 10^{-6} M jasmonowego i 10^{-2} M β -aminomasłowego powoduje wzrost zawartości antocyjanów w liściach bazylii purpurowej (*Ocimum basilicum* L. cv. *Dark Opal*). Najbardziej efektywny okazał się kwas arachidonowy, po użyciu którego uzyskano ponad dwukrotny wzrost zawartości antocyjanów w liściach badanego zioła. Antocyjany są bardzo cenną frakcją związków polifenolowych z uwagi na liczne działania prozdrowotne. Pozytywny wpływ tej grupy flawonoidów na zdrowie człowieka wynika z ich udokumentowanych właściwości przeciwutleniających, przeciwzapalnych, kardioprotekcyjnych, przeciwnowotworowych, przeciwcukrzycowych. Antocyjanom przypisuje się też funkcję ochronną narządu wzroku, co związane jest ze zwiększeniem stopnia regeneracji rodopsyny (Ghosh i Konishi, 2007; Piątkowska i wsp., 2011; Pallavi i wsp., 2012). Obok antocyjanów ważną grupę związków fenolowych bazylii purpurowej stanowią kwasy fenolowe i pozostałe flawonoidy, których analiza (po oddzieleniu od frakcji antocyjanowej techniką ekstrakcji do fazy stałej –SPE) została przeprowadzona w opracowaniu **O2**. W pracy tej wykazano stymulujący wpływ elicytacji abiotycznej takimi samymi czynnikami jak w opracowaniu **O1** (kwas arachidonowy, jasmonowy i β -aminomasłowy) na zawartość związków fenolowych (frakcja kwasów fenolowych i pozostałych flawonoidów po oddzieleniu od frakcji antocyjanowej). Całkowita zawartość polifenoli oznaczona dla tej frakcji była najwyższa dla bazylii elicytowanej JA (wzrost zawartości o 47%) oraz AA (wzrost o 45%). Analizując (techniką HPLC-DAD) zawartość poszczególnych kwasów fenolowych stwierdzono, że w liściach bazylii purpurowej głównym składnikiem tej frakcji jest kwas rozmarynowy, a elicytacja z użyciem AA i JA powodowała znaczne zwiększenie zawartości tego kwasu (o odpowiednio 50 i 30%). W pracy **O5** badano wpływ elicytacji kwasem arachidonowym na zawartość związków fenolowych w innej odmianie bazylii – bazylii sałatowej (*Ocimum basilicum* L. cv. *Crispum*). Ponieważ aktywność biologiczna związków fenolowych w dużej mierze zależy od czynników determinujących ich biodostępność w pracy **O5** określono wpływ elicytacji na potencjalną biodostępność tej grupy metabolitów w oparciu o model ludzkiego przewodu pokarmowego. Badania tego typu są szczególnie cenne z uwagi na fakt, iż w dostępnej literaturze brakuje informacji na ten temat – wpływ elicytacji na zawartość i aktywność

biologiczną warzyw i ziół określana jest zazwyczaj dla związków wyekstrahowanych odczynnikami chemicznymi, najczęściej etanolem. Wykazano, iż bazylii elicytowana kwasem arachidonowym zawiera potencjalnie biodostępne związki fenolowe – symulowane trawienie *in vitro* spowodowało wzrost zawartości polifenoli w odniesieniu do ekstraktów buforowych zarówno w przypadku bazylii kontrolnej jak i indukowanej. Analiza zawartości poszczególnych kwasów fenolowych z użyciem techniki HPLC-DAD dowiodła również, iż kwas rozmarynowy będący dominującym związkiem w ekstraktach etanolowych, w próbach po symulowanym trawieniu występuje w mniejszym stężeniu, a w największych ilościach występowały kwas chikorowy i kaftarowy. Dodatkowo elicytacja bazylii kwasem arachidonowym spowodowała zwiększenie zawartości potencjalnie biodostępnej frakcji kwasów fenolowych.

Abiotyczna elicytacja kwasem arachidonowym (AA) i kwasem jasmonowym (JA) spowodowała również wzrost całkowitej zawartości związków fenolowych (TPC) w liściach sałaty i endywii, co wykazano w pracy **O7**. W przypadku sałaty pod wpływem 1 μM AA oraz 1 μM i 100 μM JA nastąpił znaczny wzrost całkowitej zawartości związków fenolowych w świeżych liściach tego warzywa, przy czym najefektywniej działał 100 μM JA (ponad 5-krotny wzrost zawartości). Natomiast w przypadku endywii jedynie elicytacja 100 μM AA spowodowała wzrost zawartości tej grupy związków.

W pracy **O4** wykazano, że również ekstrakt drożdży (YE) zastosowany jako elicytor biotyczny powoduje indukcję szlaków metabolizmu rośliny zwiększając produkcję związków biologicznie czynnych, w tym związków fenolowych. Wykazano, że indukcja 1% YE stosowana dwukrotnie (na 3-tygodniowe i 6-tygodniowe siewki) najskuteczniej stymulowała syntezę związków fenolowych w liściach sałaty (wzrost zawartości o 54,8% w odniesieniu do sałaty kontrolnej). Analiza ilościowo-jakościowa kwasów fenolowych elicytowanej sałaty wykazała, że głównym kwasem jest kwas chikorowy, którego poziom jest istotnie wyższy (o 59-90%) po elicytacji zarówno 1% jak i 0,1% YE stosowanej pojedynczo (na 3-tygodniowe siewki) oraz dwukrotnie (na 3-tygodniowe i 6-tygodniowe siewki).

W oparciu o uzyskany dla różnych odmian bazylii oraz sałaty i endywii pozytywny wpływ elicytacji z zastosowaniem elicytorów abiotycznych (w szczególności kwasów arachidonowego i jasmonowego) oraz biotycznego (ekstrakt drożdży), induktory te (JA i YE) zostały wykorzystane w procesie elicytacji majeranku (*Origanum majorana* L.). Wyniki uzyskane w pracy **O6** dowiodły jednak, że w przypadku majeranku elicytacja JA i YE nie powodowała wzrostu zawartości związków fenolowych w tej roślinie. Natomiast po zastosowaniu jako elicytora YE otrzymano w majeranku wzrost zawartości innych związków fitochemicznych - kwasu askorbinowego (odpowiednio 1,8 i 2,5-krotny po zastosowaniu 0,1% i 1% YE w odniesieniu do kontroli) i chlorofilu (wzrost zawartości chlorofilu *a+b* o 44% po elicytacji 0,1% YE). W przypadku elicytacji majeranku 0,01 μM JA

uzyskano również zwiększoną zawartość chlorofilu *a* oraz sumy chlorofili (chlorofil *a* + *b*) – odpowiednio o 21% i 17,5%. Poza tym obydwie zastosowane stężenia kwasu jasmonowego (0,01 μM i 1 μM) powodowały zwiększenie biosyntezy karotenoidów w liściach majeranku (o odpowiednio 56% i 53%). Z kolei elicytacja sałaty 1% i 0,1% ekstraktem drożdży (YE) aplikowanym pojedynczo (na 3-tygodniowe siewki) oraz dwukrotnie (na 3-tygodniowe i 6-tygodniowe siewki) spowodowała około 2-krotne zwiększenie biosyntezy chlorofilu *a* i *b*, co wykazano w pracy **O4**. Powyższego efektu nie uzyskano dla prób po pojedynczej elicytacji 6-tygodniowych siewek. Zawartość karotenoidów i witaminy C w liściach sałaty elicytowanej ekstraktami drożdży była niższa lub nie różniła się od kontroli dla wszystkich wariantów zastosowanej indukcji. Znaczną indukcję biosyntezy kwasu askorbinowego w liściach sałaty i endywi uzyskano natomiast po zastosowaniu abiotycznych elicytorów – AA i JA (**O7**). W przypadku sałaty najefektywniejszy okazał się 100 μM kwas jasmonowy (ponad 41-krotny wzrost zawartości kwasu askorbinowego), podczas gdy w uprawie endywi największy wzrost (16-krotny) zaobserwowano po aplikacji 1 μM kwasu jasmonowego.

W ziołach ważną grupę związków bioaktywnych kształtujących ich właściwości prozdrowotne stanowią składniki olejku eterycznego. Olejki eteryczne, które są mieszaniną ciekłych, lotnych aromatycznych metabolitów wtórnych roślin, wykazują wiele udowodnionych aktywności bioaktywnych takich jak działanie przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze czy przeciwutleniające (Boligon i wsp., 2013). W pracy **O3** dokonano oceny wpływu elicytacji bazylii sałatowej z zastosowaniem kwasu jasmonowego na plon oraz skład olejku eterycznego. Wszystkie zastosowane do indukcji stężenia kwasu jasmonowego (0,01 μM , 1 μM i 100 μM) powodowały istotne zwiększenie plonu olejku, przy czym najefektywniejszy okazał się 100 μM JA (wzrost plonu olejku o 36,8% w odniesieniu do kontroli). Elicytacja bazylii modyfikowała również skład otrzymanego olejku, przy czym na szczególną uwagę zasługuje większa zawartość linalolu, eugenolu i limonenu w oleju otrzymanym z bazylii elicytowanej 100 μM JA.

