

**INSTYTUT FIZYKI JĄDROWEJ
im. Henryka Niewodniczańskiego
Polskiej Akademii Nauk
ul. Radzikowskiego 152, 31-342 Kraków**

www.ifj.edu.pl/publ/reports/2014/

Kraków, luty 2014

Raport Nr 2070/Ch

**Analiza lotnych związków organicznych
z powierzchni ludzkiej skóry**

Monika Skowron, Beata Grabowska-Polanowska,
Jacek Faber, Ireneusz Śliwka

Streszczenie

Analiza lotnych związków organicznych z powierzchni ludzkiej skóry

Zapach ludzkiego ciała jest najbardziej znanym i rozpoznawanym sygnałem świadczącym o ogólnym stanie higieny, jak również o prawidłowości procesów metabolicznych zachodzących w organizmie. Za charakterystyczny i specyficzny dla każdego człowieka zapach, odpowiedzialne są lotne związki organiczne. Źródłem pochodzenia lotnych związków organicznych, jest wydzielina gruczołów ekrynowych, apokrynowych i łojowych. Metabolizm związków wydzielanych przez w/w gruczoły, poprzez florę bakteryjną obecną na skórze oraz zachodzące reakcje utleniania, skutkują powstawaniem charakterystycznego dla każdego człowieka zapachu. Gruczoły potowe i łojowe są rozmieszczone nierównomiernie na powierzchni skóry, dlatego różne obszary ludzkiego ciała, wykazują odmienny „profil zapachowy”. Badania chromatograficzne wykazały, że na zapach człowieka składają się głównie niskocząsteczkowe kwasy tłuszczowe, aldehydy, ketony oraz związki zawierające azot i siarkę. Szczególną uwagę naukowców zwraca 2-nonenal, aldehyd, identyfikowany u osób powyżej 40 roku życia i uważany za potencjalny biomarker związany z wiekiem. Doniesienia literaturowe potwierdzają, że chromatografia gazowa wraz z nowoczesnymi technikami zateżania, może posłużyć do opracowania profilu zapachowego człowieka.

Summary

Analysis of volatile organic compounds from the surface of human skin

The scent of a human body is the most known and recognizable signal being both the evidence of the general hygiene status as well as the correctness of the metabolic processes taking place in a live organism. Volatile chemical compounds are responsible for the specific scent of every human. The source of the volatile chemical compounds is eccrine, apocrine and sebum glands. Metabolism of the compounds secreted by the glands mentioned above, though the bacterial flora present on the skin and occurring oxidation reactions result in the formation of the characteristic scent of each person. Sweat and sebaceous glands are distributed unevenly on the skin's surface, and therefore different areas of the human body, have different "flavour profiles". Chromatographic research has shown that human scent is composed mainly of low molecular-weight fatty acids, aldehydes, ketones and compounds containing nitrogen and sulphur. Additional attention of the scientists is attracted by 2-nonenal, an aldehyde, identified in people of over 40 years of age and considered as a potential biomarker associated with age. Literature reports confirm, that the gas chromatography bound together with modern techniques of concentration, can be used to develop a profile of the human scent.

Spis treści

| | | |
|--------|--|----|
| 1. | WPROWADZENIE | 4 |
| 1.1 | Cel i zakres pracy | 5 |
| 2. | RYS HISTORYCZNY | 7 |
| 3. | ANATOMIA I FIZJOLOGIA SKÓRY..... | 9 |
| 3.1. | Budowa ogólna..... | 9 |
| 3.1.1. | Naskórek..... | 10 |
| 3.1.2. | Skóra właściwa..... | 10 |
| 3.1.3. | Tkanka podskórna | 10 |
| 3.2. | Funkcje skóry | 10 |
| 3.3. | Różnice osobnicze..... | 12 |
| 3.4. | Starzenie się skóry..... | 13 |
| 4. | CZYM JEST ZAPACH CZŁOWIEKA? | 14 |
| 5. | FIZJOLOGIA ZAPACHU LUDZKIEGO CIAŁA | 17 |
| 5.1. | Gruzoły potowe ekrynowe (GSE) | 17 |
| 5.2. | Gruzoły potowe apokrynowe (GSA)..... | 18 |
| 5.3. | Gruzoły łojowe | 20 |
| 6. | FLORA BAKTERYJNA SKÓRY | 22 |
| 7. | ODCZYN SKÓRY CZŁOWIEKA | 24 |
| 8. | ZAPACH CZŁOWIEKA | 25 |
| 9. | ZAPACH PACH JAKO KLUCZOWY SKŁADNIK ZAPACHU LUDZKIEGO CIAŁA | 27 |
| 10. | METODY POBIERANIA PRÓBEK ZAPACHU ORAZ STOSOWANE METODY | 28 |
| 11. | AKTUALNE TRENDY BADAWCZE ZWIĄZANE Z ANALIZĄ SKÓRY | 30 |
| 12. | METODYKA BADAŃ LOTNYCH ZWIĄZKÓW ORGANICZNYCH..... | 31 |
| 13. | WYNIKI BADAŃ..... | 34 |
| 14. | PODSUMOWANIE | 37 |
| 15. | LITERATURA..... | 38 |