W omówionych pracach wykazano, że elicytacja abiotyczna z zastosowaniem substancji chemicznych w szczególności kwasem arachidonowym, kwasem jasmonowym oraz biotyczna z użyciem ekstraktów drożdży wpływa pozytywnie na zawartość różnych związków bioaktywnych w ziołach i warzywach liściastych. Jednak należy podkreślić, że efekt procesu obok rodzaju zastosowanego elicytora zależy również od jego stężenia, od gatunku czy odmiany rośliny oraz ilości zastosowanych zabiegów indukcji. Z punktu widzenia żywieniowego ważna jest również uzyskana wysoka potencjalna biodostępność związków fenolowych obecnych w elicytowanej bazylii.

Ad 2. Potencjał prozdrowotny żywności pochodzenia roślinnego jest w dużej mierze uzależniony od zawartości związków o udokumentowanych właściwościach bioaktywnych. Elicytacja ziół i warzyw liściastych zwiększając zawartość wielu składników fitochemicznych w roślinach może również determinować ich wielokierunkową aktywność biologiczną. Dlatego też w pracach stanowiących

Osiągnięcie podjęto próbę oceny wpływu elicytacji abiotycznej i biotycznej na właściwości prozdrowotne wybranych ziół i warzyw liściastych. Jako markery potencjału prozdrowotnego wybrano ich właściwości przeciwutleniające (**O1, O2, O3, O4, O5, O6, O7**), przeciwzapalne (**O1, O2, O3, O4, O5**), przeciwcukrzycowe (**O5**) oraz antynowotworowe (**O5**).

W ocenie aktywności przeciwutleniającej zastosowano różne metody (neutralizowanie wolnych rodników, zdolność do chelatowania jonów żelaza, potencjał redukcyjny, zdolność do inhibitowania aktywności enzymów prooksydacyjnych) z uwagi na fakt, że aktywność antyoksydacyjna poszczególnych składników żywności związana jest z różnorodnymi mechanizmami działania.

Zastosowanie jako elicytorów kwasu arachidonowego (AA), kwasu jasmonowego (JA) i kwasu β -aminomasłowego (BABA) nie spowodowało wzrostu zdolności do neutralizowania wolnych rodników ABTS i DPPH przez antocyjany bazylii purpurowej, a obniżyło zdolność do chelatowania jonów żelaza i potencjał redukcyjny. Natomiast zdolność do inhibitowania aktywności enzymów prooksydacyjnych (lipooksygenazy - LOX i cyklooksygenazy - COX) znacząco wzrosła w wyniku abiotycznej elicytacji (z wyjątkiem inhibitowania aktywności COX przez antocyjany z bazylii elicytowanej kwasem jasmonowym). Najsilniejszymi właściwościami hamującymi aktywność LOX charakteryzowały się antocyjany z bazylii elicytowanej JA, podczas gdy próby elicytowane AA posiadały najwyższą zdolność do inhibitowania aktywności COX, co wykazały wyniki pracy **O1**. Mechanizm działania antyoksydacyjnego związany z hamowaniem aktywności wyżej wymienionych enzymów ściśle wiąże się z działaniem przeciwzapalnym, ponieważ enzymy te uczestniczą w przemianach kwasu arachidonowego i powodują powstawanie odpowiednio prostaglandyn i tromboksanów oraz leukotrienów i lipoksyn – związków z grupy eikozanoidów odpowiedzialnych za regulację procesu zapalnego (García-Lafuente i wsp., 2009).

Z kolei frakcja kwasów fenolowych wyizolowana z bazylii purpurowej elicytowanej kwasem arachidonowym (AA), kwasem jasmonowym (JA) i kwasem β -aminomasłowym (BABA) charakteryzowała się większą aktywnością przeciwrodnikową oznaczoną wobec DPPH i ABTS oraz siłą redukcji jonów żelaza (wzrost o odpowiednio 215%, 41% i 218%), co wykazano w pracy **O2**. Dodatkowo próby elicytowane kwasem jasmonowym wykazywały ponad 3-krotnie zwiększoną aktywność przeciwrodnikową wobec ABTS, a próby traktowane BABA – ponad 3-krotnie zwiększoną zdolność redukcji jonów żelaza. Na podstawie analizy statystycznej wskazującej na dodatnią korelację między zawartością kwasu rozmarynowego a badanymi właściwościami przeciwutleniającymi udowodniono, że związek ten w dużej mierze odpowiada za te właściwości.

Podobnie jak w przypadku antocyjanów również frakcja kwasów fenolowych i pozostałych flawonoidów bazylii purpurowej odznaczała się zdolnościami do inhibitowania aktywności LOX i COX, a zastosowana elicytacja (z wyjątkiem elicytacji JA) znacząco zwiększyła te właściwości – **O2**.

Podobnie elicytacja 0,01 μM i 1 μM JA spowodowała zwiększenie potencjału przeciwutleniającego związków fenolowych liści majeranku (**O6**) ocenianego pomiarem aktywności przeciwrodnikowej wobec DPPH (około dwukrotny wzrost) oraz potencjału redukcyjnego (wzrost o odpowiednio 15,7% i 27 %).

Natomiast w przypadku właściwości antyrodnikowej ekstraktów z liści sałaty i endywii elicytacja 100 μM JA spowodowała największy wzrost zdolności do neutralizowania wolnego rodnika DPPH, podczas gdy w przypadku endywii najskuteczniejszy okazał się 1 μM JA – **O7**.

Zastosowanie w hodowli sałaty elicytora pochodzenia biotycznego (ekstrakt z drożdży - YE) istotnie zwiększyło zdolność do neutralizowania kationorodnika ABTS w przypadku jednokrotnej elicytacji 0,1% i 1% YE 3-tygodniowych siewek oraz dwukrotnej elicytacji (3-tygodniowych i 6-tygodniowych siewek) 1% YE, przy czym ten ostatni proces spowodował największy, bo o 27,5 % wzrost. Z kolei jednokrotna elicytacja 0,1% i 1% YE 3-tygodniowych siewek spowodowała ponad 3-krotne zwiększenie zdolności do neutralizowania rodników DPPH, co wykazały wyniki przedstawione w pracy **O4**. Większość zastosowanych wariantów doświadczenia spowodowało zwiększenie potencjału redukcyjnego ekstraktów z sałaty, natomiast zdolność do chelatowania jonów żelaza została zwiększona (o 44,1%) jedynie poprzez jednokrotną elicytację 0,1% naparem z drożdży.

Wyniki zawarte w tym opracowaniu wskazują, że wpływ ekstraktu z drożdży na właściwości bioaktywne składników sałaty determinuje nie tylko stężenie elicytora, ale również czas i ilość zabiegów elicytacji.

Analiza statystyczna wykazała pozytywną i istotną statystycznie korelację pomiędzy zawartością kwasu chikorowego, pochodnych kwasu kawowego oraz chlorofilu, a właściwościami antyoksydacyjnymi i przeciwzapalnymi (właściwości przeciwrodnikowe oznaczone wobec ABTS i DPPH, właściwości chelatujące jony żelaza oraz inhibitowanie aktywności LOX) co wskazuje, że najprawdopodobniej te związki determinują właściwości biologiczne liści sałaty (**O4**).

Z kolei etanolowe ekstrakty z liści bazylii sałatowej elicytowanej kwasem arachidonowym (AA) nie odznaczały się zwiększonym potencjałem antyoksydacyjnym oznaczonym w oparciu o pięć metod różniących się mechanizmem działania (zdolność do neutralizowania wolnych rodników ABTS i DPPH, zdolność do chelatowania jonów żelaza, potencjał redukcyjny, zdolność do hamowania indukowanej peroksydacji lipidów), co wykazano w pracy **O5**. Jedynie w przypadku elicytacji 1 μM AA zaobserwowano większą aktywność przeciwrodnikową wobec DPPH. Natomiast próby z bazylii elicytowanej 100 μM AA po symulowanym trawieniu wykazywały istotnie wyższą, w porównaniu z próbami z bazylii kontrolnej, zdolność do hamowania indukowanej peroksydacji lipidów (wzrost o 26,9%) oraz zdolność do neutralizowania rodnika DPPH (około 2-krotny wzrost). Potencjalnie biodostępna frakcja związków fenolowych z bazylii elicytowanej 100 μM AA charakteryzowała się

również zwiększonymi zdolnościami inhibitowania aktywności LOX. Należy podkreślić, że w przypadku właściwości przeciwzapalnych (inhibitowanie aktywności LOX), przeciwcukrzycowych (inhibitowanie aktywności α -amylazy i α -glukozydazy) oraz antynowotworowych frakcja potencjalnie biodostępnych związków fenolowych wykazała znacznie lepsze właściwości w porównaniu do ekstraktów etanolowych oraz buforowych (PBS).