*Kiedy wąchamy zapach czyjegoś ciała,
tym, co wciągamy w usta i nozdrza, co
natychmiast obejmujemy w posiadanie,
jest ciało w swej najgłębszej, tajemnej
istocie w samej swej naturze”*

J.P. Sartre

1. WPROWADZENIE

Zapach ludzkiego ciała od zawsze określał styl życia, tożsamość człowieka i jego miejsce w strukturze społecznej. Siłę zapachu ludzkiego ciała podkreślał Patrick Süskind w powieści „Pachnidło” - „Ludzie [...]mogą zamykać oczy na wielkość, na grozę, na piękno, i mogą zamykać uszy na melodie albo bałamutne słowa. Ale nie mogą uciec przed zapachem. Zapach, bowiem jest bratem oddechu. Zapach wnika do ludzkiego wnętrza wraz z oddechem i ludzie nie mogą się przed nim obronić, jeżeli chcą żyć. I zapach idzie prosto do serc i tam w sposób kategoriyczny rozstrzyga o skłonności lub pogardzie, odrazie lub ochocie, miłości lub nienawiści. Kto ma władzę nad zapachami, ten ma władzę nad sercami ludzi” [1].

Śledząc zapiski historyczne, widać jak na przestrzeni wieków zmieniało się podejście do szeroko rozumianej higieny ludzkiego ciała, poczynając od kultuwowania przepoconego, brudnego ciała, aż po przesadną pedanterię [2]. W obecnych czasach, w okresie gwałtownego rozwoju przemysłu kosmetycznego, szerokiej gamy oferowanych produktów, naturalny zapach ludzkiego ciała, przestał być utożsamiany z przepoconym, brudnym i nieprzyjemnie pachnącym ciałem. Współczesny człowiek nie pachnie naturalnie. Presja współczesnej kultury i społeczeństwa wymusiła, że człowiek musi ukrywać swój naturalny, osobniczy zapach i zastępować go sztucznymi aromatami dostępnymi na rynku.

Dziś analiza zapachu ludzkiego ciała znalazła się w obszarze dociekań współczesnych naukowców, nie tylko, jako sygnał świadczący o ogólnym stanie higieny, ale przede wszystkim, jako wyznacznik prawidłowości procesów metabolicznych zachodzących w organizmie. O tym, że chory organizm pachnie inaczej, wiadomo było od dawna. Już w starożytnej Grecji, ojciec współczesnej medycyny Hipokrates, wiedział, że podczas oględzin chorego należy powąchać jego oddech i skórę [3].

Każdy człowiek ma niepowtarzalny zapach ciała, a o jego wyjątkowości decydują różnorodne czynniki, wynikające zarówno z cech wrodzonych, jak i stylu życia, ogólnego stanu zdrowia, wieku, płci, uprawianego zawodu, czy ogólnie środowiska, w którym przebywa [4-6]. Indywidualny, niepowtarzalny zapach człowieka często nazywany jest

„podpisem zapachowym”. Przychodzące na świat dzieci mają swój własny, charakterystyczny i niewystępujący już nigdy w trakcie późniejszego życia zapach. Zupełnie inaczej pachną ludzie starsi, inaczej pachną wegetarianie, a jeszcze inaczej osoby spożywające duże ilości ostrych przypraw.

Obecnie, w dobie rozwoju nowoczesnych technik analitycznych wiadomo, że za charakterystyczny i specyficzny dla każdego człowieka zapach, odpowiedzialne są lotne związki organiczne (LZO), występujące na śladowym poziomie stężeń, rzędu ppbv (nmol/l), czy pptv (pmol/l).

Źródłem pochodzenia LZO, odpowiedzialnych za tzw. „body odor”, jest wydzielina skórnych gruczołów ekrynowych, apokrynowych i łojowych [5,7]. Metabolizm związków wydzielanych przez gruczoły potowe i łojowe, poprzez florę bakteryjną obecną na powierzchni skóry oraz zachodzące na skórze reakcje utleniania, powoduje charakterystyczny dla każdego człowieka zapach [5-7].

W ostatnich latach notuje się wzrost zainteresowań badaniami nad lotnymi związkami organicznymi emitowanymi ze skóry oraz wykorzystaniem ich do próby opracowania profilu zapachowego człowieka charakterystycznego dla danej płci, wieku, czy istniejących chorób. Ponieważ gruczoły potowe i łojowe są rozmieszczone nierównomiernie na powierzchni skóry, dlatego różne obszary ludzkiego ciała, mogą wykazywać odmienny „profil zapachowy”. Duża różnorodność właściwości fizykochemicznych związków emitowanych z powierzchni skóry, sprawia, że nie jest możliwe zidentyfikowanie i ilościowe oznaczenie poszczególnych składników poprzez użycie jednej, prostej metody analitycznej.

Wśród wielu dostępnych metod analitycznych, znajdujących zastosowanie w analizie związków pochodzących ze skóry, najpopularniejsze z nich oparte są na technikach chromatograficznych. Do nowoczesnych technik znajdujących zastosowanie w analizach skóry, zaliczyć można: chromatografię gazową z różnym systemem detekcji, w tym chromatografię gazową sprzężoną ze spektrometrią mas (GC/MS), oraz spektrometrię ruchliwości jonów (IMS) (*ang. ion mobility spectrometry*).

1.1. Cel i zakres pracy

Przedmiotem pracy jest pokazanie możliwości wynikających z chromatograficznej analizy lotnych związków organicznych emitowanych z powierzchni skóry. Celem prowadzonych badań jest próba opracowania profilu zapachowego człowieka charakterystycznego dla danej płci, wieku, czy istniejących chorób.

Praca obejmuje następujące zagadnienia:

- Anatomia i fizjologia skóry
- Budowa i funkcje gruczołów potowych i łojowych
- Fizjologia zapachu ludzkiego ciała
- Metody pobierania próbek zapachu ludzkiego ciała
- Omówienie technik analitycznych stosowanych w analizie lotnych związków organicznych emitowanych z powierzchni ludzkiej skóry
- Badania własne – wyniki
- Perspektywy rozwoju badań związków emitowanych z powierzchni skóry.