Inne wyniki uzyskano analizując właściwości olejku eterycznego pozyskanego z bazylii sałatowej elicytowanej kwasem jasmonowym (JA), które opublikowano w pracy **O3**. W tym przypadku elicytacja spowodowała wzrost aktywności przeciwutleniającej i przeciwzapalnej, a najbardziej efektywny był 100 μ M kwas jasmonowy – olejek pozyskany z bazylii elicytowanej tym stężeniem elicytora odznaczał się najsilniejszą aktywnością przeciwrodnikową (wobec DPPH i ABTS) oraz zdolnością do inhibitowania aktywności COX i LOX. Olejek ten zawierał najwięcej linalolu, eugenolu i limonenu, co sugeruje udział tych składników w kreowaniu właściwości prozdrowotnych badanego zioła.

W wyżej wymienionych pracach wykazano, że badane warzywa liściaste i zioła wykazują wielokierunkową aktywność prozdrowotną, a elicytacja zarówno czynnikami abiotycznymi, jak i biotycznymi może stanowić cenne narzędzie intensyfikowania tych właściwości. Ponieważ aktywność fizjologiczna badanych ziół i warzyw jest determinowana zawartością związków bioaktywnych efekt ten w dużej mierze zależy (analogicznie jak w przypadku indukcji biosyntezy metabolitów wtórnych) od rodzaju elicytora i jego stężenia, od gatunku czy odmiany rośliny oraz ilości zastosowanych zabiegów indukcji.

Szczególnie cenne było określenie wpływu elicytacji na aktywność potencjalnie biodostępnych związków, ponieważ jak dowiedziono w pracy **O5** – właściwości te mogą się różnić od właściwości oznaczonych dla ekstraktów sporządzonych z użyciem odczynników chemicznych, co w większości opublikowanych badań stanowi główną podstawę do oceny bioaktywności składników roślinnych.

Ad 3. Szlaki nabywania odporności uruchamiane w roślinie w odpowiedzi na zastosowane elicytory oprócz zwiększonej syntezy niskocząsteczkowych produktów metabolizmu wtórnego o udokumentowanych właściwościach prozdrowotnych, powodują również indukcję biosyntezy enzymów obronnych roślin takich jak peroksydaza (POD) czy oksydaza polifenolowa (PPO). Enzymy te oprócz istotnej funkcji w zwiększaniu odporności roślin mogą również determinować jakość żywności pochodzenia roślinnego, ponieważ są odpowiedzialne za proces enzymatycznego brązowienia tkanek roślinnych. Zmiany te są przyczyną pogorszenia jakości warzyw głównie w trakcie przechowywania, a wzrost aktywności enzymów odpowiedzialnych za enzymatyczne brązowienie w tkankach elicytowanych warzyw i ziół może potęgować ten proces. Dostępna literatura

nie zawiera danych na temat jakości przechowywanych warzyw liściastych i/lub ziół poddanych w czasie uprawy zabiegowi elicytacji.

Z uwagi na powyższe przesłanki w pracy **O7** dokonano oceny przydatności elicytowanych warzyw liściastych (na przykładzie sałaty i endywii) do przechowywania np. w kontekście produkcji mieszanek typu „ready-to-eat” oraz w pracy **O8** badano przydatność elicytowanych ziół (na przykładzie bazylii) jako dodatków do produktów spożywczych (na przykładzie ciastek).

Wykazano, że proces elicytacji różnymi stężeniami kwasu arachidonowego (AA) i jasmonowego (JA) na ogół nie spowodował istotnych różnic w aktywności peroksydazy (POD) i oksydazy polifenolowej (PPO) w świeżych liściach sałaty i endywii. Jedynie sałata elicytowana 100 μM AA i endywia 1 μM JA wykazały istotnie większą aktywność POD bezpośrednio po zbiorze. 4-dniowe przechowywanie w 4°C spowodowało nieznaczny wzrost aktywności POD w liściach sałaty jednak tylko w przypadku sałaty kontrolnej był to wzrost istotny statystycznie (2,8-krotny). W liściach endywii przechowywanie spowodowało znaczny wzrost aktywności POD (z wyjątkiem próby po zastosowaniu 1 μM JA). W przypadku PPO przechowywanie nie spowodowało znaczących zmian w aktywności tego enzymu zarówno w liściach kontrolnej jak i elicytowanej sałaty, podczas gdy niewielki wzrost zaobserwowano w liściach endywii - przy czym istotny statystycznie był jedynie dla endywii elicytowanej 100 μM AA.

Wartości składowych barwy liści kontrolnych i elicytowanych warzyw bezpośrednio po zbiorze (CIE $L^*a^*b^*$) były porównywalne. Przechowywanie powodowało niewielkie zmiany parametrów barwy w przypadku elicytowanych warzyw – dla sałaty było to obniżenie parametru a^* (większy udział barwy zielonej) i wzrost parametru b^* (zwiększenie intensywności barwy żółtej). Endywia kontrolna oraz elicytowana 100 μM JA przechowywana w 4°C przez 4 dni charakteryzowała się zwiększonym udziałem barwy czerwonej (zwiększenie parametru a^*).

Jakość przechowywanych warzyw oceniono również poprzez oznaczenie zmian zawartości wybranych związków bioaktywnych (polifenole, kwas askorbinowy) oraz aktywności antyoksydacyjnej. Przechowywanie spowodowało znaczne straty witaminy C, ograniczone jednak w sałacie elicytowanej 100 μM AA oraz 1 μM i 100 μM JA. Sałata elicytowana tymi stężeniami induktorów po 4 dniach przechowywania odznaczała się również wyższą w porównaniu z kontrolą zawartością związków fenolowych (odpowiednio 2,6-krotnie, 5,7-krotnie oraz 2,6-krotnie), jak również potencjałem przeciwnadrodnikowym wobec DPPH. Podobny wzrost zawartości związków fenolowych zaobserwowano w przypadku przechowywanej endywii elicytowanej 1 μM i 100 μM JA.

Przechowywane warzywa poddano również ocenie organoleptycznej, która wykazała obniżenie jakości po 4-dniowym przechowywaniu zarówno warzyw kontrolnych jak i elicytowanych, przy czym parametrami, które były istotnie gorzej oceniane były barwa i tekstura. Należy jednak

podkreślić, że tekstura oraz ogólna akceptowalność liści sałaty elicytowanej 1 μM AA i 100 μM JA, jak też ogólna akceptowalność liści endywii elicytowanej 100 μM JA po 4-dniowym okresie przechowywania zostały znacznie lepiej ocenione niż kontrolne (bez elicytacji).

Podsumowując, w pracy **O7** dowiedziono, że elicytowane czynnikami abiotycznymi warzywa liściaste (sałata i endywia) wykazując podobną zdolność przechowalniczą oraz zwiększoną aktywność biologiczną stanowią wartościowy materiał wyjściowy do produkcji mieszanek warzywnych np. typu „ready-to-eat”.

Zwiększona zawartość związków bioaktywnych determinująca większą aktywność biologiczną elicytowanych ziół wykazana w pracach **O1**, **O2**, **O3**, **O5** i **O6** uzasadnia postawienie hipotezy, że elicytowane zioła zastosowane jako dodatki do żywności mogą podwyższyć jakość prozdrowotną otrzymanych produktów. Stanowiło to inspirację do podjęcia nowatorskiego kierunku badań – wzbogacania żywności w elicytowane zioła i określenie potencjału nutraceutycznego otrzymanych wyrobów. W pracy **O8** wykazano, że ciastka pszenne wzbogacone (w ilości 1% i 2%) w bazylię saładową (kontrola) i elicytowaną kwasem jasmonowym zawierały znacząco więcej związków fenolowych oznaczonych zarówno w ekstraktach chemicznych (etanolowych), buforowych (PBS) jak też we frakcji potencjalnie biodostępnej (po symulowanym trawieniu *in vitro*).