2. RYS HISTORYCZNY

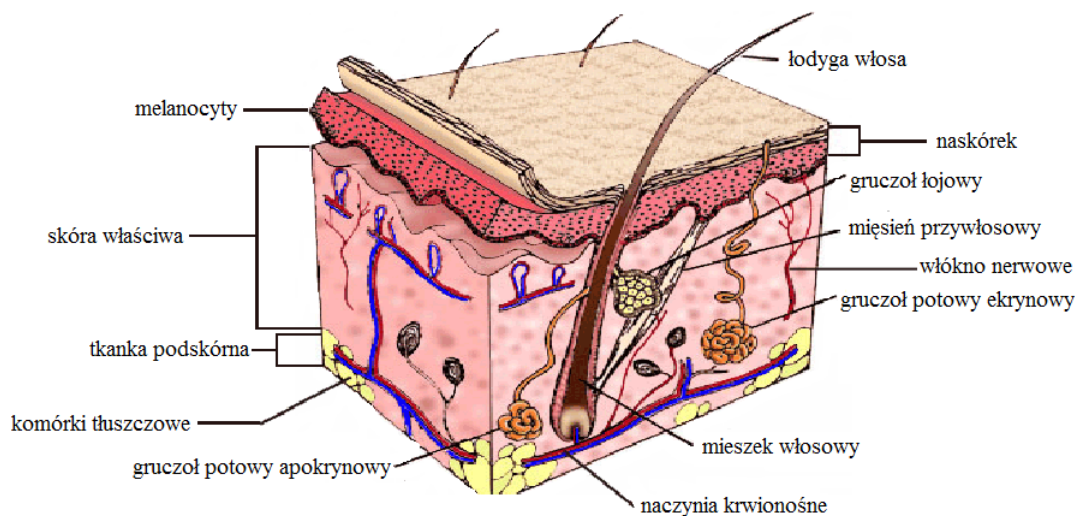
Pogląd, że najzdrowszy i najpiękniejszy jest zapach ludzkiego ciała, istniał od zarania dziejów. Na przestrzeni wieków zmieniało się podejście do szeroko rozumianej higieny ludzkiego ciała, każda kultura odrębnie i na swój sposób definiowała i interpretowała podejście do utrzymania higieny, poprzez mycie się, stosowanie kosmetyków, czy zmianę odzieży [2,5]. Grek żyjący w VIII wieku p.n.e., musiał umyć ręce przed modlitwą, kąpał się przed wyruszeniem w daleką podróż, a kiedy przychodził w odwiedziny do innego domu, ówczesne zasady *savoir vivre*, nakazywały obmycie rąk. Hipokrates, (V w p.n.e.) niejednokrotnie podkreślał walory kąpeli, wierząc, że „kombinacja zimnych i gorących ablucji zapewnia utrzymanie zdrowych proporcji bardzo ważnych humorów, to jest soków składowych ciała”. O ile Grecy tylko „doceniali” walory wody, tak dla Rzymian woda stała się obiektem kultu [2]. Rzymianin z I wieku naszej ery, w trosce o swoje ciało, zażywał, co najmniej dwugodzinnej kąpeli, w wodzie o różnej temperaturze, nagromadzony na ciele brud i pot, zeskrobywał za pomocą metalowego przyrządu, zwanego *strigilem*, oczyszczone w ten sposób ciało namaszczał oliwą [2,4]. Rzymianie wymyślili gorącą i wspólną kąpiel, w II wieku p.n.e. łaźnia stała się powszechnym elementem życia codziennego. Jedynymi stosowanymi wówczas akcesoriami kąpielowymi była oliwa, olejki oraz perfumy, mydła jeszcze nie znano. Rzymski poeta Owidiusz pisał: „Najpiękniejsza z kobiet gaśnie, jeśli zabiegów nie czyni dokoła swojej toalety”. W IV i V wieku n.e., brud na ciele człowieka, stał się dla chrześcijan istnym atrybutem świętości. Kultywowanie brudnego ciała, stanowiącego rodzaj umartwienia się, cieszył się szczególnym uznaniem wśród pustelników, mnichów i świętych. Jeśli wierzyć źródłom historycznym, na swój sposób brud wielbił św. Franciszek, a św. Agnieszka nie myła się w ogóle [2]. Kontakty z kulturą arabską w wyniku krucjat krzyżowych w Średniowieczu diametralnie zmieniły podejście do zasad higieny, pojawiły się poradniki dotyczące mycia ciała, twarzy, sposobu przepłukiwania ust. Mycie rąk, przed i po jedzeniu postrzegano, jako przejaw dobrego obycia i kultury. Średniowieczne poradniki dla matek, zalecały mycie dzieci w ciepłej wodzie, co najmniej raz dziennie. Św. Tomasz z Akwinu, postulował używanie w kościele kadzideł, ponieważ zapach zgromadzonych tam „może wzbudzić odrazę” [2]. Powtarzające się regularnie wybuchy epidemii w XVI i XVII wiecznej Europie, spowodowały paniczny wręcz lęk przed wodą. Istniał przesąd o zapadaniu na różne choroby, wynikające z częstego mycia się. Wierzono, że zalegająca na powierzchni ciała warstwa brudu, zapewnia zdrowie, chroniąc przed tzw. „morowym powietrzem”. Jedynymi, obowiązującymi wymogami ówczesnie pojmowanej higieny była sucha toaleta polegająca na zmianie bielizny oraz kamuflowanie brzydkiego zapachu ciała bardzo ciężkimi