W przypadku ekstraktów etanolowych najwyższą zawartość flawonoidów oznaczono w ciastkach wzbogaczanych (w ilości 1% i 2%) bazylią elicytowaną 100 μM kwasem jasmonowym (odpowiednio 4,75- i 5,2-krotne zwiększenie). Frakcja kwasów fenolowych w największej ilości występowała w ekstraktach etanolowych z ciastek wzbogaczanych (w ilości 2%) bazylią nieelicytowaną. Natomiast w ekstraktach wyizolowanych buforem PBS z ciastek z 2% dodatkiem bazylii elicytowanej 100 μM kwasem jasmonowym oznaczono najwięcej związków fenolowych ogółem, kwasów fenolowych i flawonoidów. Ten wariant ciastek odznaczał się też najwyższą ilością potencjalnie biodostępnych flawonoidów.

Suplementacja bazylią (zarówno kontrolną jak i elicytowaną) znacząco zwiększyła potencjał antyoksydacyjny wzbogaczonych ciastek. Ich właściwości przeciwutleniające były zróżnicowane w zależności od testowanych prób i od metody zastosowanej do oznaczenia. I tak: najwyższą aktywność antyrodnikową wobec ABTS wykazały etanolowe ekstrakty oraz próby po symulowanym trawieniu *in vitro* z ciastek wzbogaczanych bazylią elicytowaną 100 μM kwasem jasmonowym w ilości 2%; najwyższą zdolność do neutralizowania wolnych rodników DPPH wykazały etanolowe ekstrakty z ciastek z 2% dodatkiem bazylii kontrolnej; natomiast potencjalnie biodostępna frakcja związków fenolowych z ciastek wzbogaczanych elicytowaną bazylią (100 μM JA w ilości 1% i 2% oraz 1 μM JA w ilości 1%) wykazywała najwyższy potencjał redukcyjny.

Na uwagę zasługuje również fakt, że symulowane trawienie spowodowało wzrost potencjału antyoksydacyjnego (z wyjątkiem zdolności chelatujących jony żelaza) w przypadku wszystkich analizowanych ciastek, co wskazuje na potencjalną biodostępność związków fenolowych obecnych w fortyfikowanych bazylią ciastkach. Symulowane trawienie spowodowało również uwolnienie potencjalnie biodostępnych związków odpowiedzialnych za inhibitowanie aktywności enzymu prooksydacyjnego (LOX), jak również α -glukozydazy – enzymu odpowiedzialnego za hydrolizę polisacharydów w organizmie. Najsilniejsze właściwości przeciwcukrzycowe wyrażone jako zdolność do inhibitowania aktywności α -glukozydazy wykazywała potencjalnie biodostępna frakcja polifenoli z ciastek z 2% dodatkiem bazylii elicytowanej 100 μ M JA, podczas gdy próby po symulowanym trawieniu z ciastek wzbogacanych bazylią kontrolną w ilości 2% oraz bazylią elicytowaną 1 μ M JA (1%) oraz 100 μ M JA (2%) w największym stopniu hamowały aktywność LOX.

Otrzymane rezultaty udowodniły, że ciastka wzbogacane elicytowaną kwasem jasmonowym bazylią zawierają potencjalnie biodostępne związki fenolowe, które wykazują silne właściwości antyoksydacyjne, przeciwzapalne (inhibitowanie aktywności LOX) oraz przeciwcukrzycowe (inhibitowanie aktywności α -glukozydazy). Jak wskazują wyniki otrzymane w pracy **O8** oraz **O3** w przypadku elicytacji kwasem jasmonowym szczególnie rekomendowane jest użycie 100 μ M JA z uwagi na najlepsze działanie stymulujące właściwości biologiczne olejku oraz potencjalnie biodostępnych związków fenolowych tego zioła.

Dodatkowo w pracy **O8** określono przydatność elicytowanych ziół do zapobiegania obniżeniu jakości przechowywanych produktów spowodowanej peroksydacją lipidów. Przeprowadzone badania wykazały zdolność bazylii (zarówno kontrolnej jak i elicytowanej kwasem jasmonowym) do ochrony lipidów badanych ciastek przed peroksydacją. Ocena organoleptyczna badanych ciastek wykazała, że dodatek zarówno bazylii kontrolnej, jak i elicytowanej w badanej ilości był akceptowany przez konsumentów.

Ad 4. Z uwagi na fakt, że elicytacja uruchamia mechanizmy odpowiedzi roślin na stresy, istotnym zagadnieniem w badaniu wpływu tego procesu na rośliny jest dobranie odpowiednich parametrów w celu uniknięcia niepożądanych skutków w postaci zahamowania wzrostu i rozwoju roślin. Dlatego też, w pracach **O3**, **O4**, **O6** i **O7** dokonano analizy plonu elicytowanych roślin. Wyznacznikami pomocnymi w określeniu wpływu zastosowanej abiotycznej i biotycznej elicytacji na rozwój roślin były: wysokość roślin, świeża masa (ś.m./roślina) oraz sucha masa (s.m./roślina). W pracy **O1** nie stwierdzono negatywnego wpływu zastosowanej elicytacji kwasem jasmonowym w stężeniach 0,01 μ M, 1 μ M oraz 100 μ M na plon bazylii. Indukcja 100 μ M JA spowodowała istotne zwiększenie wysokości roślin, podczas gdy pod wpływem 0,01 μ M JA nastąpił przyrost suchej masy bazylii. Kwas jasmonowy w stężeniach 0,01 μ M i 1 μ M zastosowany do indukcji majeranku (praca **O6**) również powodował znaczący przyrost suchej masy tego zioła (około 2-krotny wzrost) nie zmieniając

natomiast pozostałych parametrów plonu (wysokość roślin i świeża masa). Istotny przyrost suchej masy w wyniku elicytacji abiotycznej (100 μM AA) uzyskano również dla endywii (zwiększenie s.m./roślina o 45%) – **O7**. Pozostałe warianty doświadczenia analizowane w pracy **O7** (elicytacja 1 μM AA oraz 1 μM i 100 μM JA) nie zmieniły świeżej i suchej masy sałaty i endywii, natomiast odnotowano istotne zwiększenie wysokości roślin sałaty po indukcji JA w obu zastosowanych stężeniach. Należy również zaznaczyć, że indukcja endywii 1 μM AA spowodowała istotnie statystycznie zmniejszenie wysokości roślin (o 27%).

Elicytacja czynnikiem biotycznym – ekstraktami z drożdży (0,1% i 1%) zastosowana w uprawie sałaty nie spowodowała zmiany ocenianych parametrów plonu (sucha masa i świeża masa) – **O4**, natomiast wykorzystana do indukcji majeranku (**O6**) istotnie zwiększyła (odpowiednio dwu- i ponad 3-krotnie) suchą masę roślin. Dodatkowo 1% YE spowodował 2,5-krotny przyrost świeżej masy majeranku. Należy również zaznaczyć, że nie stwierdzono negatywnego wpływu zastosowanej elicytacji na plon majeranku (**O6**).

Podsumowując, badane elicytory w zastosowanych stężeniach nie wywierają negatywnego wpływu na wzrost i rozwój roślin (jedynie u endywii potraktowanej 1 μM AA zaobserwowano istotnie statystycznie zmniejszenie wysokości roślin), a wiele z zastosowanych wariantów elicytacji spowodowało zwiększenie plonu elicytowanych roślin.

4.3.3. Podsumowanie

Przedstawiony jako **Osiągnięcie** cykl prac stanowi kompilację zagadnień z zakresu biochemii oraz technologii żywności. Uzyskane wyniki dostarczają nowej oraz pogłębiają już istniejącą wiedzę na temat mechanizmów kierowanej indukcji metabolizmu wtórnego roślin i bioaktywności elicytowanych produktów. Przeprowadzone badania wykazały, że zastosowanie w trakcie uprawy warzyw liściastych i ziół elicytacji czynnikami abiotycznymi (w szczególności kwasem jasmonowym i kwasem arachidonowym), jak również czynnikiem pochodzenia biotycznego (ekstraktem z drożdży) powoduje w indukowanych roślinach wzrost zawartości związków bioaktywnych takich jak: związki fenolowe, witamina C, chlorofile, karotenoidy oraz składników olejku eterycznego. Wyniki przedstawione w pracach stanowiących **Osiągnięcie** potwierdziły tezę zakładającą, że ukierunkowana elicytacja może być cennym narzędziem w intensyfikowaniu właściwości prozdrowotnych warzyw i ziół. Wykazano, że efekt elicytacji w dużej mierze zależy od rodzaju elicytora i jego stężenia, od gatunku czy odmiany rośliny oraz ilości zastosowanych zabiegów indukcji. Na szczególną uwagę zasługują wyniki wykazujące obecność w elicytowanej kwasem jasmonowym bazylii związków fenolowych o wysokiej biodostępności charakteryzujące się wysokim potencjałem prozdrowotnym.

Wykazano, że odpowiednio dobrane warunki elicytacji (rodzaj induktora, jego stężenie, czas i ilość zabiegów elicytacji) pozwala na wyeliminowanie potencjalnie negatywnych skutków stosowania tego procesu w kontekście pozyskiwania funkcjonalnych środków spożywczych. W przedstawionych pracach udowodniono, że elicytowane warzywa liściaste i zioła posiadają podwyższone aktywności biologiczne przy zachowanej jakości konsumenckiej. Elicytacja może więc być rekomendowana w uprawie warzyw i ziół jako nowatorski sposób otrzymywania żywności pochodzenia roślinnego o podwyższonym potencjale prozdrowotnym.

Literatura

1. Angelova Z., Georgiev S., Roos W. (2006). Elicitation of plants. *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.*, 2006, 20(2), 72-83.
2. Baenas, N., Garc_ia-Viguera, C., Moreno, D.A. (2014). Elicitation: a tool for enriching the bioactive composition of foods. *Molecules*, 19, 13541–13563.
3. Boligon, A. A., Feltrin, A. C., Athayde, M. L. (2013). Determination of chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Guazuma ulmifolia* essential oil. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 1(1), 23–27.
4. Caroch, M., Ferreira, I.C.F.R. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15–25.
5. De Román, M., Fernández, I., Wyatt, T., Sahrawy, M., Heil, M., Pozo, M.J. (2011). Elicitation of foliar resistance mechanisms transiently impairs root association with arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Ecology*, 99(1), 36–45.
6. Edreva A. (2004). A novel strategy for plant protection: Induced resistance. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 3, 61-69.
7. Faessel, L., Nassr, N., Lebeau, T., Walter, B. (2008). Effects of the plant defence inducer, acibenzolar-S-methyl, on hypocotyl rot of soybean caused by *Rhizoctonia solani* AG-4. *Journal of Phytopathology*, 156(4), 236–242.
8. García-Lafuente A., Guillamón E., Villares A., Rostagno M.A., Martínez J.A. (2009). Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation Research*, 58, 537–552.
9. Gawlik-Dziki, U. (2012). Dietary spices as a natural effectors of lipoxygenase, xanthine oxidase, peroxidase and antioxidant agents. *LWT - Food Science and Technology*, 47, 138–146.
10. Ghosh, D., Konishi, T. (2007). Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: Role in diabetes and eye function. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 16(2), 200–208.
1. Hu, F.B. (2003). Plant-based foods and prevention of cardiovascular disease: an overview. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78(suppl):544S–51S.
2. Ioannou, I., Ghoul, M. (2013). Prevention of enzymatic browning in fruit and vegetables. *European Scientific Journal*, 9(30), 310-341.
3. Kim, H.-Y., Chen, F., Wang, X., Choi, J.-H. (2006). Effect of methyl jasmonate on phenolics, isothiocyanate, and metabolic enzymes in radish sprout (*Raphanus sativus* L.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54, 7263–7269.
4. Liu, R.H. (2013). Health-promoting components of fruits and vegetables in the diet. *Advances in Nutrition*, 4, 384S–392S.

5. Llorach, R., Martínez-Sánchez, A., Tomás-Barberán, F. A., Gil, M. I., Ferreres, F. (2008). Characterisation of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. *Food Chemistry*, 108, 1028–1038.
6. Mayer, A.M., (2006). Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review. *Phytochemistry* 67, 2318–2331.
7. Oboh, G., Agunloye, O. M., Adefegha, S. A., Akinyemi, A. J., Ademiluyi, A. O. (2015). Caffeic and chlorogenic acids inhibit key enzymes linked to type 2 diabetes (*in vitro*): a comparative study. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 26(2), 165–170.
8. Pallavi, R., Elakkiya, S., Tennety, S. S. R., Devi, P. S. (2012). Anthocyanin analysis and its anticancer property from sugarcane (*Saccharum Officinarum* L.) peel. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry (IJRPC)*, 2(2), 338–345.
9. Piątkowska E., Kopeć A., Leszczyńska T. (2011). Antocyjany – charakterystyka, występowanie i oddziaływanie na organizm człowieka. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 4 (77), 24 – 35.
10. Raju, S., Jayalakshmi, S.K., Sreeramulu, K., (2008). Comparative study on the induction of defense related enzymes in two different cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L) genotypes by salicylic acid, spermine and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. *Australian Journal of Crop Science*, 2, 121–140.
11. Schreiner, M. (2005). Vegetable crop management strategies to increase the quantity of phytochemicals. *European Journal of Nutrition*, 44, 85–94.
12. Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance--a review. *Appetite*, 51(3), 456–67.
13. Szpitter A., Królicka A. (2005). Stymulujący wpływ elicytorów biotycznych na produkcję farmakologicznie czynnych metabolitów wtórnych w roślinnych kulturach *in vitro*. *Biotechnologia*, 4(71), 82-108.
14. Tyagi S., Singh G., Dharma A., Aggarwal G.(2010). Phytochemicals as candidate therapeutics: an overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 3(1), 53-55.
15. Wang, S., Melnyk, J. P., Tsao, R., Marcone, M. F. (2011). How natural dietary antioxidants in fruits, vegetables and legumes promote vascular health. *Food Research International*, 44(1), 14–22.
16. Złotek U., Świeca M., Jakubczyk, A. (2014): Effect of abiotic elicitation on main health-promoting compounds, antioxidant activity and commercial quality of butter lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Food Chemistry*, 148, 253-260.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych

Bezpośrednio po podjęciu pracy w Katedrze Biochemii i Chemii Żywności Akademii Rolniczej (obecnie Uniwersytet Przyrodniczy) w Lublinie jako członek zespołu badawczego dr hab. Wiesława Wójcika (późniejszego promotora dysertacji doktorskiej), zainteresowałam się aspektami indukowanej odporności roślin. Efektem jest praca przeglądowa [D1-4] zamieszczona w *Acta Scientiarum Polonorum*, *Biotechnologia* omawiająca mechanizmy i szlaki uruchamiania dwóch głównych typów odporności systemicznej roślin – nabytej odporności systemicznej oraz indukowanej odporności systemicznej. Równolegle podjęłam tematykę badawczą związaną z indukcją reakcji obronnych roślin w odpowiedzi na działanie abiotycznych induktorów takich jak: kwas salicylowy, kwas dichloroizoniakotynowy, benzotiadiazol, kwas abscysynowy, kwas jasmonowy, kwas arachidonowy oraz kwas β -aminomasłowy wybierając na obiekt badań sałatę masłową.

Z tego zakresu wykonałam dysertację doktorską pt. „Wpływ stymulacji reakcji obronnych na wyróżniki odporności sałaty”, która na wniosek Recenzentów została wyróżniona nagrodą JM Rektora. Część studium literaturowego przedstawionego w dysertacji doktorskiej dotyczącego kierunków doskonalenia prozdrowotnych właściwości surowców pochodzenia roślinnego zostało umieszczone w monografii tematycznej pt. „Odżywcze i funkcjonalne właściwości żywności” [D2-9], a otrzymane wyniki zostały opublikowane w Food Chemistry (2 prace) i Scientia Horticulturae (1 praca). Badania zawarte w dysertacji doktorskiej były częściowo finansowane przez NCN w ramach projektu badawczego promotorskiego (N N310 735440), którego byłam głównym wykonawcą. Przeprowadzone badania wykazały, że zastosowanie abiotycznych induktorów powoduje zmiany w ilości i aktywności wyróżników odporności w liściach sałaty takich jak: aktywność enzymów obronnych (oksydaza polifenolowa, peroksydaza, proteazy) [D2-2]; zawartość nieenzymatycznych czynników odporności jak związki fenolowe [D2-1]. Abiotyczna elicytacja sałaty powodowała zwiększoną biosyntezę nie tylko związków fenolowych, ale i innych związków fitochemicznych: witaminy C, chlorofili czy karotenoidów, co stymulowało aktywność antyoksydacyjną określaną jako zdolność do neutralizacji wolnych rodników DPPH [D2-1]. Indukcja mechanizmów odporności objawiająca się zwiększeniem aktywności enzymów obronnych, jak też zmianami w mikrostrukturze liści sałaty (zmniejszenie rozmiarów komórek epidermy, tendencja do zamykania aparatów szparkowych) powodowała zwiększenie odporności sałaty na patogen grzybowy (*Botrytis cinerea*) – [D2-2]. Charakterystyka oksydazy polifenolowej wyizolowanej z elicytowanej sałaty wykazała różnice w ocenianych parametrach biochemicznych enzymu tj. specyficzność substratowa, optimum temperatury czy wrażliwość na inhibitory [D2-5]. Otrzymane wyniki sugerowały indukcję dodatkowych izoform oksydazy polifenolowej w wyniku działania stymulatorów, co zostało potwierdzone analizą elektroforetyczną przeprowadzoną w warunkach natywnych [D2-5].