perfumami z cybetu, ambry i piżma. Zmiana bielizny była czymś lepszym, bezpieczniejszym niż sama kąpiel. Lekarze wierzyli, że mycie szkodzi ciału na wiele sposobów, Theophraste Renaudot, ostrzegał przed kąpielą, twierdząc, że „wypełnia głowę waporami, jest wrogiem nerwów i więzadeł, ten, kto nigdy nie cierpiał na lumbago, pozna je po kąpeli”. Strach przed wodą był tak duży, że z konieczności myto tylko te części ciała, które były widoczne, a więc twarz i dłonie, zaś resztę brudnego ciała skrzętnie ukrywano pod ubraniem [2]. Ludwik XIV w oczach otoczenia uchodził za prawdziwego pedanta, bo zmieniał koszule trzy razy dziennie, nie myjąc się przy tym w ogóle, zaś Izabela, córka Filipa II w Hiszpanii, stała się narodowym bożyszczem, po tym, jak ślubowała nie zmieniać bielizny, przed końcem oblężenia miasta, co trwało ... 3 lata. Schyłek wieku XVIII i początek wieku XIX odmienił podejście do higieny osobistej, w kontekście nieprzyjemnych zapachów związanych z ludzkim ciałem. Pod bawełnianymi, prostymi ubraniami, trudniej było ukrywać brudne, brzydko pachnące ciało, toteż coraz więcej ludzi zaczęło się regularnie myć i dbać o higienę. Czystość ludzkiego ciała, stała się priorytetem. Lord Chesterfield w 1794 r., pisał: „Gruntowna higiena osobista jest niezbędnym warunkiem twego zdrowia, a także przyzwoitego zachowania względem innych ludzi. Mycie się i częste szorowanie wszystkich członków szczotką, będzie sprzyjać zarówno zdrowiu, jak i czystości”. Wierzano, że zgromadzony zbyt długo na skórze pot, „wróci do ciała i zaburzy równowagę, bądź doprowadzi do rozkładu soków w organizmie” [2]. Potem było już tylko lepiej... W latach osiemdziesiątych XIX wieku, Stany Zjednoczone, stały się najbardziej zagorzałym orędownikiem higieny na Zachodzie. Przewaga materialna i technologiczna, skutkująca gwałtownym rozwojem przemysłu kosmetycznego w Ameryce, całkowicie odmieniła podejście do higieny osobistej i zapachów oraz wyznaczyła kierunek nowo obowiązujących standardów higienicznych. Brudne, prze pocone ludzkie ciało, utożsamiano z zacofaniem, prymitywizmem, chaosem, czystość zaś uosabiała ład, moralność i kultywowany nade wszystko postęp. Stworzona przez Amerykanów koncepcja możliwie najczystszej i bezzapachowej świata, stała się narodową obsesją. Coraz bardziej rosła świadomość zapachu swojego i cudzego ciała. W Ameryce pojawiły się pierwsze mydła toaletowe (*Ivory*, *Palmolive*), dezodoranty, antyperspiranty, płyny do płukania jamy ustnej, podpaski, tampony, płyny do higieny intymnej, czy sam zwyczaj usuwania włosów spod pach, nóg, czy okolic intymnych [2].

3. ANATOMIA I FIZJOLOGIA SKÓRY

3.1. Budowa ogólna

Skóra (*cutis*) jest narządem o złożonej, warstwowej budowie, przystosowanym do pełnienia wielu różnorodnych czynności. Oslaniając organizm od zewnątrz, umożliwia jego kontaktowanie się ze środowiskiem zewnętrznym [6,8-11]. Skóra dzięki swej znacznej powierzchni (ok. 2m²), wysokiemu stopniowi zróżnicowania anatomicznego oraz swoistości pełnionych funkcji biologicznych, jest narządem niezbędnym do prawidłowego funkcjonowania organizmu, jako całości. Pod wieloma względami skóra człowieka różni się od skóry innych ssaków, cechuje ją: skąpe owłosienie, rozwój gruczołów ekrynowych, tendencja do zaniku gruczołów apokrynowych, bogate unaczynienie oraz rozwinięte funkcje termoregulacyjne. Skóra dorosłego człowieka waży około 3,5 – 4,5 kg, co stanowi około 6% masy ciała [8]. Ludzka skóra zbudowana jest z trzech warstw: naskórka (*epidermis*), skóry właściwej (*dermis*) i tkanki podskórnej (*subcutis*), w których rozmieszczone są przydatki skórne – mieszki włosowe, gruczoły potowe (ekrynowe i apokrynowe), gruczoły łojowe, naczynia krwionośne i zakończenia nerwowe [6,8]. Podczas oglądania skóry gołym okiem widać duże zróżnicowanie jej powierzchni, pod względem obecności owłosienia, wystających listewek i bruzd skórnych, stanu napięcia, czy też prześwitywania naczyń krwionośnych. Znamienne są również różnice w wyglądzie skóry spowodowane wiekiem: u dzieci i osób młodych skóra jest gładka i cienka, sprawia wrażenie aksamitnej, w osób starszych zaś skóra staje się sucha, a nawet szorstka, co jest następstwem zmniejszenia wydzielania łoju i zgrubienia zrogowaciałej warstwy naskórka [8]. Szczegółowa budowa skóry człowieka została przedstawiona na rysunku 1.