Równolegle z powyższymi badaniami wraz z innymi pracownikami Katedry Biochemii i Chemii Żywności dokonałam analizy biochemicznej oksydazy polifenolowej wyizolowanej z liści sałaty, która została zamieszczona w pracy opublikowanej w Food Chemistry [D1-1]. Wykazano występowanie jednej izoformy tego enzymu o masie cząsteczkowej 60 kDa i o najwyższym powinowactwie w stosunku do 4-metylokatecholu ($K_m=1.00 \pm 0.09$ mM i $V_{max}= 5405 \pm 3$ U/ml min⁻¹). Optymalna temperatura dla działania tej oksydazy wynosiła 35 °C, a optimum pH uzależnione było od rodzaju zastosowanego substratu - dla katecholu wynosiło 5,5, a dla 4-metylokatecholu 6,8.

Enzymy takie jak peroksydaza, oksydaza polifenolowa, chitynaza, β -1,3 glukanaza odgrywają też znaczącą rolę w obronie roślin przed szkodnikami owadzimi. Badania nad odpowiedzią biochemiczną w liściach dębu na owady z rodziny galaskówatych (*Cynips quercusfolii* L., *Neuroterus numismalis* (Fourc.) i *N. quercusbaccarum* L.) wykonane we współpracy z Zakładem Entomologii UP w Lublinie zamieszczono w pracy opublikowanej w Bulletin of Entomological Research [D2-13]. Szkodniki owadzie indukowały produkcję enzymów obronnych oraz związków fenolowych w liściach dębu, jednakże efekt ten był w dużej mierze uzależniony od gatunku owadów.

Jedno z zadań w projekcie finansowanym w ramach programu Iuventus Plus pt. "Badanie czynników indukujących syntezę antocyjanów i aktywność enzymów przeciwutleniających w wybranych roślinach i procesu inhibitowania aktywności lipooksygenazy i cyklooksygenazy przez otrzymane produkty" nr **IP2010 042070**, którego byłam wykonawcą, dotyczyło wpływu elicytacji bazylii purpurowej na zawartość i aktywność związków fenolowych. Uzyskane wyniki dowiodły, że elicytacja kwasem jasmonowym, arachidonowym i β -aminomasłowym powoduje indukcję metabolizmu wtórnego roślin, co powoduje wzrost zawartości związków fenolowych ogółem oraz aktywności antyoksydacyjnej bazylii, a najefektywniej działały kwas jasmonowy i arachidonowy [**D1-6** – opublikowana w *Annales UMCS Sectio DDD*]. Praca ta, jak również badania będące przedmiotem mojej pracy doktorskiej zainspirowały mnie do podjęcia dokładniejszych badań, które zawarte są w pracach stanowiących **Osiągnięcie**. Praca **O2** zawiera część badań realizowanych przeze mnie w ramach tego projektu (**IP2010 042070**) dotyczących wpływu elicytacji abiotycznej na zawartość i aktywność jednej z frakcji związków fenolowych bazylii purpurowej (antocyjany). W ramach tego projektu (nr **IP2010 042070**) dokonano również oceny zastosowania stresów abiotycznych: temperaturowego, osmotycznego i oksydacyjnego na zawartość związków fenolowych i właściwości antyoksydacyjne kiełków fasoli czerwonej, a otrzymane wyniki opublikowano w *Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria* - **D2-15**. Jedynie w przypadku zastosowania stresu temperaturowego uzyskano zwiększenie potencjału antyoksydacyjnego kiełków fasoli czerwonej, natomiast zastosowane modyfikacje produkcji kiełków powodowały zmniejszenie zawartości związków fenolowych.

Zastosowanie elicytacji w indukcji metabolizmu roślin znajduje się ciągle w kręgu moich zainteresowań naukowych. Obok prac stanowiących **Osiągnięcie** i będących przedmiotem badań w ramach projektu **IP2010 042070** uczestniczyłam w badaniach nad wpływem elicytacji na jakość prozdrowotną kiełków, które zamieszczono w publikacjach opublikowanych w *Scientia Horticulturae* i *International Journal of Food Science & Technology* [**D1-2, D2-3**].

Dywersyfikacja warunków oświetlenia istotnie determinowała zawartość polifenoli oraz właściwości antyoksydacyjne kiełków soczewicy. Wykazano, że zastosowanie ciągłego oświetlenia istotnie zwiększyło zawartość kwasów fenolowych (tj. kwas *p*-hydroksybenzoesowy, benzoesowy i kawowy) w kiełkach 3- i 4-dniowych, co było skorelowane ze zwiększoną aktywnością antyoksydacyjną [**D1-2**]. Natomiast krótkotrwały stres w postaci niskiej (4°C) lub podwyższonej (40°C) temperatury spowodował zwiększenie zawartości związków polifenolowych oraz witaminy C w kiełkach soczewicy, przy czym najwyższy wzrost zaobserwowano 24h po zastosowaniu czynnika stresowego [**D2-3**]. Stres temperaturowy (zarówno niską jak i podwyższoną temperaturą) spowodował wyższą zdolność do neutralizowania wolnych rodników (o odpowiednio 26% i 24% w odniesieniu do kiełków kontrolnych) ekstraktów wyizolowanych buforem z 4-dniowych kiełków. Zastosowane stresy temperaturowe niekorzystnie wpłynęły natomiast na potencjał redukcyjny badanych kiełków. Analiza właściwości antyoksydacyjnych w próbach po symulowanym trawieniu *in vitro* wykazała, że tego

rodzaju stres generalnie nie zmniejsza biodostępności przeciwutleniaczy kiełków soczewicy. Niewielki spadek biodostępności związków odpowiedzialnych za neutralizowanie wolnych rodników i chelatowanie jonów metali odnotowano jedynie w przypadku 3-dniowych kiełków przechowywanych przez 7 dni w warunkach chłodniczych [D2-3].

W ramach projektu badawczego finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki „Synbiotyki otrzymane na bazie kiełków roślin strączkowych - badania bezpieczeństwa, jakości odżywczej i prozdrowotnej w aspekcie biodostępności i bioprzyswajalności w modelowych układach *in vitro* oraz *in vivo*” (nr 2015/17/B/NZ9/0179), którego jestem wykonawcą, dokonano oceny możliwości wykorzystania żywych i martwych kultur *Lactobacillus rhamnosus* do indukcji metabolizmu kiełków soczewicy jadalnej. Otrzymane wyniki [D2-18] wskazują na możliwości modyfikacji składu i potencjalnej bioaktywności kiełków soczewicy poprzez zastosowanie dodatku do ich hodowli kultur *Lactobacillus rhamnosus*.

Tematykę badań dotyczących wykorzystania elicytacji w produkcji żywności pochodzenia roślinnego o zwiększonym potencjale prozdrowotnym kontynuuję nadal. Obecnie realizuję działanie naukowe w ramach projektu **Miniatura 1** finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki (2017/01/X/NZ9/00444) pt. „Wpływ elicytacji na profil związków fenolowych młodych siewek pszenicy (*Triticum aestivum* L.) i jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.)”. Jestem również kierownikiem projektu badawczego w ramach konkursu „SONATA 12” (2016/23/D/NZ9/00553) finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki realizowanego w konsorcjum z Wojskowym Instytutem Higieny i Epidemiologii im. Gen. Karola Kaczkowskiego w Warszawie pt. „Zastosowanie elicytorów w biofortyfikacji lubczyku (*Levisticum officinale* Koch).

W tematykę dotyczącą indukcji metabolizmu roślin wpisują się również badania zrealizowane we współpracy z Państwową Wyższą Szkołą Zawodową w Chełmie oraz Katedrą Eksploatacji Maszyn i Zarządzania UP w Lublinie dotyczące wpływu wybranych stymulatorów na plonowanie oraz wartość odżywczą i prozdrowotną dwóch odmian fasoli. Badania te zostały opublikowane w cyklu trzech prac [D2-7, D2-9 i D2-10], zamieszczonych odpowiednio w: Fresenius Environmental Bulletin, Saudi Journal of Biological Sciences oraz Scientia Horticulturae. W uprawie fasoli odmiany Toska zastosowano preparat Nano-Gro (organiczny stymulator wzrostu zawierający oligosacharydy oraz mikroelementy) D2-7, a w uprawie dwóch odmian fasoli (Toska i Aura) preparat Kelpak (ekstrakt z alg *Ecklonia maxima*) – D2-9 oraz oparty na związkach z grupy nitrofenoli preparat Atonik [D2-10], co spowodowało istotne zwiększenie plonowania. Wszystkie zastosowane metody aplikacji preparatu Nano-Gro powodowały ponadto istotne zwiększenie zawartości polifenoli oraz potencjału redukcyjnego fasoli odmiany Toska [D2-7]. Podobnie zastosowanie preparatu Kelpak zwiększało zawartość polifenoli w fasoli odmiany Toska (najlepsze rezultaty uzyskano po zastosowaniu podwójnej aplikacji 0,2% roztworem Kelpak – wzrost zawartości o 14,7%), nie mając wpływu na zawartość tej grupy związków w przypadku fasoli odmiany Aura [D2-9]. Aplikacja biostymulatora Atomic nie zmieniała natomiast istotnie zawartości polifenoli w nasionach badanej fasoli. Jedynie w

przypadku podwójnej aplikacji 0,1% roztworem stymulatora odnotowano istotne statystycznie zwiększenie zawartości polifenoli w fasoli odmiany Toska, podczas gdy żadna z zastosowanych metod aplikacji tego preparatu nie powodowała zwiększenia zawartości tych związków w nasionach fasoli odmiany Aura [D2-10].

Wszystkie zastosowane metody aplikacji preparatu Nano-Gro spowodowały natomiast istotne zwiększenie potencjału antyoksydacyjnego fasoli odmiany Toska – średnio wzrost o 6% - D2-7. Zwiększony potencjał redukcyjny i przeciwrodnikowy nasion fasoli odmiany Aura uzyskano również po zastosowaniu wyciągu z alg (preparat Kelpak), ale w przypadku fasoli odmiany Toska zastosowanie tego preparatu nie zmieniło właściwości antyoksydacyjnych [D2-9]. Podobnie biostymulator Atonic zwiększył istotnie potencjał antyrodnikowy nasion fasoli odmiany Aura, nie zmieniając tej aktywności w przypadku fasoli Toska, przy czym najefektywniejsza okazała się pojedyncza aplikacja 0,1% roztworem induktora. Potencjał redukcyjny obu badanych odmian fasoli nie zmienił się natomiast po zastosowaniu tego preparatu [D2-10]. Prace D2-9 i D2-10 obejmowały również ocenę wpływu zastosowania biostymulatorów (Atomik i Kelpak) na wartość odżywczą nasion dwóch odmian fasoli – aplikacja biostymulatorów nie zmieniła jednakże zawartości białka i skrobi.

Równolegle prowadziłam badania we współpracy z innymi pracownikami Katedry Biochemii i Chemii Żywności związane z ekstrakcją, potencjalną biodostępnością oraz właściwościami prozdrowotnymi związków bioaktywnych żywności pochodzenia roślinnego takich jak związki fenolowe i bioaktywne peptydy (prace D1-5, D2-4, D2-6, D2-8, D2-11, D2-14)

W pracy D1-5 opublikowanej w Żywność. Nauka. Technologia. Jakość określono potencjał antyoksydacyjny wybranych przypraw: cynamonu, estragonu i bazylii. Ekstrakt metanolowy z cynamonu wykazywał najwyższą aktywność antyoksydacyjną oznaczoną różnymi metodami: aktywność przeciwrodnikowa, zdolność do chelatowania jonów żelaza, potencjał redukcyjny oraz zdolność do hamowania peroksydacji lipidów. Określono również wpływ warunków pH analogicznych do panujących w ludzkim przewodzie pokarmowym na aktywność związków lipofilnych wyekstrahowanych z badanych przypraw. Zmienne warunki pH spowodowały wzrost zdolności do chelatowania jonów żelaza oraz do hamowania autooksydacji kwasu linolowego w przypadku wszystkich analizowanych przypraw. Tendencję odwrotną zaobserwowano natomiast dla potencjału redukcyjnego.

Kawa ze względu na właściwości sensoryczne i pobudzające jest jednym z najczęściej spożywanych napojów na świecie. Obecnie zwraca się też uwagę na prozdrowotne właściwości kawy wynikające z potencjału antyoksydacyjnego determinowanego obecnością związków bioaktywnych: kofeiny, związków fenolowych, diterpenów, a także produktów reakcji Maillarda powstałych w procesie palenia. Ponieważ skład i właściwości kawy zależą w dużej mierze zarówno od miejsca uprawy, jak i od sposobu jej palenia, w pracy D2-16 zamieszczonej w Acta Scientiarum Polonorum - Technologia Alimentaria analizie poddano kawy pozyskane z Etiopii, Kenii, Brazylii oraz Kolumbii poddane procesowi palenia w sposób tradycyjny, które w ramach współpracy pozyskano z

przedsiębiorstwa Cofeina Romuald Zalewski sp. Jawna oraz kawę pochodzącą z Brazylii paloną przemysłowo. W wyżej wymienionych badaniach związki aktywne ekstatowano wodą i metanolem. Aktywność antyoksydacyjna określana jako potencjał redukcyjny, zdolność do chelatowania jonów żelaza, zdolność do hamowania peroksydacji lipidów oraz do hamowania aktywności lipooksygenazy (LOX) była znacząco wyższa w ekstraktach metanolowych – przy czym najsilniejszymi właściwościami przeciwutleniającymi charakteryzowały się ekstrakty z kaw tradycyjnie palonych pochodzących z Kolumbii i Etiopii.

Kolejne badania, przeprowadzone pod moją opieką przez członków Studenckiego Koła Biochemików Żywności i Żywienia obejmowały ocenę efektywności powszechnie stosowanych układów ekstrakcyjnych oraz czasu i liczby etapów ekstrakcji w procesie izolowania frakcji polifenolowej ze świeżych, mrożonych oraz suszonych liści bazylii. Otrzymane wyniki zostały umieszczone w pracy opublikowanej w Saudi Journal of Biological Sciences [D2-8], której jestem współautorem. W przypadku świeżego oraz liofilizowanego materiału najlepsze wyniki uzyskano stosując wielostopniowe izolowanie zakwaszonym roztworem acetonu, podczas gdy najefektywniejszymi warunkami ekstrakcji polifenoli z mrożonych liści bazylii była jednostopniowa, 30-minutowa ekstrakcja tym samym rozpuszczalnikiem. Odnotowano pozytywną korelację pomiędzy zawartością związków fenolowych, a aktywnością antyoksydacyjną badanych ekstraktów z bazylii.

Moje zainteresowania badawcze dotyczące właściwości biologicznych żywności rozszerzyłam o problem biodostępności fizjologicznie aktywnych związków oraz fortyfikację żywności w celu zwiększenia jej potencjału prozdrowotnego.

Tematyka dotycząca biodostępności różnych grup związków bioaktywnych w modelach *in vitro* została podsumowana w pracy przeglądowej opublikowanej w International Journal of Food Science & Technology [D2-11], której jestem współautorem. W oparciu o najnowsze dane literaturowe omówiono główne czynniki determinujące biodostępność różnych grup związków biologicznie czynnych (polifenole, bioaktywne peptydy, witaminy), jak też decydujące o ich bioaktywności w organizmie człowieka.

Symulowany proces trawienia został zastosowany w badaniach dotyczących bioaktywnych peptydów, w których również uczestniczyłam. Celem pracy opublikowanej w Food Research International [D2-14], będącej efektem tych badań, było określenie warunków fermentacji prowadzonej z udziałem *Lactobacillus plantarum* oraz warunków symulowanego trawienia żołądkowo-jelitowego na biodostępność uwalnianych z nasion fasoli peptydów o aktywności inhibitorowej w stosunku do enzymów zaangażowanych w tzw. „zespół metaboliczny”. Zespół metaboliczny wiąże się ze współlistnieniem czynników związanych z zagrożeniem rozwoju chorób sercowo-naczyniowych, miażdżycy, cukrzycy typu 2 oraz otyłości. Liczne badania wykazały, że zawarte w diecie związki hamują aktywność enzymów takich jak: enzym konwertujący angiotensynę (ACE), lipaza, α -amylaza i α -glukozydaza, i w ten sposób mogą przyczyniać się do zmniejszenia ryzyka wystąpienia wyżej wymienionych chorób. Wyniki zawarte w wyżej wymienionej pracy

wskazują, że najwyższą aktywnością inhibitorową w stosunku do enzymów zaangażowanych w rozwój zespołu metabolicznego charakteryzuje się frakcja peptydów o masie cząsteczkowej 3,5-7 kDa uwalnianych z nasion fasoli w czasie symulowanego trawienia, a najefektywniejszymi warunkami fermentacji (w kontekście zwiększenia uwalniania bioaktywnych peptydów) jest prowadzenie tego procesu w 30 °C przez 3 dni.