Rys.1. Budowa ludzkiej skóry [12]

3.1.1. Naskórek

Średnia grubość naskórka wynosi około 100 μm [6,8]. Naskórek cechuje bardzo zwarta budowa komórkowa, którą w ok. 80% stanowią keratynocyty, komórki z dużą ilością keratyny, białka odpowiedzialnego za tworzenie bariery ochronnej skóry. Oprócz keratynocytów, w naskórku znajdują się inne komórki, takie jak: melanocyty, komórki Langerhansa, komórki Merkla. Melanocyty to komórki produkujące melaninę, odpowiadające za ochronę przed promieniowaniem UV i uczestniczące w procesach oksydacyjno-redukcyjnych [8]. Zadaniem komórek Langerhansa stanowiących około 2-4 % komórek naskórka, jest zapewnienie ochrony immunologicznej skóry. Stanowiące 1% komórek naskórka, komórki Merkla odpowiadają za przekazywanie do układu nerwowego informacji o bodźcach mechanicznych [8]. Naskórek pełni przede wszystkim rolę ochronną, ale też ma duże znaczenie z estetycznego punktu widzenia.

3.1.2. Skóra właściwa

Skóra właściwa ma grubość od 0,5 do 2mm [6,8]. Skóra właściwa zbudowana jest z glikozaminoglikanów (kwas hialuronowy, siarczan chondroityny, siarczan dermatanu, siarczan heparanu i heparyna) i białek fibrylarnych (kolageny i elastyny). Zawiera również komórki łącznotkankowe, naczynia krwionośne, zakończenia nerwowe oraz przydatki skórne (gruczoły potowe, gruczoły łojowe i mieszki włosowe) [6,8,9]. Skóra właściwa pełni następujące funkcje: zapewnia właściwości mechaniczne skóry oraz służy za rezerwuar wody.

3.1.3. Tkanka podskórna

Tkanka podskórna zbudowana jest przede wszystkim z różnej wielkości komórek tłuszczowych (adipocytów), zgrupowanych w tzw. zraziki tłuszczu [8,9]. Pełni funkcje podporowe, chroni przed urazami mechanicznymi, jednocześnie stanowi magazyn energetyczny organizmu. Tkanka podskórna ma różną grubość na różnych częściach ciała, w niektórych nie występuje w ogóle np. na powiekach [8-10].

3.2. Funkcje skóry

Skóra jest największym organem ludzkiego ciała, pełniącym wiele różnorodnych i złożonych funkcji fizjologicznych [6-11]. Spełnia funkcję bariery chroniącej organizm przed działaniem czynników fizycznych, chemicznych, biologicznych i mechanicznych. Na skutek swojej sprężystości, rozciągliwości, a dodatkowo również obecności tłuszczu w tkance podskórnej, skóra wytrzymuje urazy mechaniczne. Warstwa zrogowaciała naskórka, dodatkowo chroni przed przedostawaniem się drobnoustrojów. Poprzez zestaw receptorów

(ucisku, dotyku, bólu, ciepła, zimna), umożliwia kontakt ze środowiskiem zewnętrznym i odbieranie wrażeń zmysłowych. Jest powłoką oddzielającą, a jednocześnie łączącą organizm ze środowiskiem zewnętrznym, bo odgrywając znaczącą rolę w gospodarce cieplnej, wodno-elektrolitowej i procesach odpornościowych, skóra utrzymuje równowagę między ustrojem, a środowiskiem zewnętrznym. Regulację cieplną zapewnia skórze dobrze rozwinięty układ naczyniowy.