Fortyfikacja chleba pszennego w kiełki brokułu jako surowca zasobnego w potencjalnie biodostępne i bioprzyswajalne związki o wielokierunkowej aktywności biologicznej, w tym przeciwutleniającej, przeciwzapalnej oraz antynowotworowej była przedmiotem pracy zamieszczonej w BioMed Research International [D2-4]. Generalnie, zastosowana suplementacja zwiększyła potencjał antyoksydacyjny chleba, choć nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy ilością dodanych kiełków brokułu, a badanymi właściwościami. Na uwagę zasługuje fakt, że najsilniejszymi właściwościami przeciwutleniającymi charakteryzowały się próby po symulowanym trawieniu *in vitro*, co wskazuje na dużą biodostępność antyoksydantów zawartych we wzbogacanym pieczywie. Wykonane we współpracy z Katedrą Biologii Komórki Uniwersytetu Jagiellońskiego analizy właściwości antyrakowych w badaniach na liniach komórkowych ludzkiego raka żołądka potwierdziły chemoprewencyjne właściwości chlebów wzbogacanych kiełkami brokułu. Jednakże przeprowadzone badania wykazały, że suplementacja pieczywa kiełkami brokułu ma pewne ograniczenia – zawarte w tym produkcie polifenole obniżają strawność białka i skrobi. Dodatkowo przeprowadzona ocena organoleptyczna wykazała, że dodatek kiełków brokułu do mąki jest akceptowalny w ilości maksymalnie 2% - czynnikiem limitującym jest zapach charakterystyczny dla obecnych w brokułach związków siarkowych.

Tematyka dotycząca fortyfikacji żywności w ramach współpracy z Katedrą Higieny Żywnienia Człowieka Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu zawarta jest również w pracy opublikowanej w Food Chemistry [D2-6] dotyczącej oceny w warunkach *in vivo* efektywności i bezpieczeństwa fortyfikacji ryżowych chlebów bezglutenowych. Dodatek składników o dużej zawartości substancji czynnych istotnie zwiększył potencjał antyoksydacyjny ryżowych chlebów bezglutenowych. Dodatkowo, 14-dniowe doświadczenie *in vivo* wykazało, że stosowanie wzbogacanego chleba powoduje zwiększenie potencjału antyoksydacyjnego osocza zwierząt laboratoryjnych oraz redukcję w nim poziomu trójglicerydów.

Kolejną tematyką badawczą podjętą we współpracy z dr hab. Wiesławem Wójcikiem, a obecnie kontynuowaną we współpracy z dr hab. Dariuszem Kowalczykiem jest zastosowanie powłok jadalnych w badaniach jakości i trwałości warzyw i owoców.

Prace **D1-3** i **D1-7** dotyczą wpływu powlekania świeżo krojonych plasterów warzyw (odpowiednio- pietruszki i marchwi) warstwą chitozanu na ich jakość podczas przechowywania w warunkach chłodniczych. Zastosowane powłoki chitozanowe powodowały zmniejszenie procesów transpiracji badanych warzyw co spowolniało utraty masy oraz procesy pozbiornego przejrzenia. Poza tym plastry pietruszki i marchwi pokryte chitozanem odznaczały się (w stosunku do próby

kontrolnej) większą aktywnością przeciwutleniającą wynikającą między innymi ze zwiększenia zawartości kwasów fenolowych i flawonoidów.

Badania dotyczące wpływu powlekania moreli na ich odporność na zakażenia grzybowe oraz właściwości fizykochemiczne przedstawione w pracy **D2-12** powstały we współpracy z Laboratorium Mikroskopii Konfokalnej i Elektronowej KUL oraz Katedrą Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywienia Człowieka UP w Lublinie. W wyżej wymienionych badaniach morele powlekano emulsją otrzymaną na bazie karboksymetylocelulozy i wosku candelilla z dodatkiem sorbinianu potasu. Powlekanie emulsją z dodatkiem sorbinianu potasu okazało się skuteczną metodą hamowania rozwoju fitopatogenów takich jak: *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Monilinia fructigena* oraz *Rhizopus nigricans*, w największym stopniu hamując rozwój *Botrytis cinerea* i *Monilinia fructigena*. Jednak powlekanie przyczyniło się do pogorszenia jakości sensorycznej badanych owoców w czasie ich przechowywania, co najprawdopodobniej spowodowane było zbyt dużą barierowością zastosowanych powłok w stosunku do tlenu, co powodowało wystąpienie procesów fermentacyjnych.

Podsumowując, w okresie zatrudnienia w Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie prowadzone przeze mnie badania związane są z następującymi zagadnieniami:

- badanie czynników determinujących indukcję odporności systemicznej roślin,
- zastosowanie elicytacji w kształtowaniu jakości prozdrowotnej żywności pochodzenia roślinnego,
- badanie zawartości związków bioaktywnych i wielokierunkowej aktywności biologicznej żywności pochodzenia roślinnego,
- badanie biodostępności aktywnych składników żywności,
- zastosowanie fortyfikacji w kształtowaniu potencjału nutraceutycznego żywności,
- ocena skuteczności wykorzystania powłok w zabezpieczaniu jakości przechowalniczej owoców i warzyw.

Mój dorobek naukowy, łącznie z pracami uwzględnionymi w cyklu publikacji powiązanych tematycznie stanowiących **Osiągnięcie** naukowe, obejmuje autorstwo lub współautorstwo 32 oryginalnych prac naukowo-badawczych, 3 opracowań przeglądowych, 3 rozdziałów w podręczniku akademickim oraz 36 komunikatów naukowych. Wszystkie szczegółowe informacje dotyczące wykazu opublikowanych prac naukowych przedstawiłam w załączniku V.

6. Zestawienie dorobku

Wskaźniki naukometyczne mojego dorobku naukowego (łącznie z osiągnięciem, będącym podstawą do ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego)

I p.	Rodzaj publikacji	Liczba publikacji			IF ^a	Punkty MNiSW ^b	
		Przed doktoratem	Po doktoracie	Ogółem			
1	Oryginalne prace twórcze	Prace indeksowane w bazie JCR	3	21	24	56,710	749
		Prace opublikowane w czasopiśmie nieindeksowanych w bazie JCR	4	3	7	-	58
2		Monografie naukowe	0	1	1	-	20
3		Publikacje niepuktowane	1	0	1	-	-
4		Rozdziały w monografiach naukowych	0	1	1	-	4
5		Rozdziały w podręcznikach	3		3	-	-
6	Komunikaty naukowe	Konferencje zagraniczne i międzynarodowe	2	6	8	-	-
		Konferencje krajowe	5	13	18	-	-
7		Dorobek publikacyjny ogółem	18	45	62	56,710	831

W tym oryginalne prace twórcze wchodzące w skład Osiągnięcia

7	8	21,357	260
----------	----------	---------------	------------

^a- obowiązujący w roku opublikowania (w przypadku publikacji z lat 2017-2018 przyjęto wartość IF wyliczoną dla roku 2016)

^b- zgodnie z listą czasopism punktowanych z roku opublikowania

Liczba cytowań publikacji według bazy:

- Web of Science (na dzień 29.01.2018): 201 (bez autocytowań: 156)

- Scopus (na dzień 29.01.2018): 252 (bez autocytowań: 202)

Indeks Hirscha według bazy:

- Web of Science: 6 (na dzień 29.01.2018)

- Scopus: 8 (na dzień 29.01.2018)

Lp.	Nazwa czasopisma	L-ba publikacji	IF	Pkt MNiSW
1	Acta Scientiarum Polonorum s. Biotechnologia	1	0	2
2	Acta Scientiarum Polonorum s. Technologia Alimentaria	3	0	45
3	Annales UMCS s. DDD	1	0	7
4	BioMed Research International	1	1,579	30
5	Bulletin of Entomological Research	1	1,758	35
6	Food Chemistry	7	27,301	264
7	Food Research International	1	3,086	40
8	Fresenius Environmental Bulletin	1	0,372	15
9	International Journal of Food Science and Technology	4	6,304	100
10	Journal of Food Biochemistry	1	1,00	20
11	Journal of Functional Foods	1	3,144	45
12	Journal of the Science of Food and Agriculture	1	2,463	35
13	Progress on chemistry and application of chitin and its derivatives	1	0	0
14	Saudi Journal of Biological Sciences	2	5,128	50
15	Scientia Horticulturae	3	4,385	100
16	Żywność. Nauka. Technologia. Jakość	2	0,190	19
17	Monografie naukowe	1	0	20
18	Rozdziały w monografiach naukowych	1	0	4
19	Rozdziały w podręcznikach akademickich	3	0	0
SUMA:		36	56,710	831

IF- wartość IF obowiązujące w roku opublikowania (w przypadku publikacji z lat 2017-2018 przyjęto wartość IF wyliczoną dla 2016 roku)

Pkt MNiSW - punkty zgodnie z rokiem publikacji

Lublin, dn. 30.01.2018 r.

Urszula Złotek