W środowisku ciepłym, naczynia krwionośne rozszerzają się, zaś zwiększony dopływ krwi, umożliwia utratę zgromadzonego w organizmie ciepła, poprzez pocenie się i parowanie potu. W środowisku zimnym, naczynia krwionośne przeciwdziałając nadmiernej utracie ciepła zwężają się. W regulacji cieplnej niebagatelne znaczenie ma również czynność wydzielnicza gruczołów potowych. W środowisku ciepłym, warunkującym lepsze ukrwienie gruczołów potowych, wydzielają one pot (*sudor*), pojawiający się na skórze w postaci pojedynczych kropli. Gruczoły łojowe wydzielają zaś swoistą wydzielinę zwaną łojem (*sebum*). Łój zmieszany z potem tworzy na powierzchni skóry warstwę emulsji olejowo-wodnej, chroniącej skórę przed działaniem szkodliwych czynników zewnętrznych. Łój nadaje skórze pewien stan natłuszczenia, którego stopień zależy od rasy, wieku, płci i właściwości osobniczych [6,8]. Obecność warstwy łoju na powierzchni skóry, przeciwdziała wysychaniu skóry i jej pękaniu, zaś kwaśny odczyn zapewnia właściwości przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze. Powierzchnia skóry podlega ciągłemu procesowi złuszczenia się naskórka, dzienna ilość złuszczonego naskórka waha się w przedziale 6-14 g [8]. Patologiczny stan nadmiernego złuszczenia się naskórka, może skutkować zubożeniem organizmu w białko, co znajduje odzwierciedlenie w zmienionym proteinogramie krwi [8]. Na anatomiczny i fizykochemiczny stan skóry, znaczny wpływ wywierają gruczoły wydzielania wewnętrznego, np. hormony płciowe męskie zwiększają wydzielanie łoju, podczas, gdy hormony żeńskie, odpowiednio zmniejszają to wydzielanie. Niedoczynność tarczycy może prowadzić do obrzęku śluzakowatego skóry. Pod wpływem naświetlania słonecznego w skórze oprócz barwnika melaniny, powstaje również witamina D₃, działająca przeciwkrzywiczo. Skóra może wchłaniać ze swojej powierzchni niektóre związki chemiczne, np. witaminy rozpuszczalne w tłuszczach (A, D i K) oraz niektóre hormony stosowane w celach leczniczych. Skóra pełni również rolę narządu wewnątrzwydzielniczego, poprzez obecność komórek tłuszcznych magazynujących w cytoplazmie heparynę i histaminę. Skóra stanowi źródło doznań estetycznych, uzewnętrznia różne stany psychiczne, takie jak: radość, strach, gniew. Skóra twarzy często porównywana jest do ekranu, wiernie oddającego stan psychiczny ustroju [6,8].

3.3. Różnice osobnicze

Skóra, jako największy narząd człowieka, wykazuje różnice osobnicze. Na rozwój i ostateczne ukształtowanie się skóry, mają wpływ: czynniki genetyczne, wrodzone, dojrzewanie, hormony, starzenie się oraz warunki środowiskowe (klimat, nasłonecznienie, a nawet wykonywany zawód) [4,6-9]. Grubość skóry w zależności od okolic ciała waha się od 0,5 do 4 mm [6,8]. Najbardziej zmienna jest grubość naskórka, który pod wpływem regularnych, powtarzających się bodźców mechanicznych ulega zgrubieniu, zwłaszcza w obrębie dłoni i podeszew. Znacznym wahaniom podlega również grubość tkanki podskórnej, na co mają wpływ wiek, płeć, dieta, styl życia, czynniki rasowe itp. Najgrubsza jest skóra na dłoniach i podeszwach, najcieńsza zaś na powiekach, napletku i żołądzu prącia. Zazwyczaj dzieci, kobiety i osoby starsze mają cieńszą skórę. Zdolność skóry do rozciągania się jest miarą jej jędrności i napięcia. Napięcie skóry jest większe u dzieci, niż u osób starszych, największe zaś jest u osób młodych. Jedną z najistotniejszych cech odróżniających od siebie rasy ludzkie jest barwa skóry. Do substancji chemicznych odpowiedzialnych za zabarwienie skóry należą: melanina i inne barwniki (melanoidy), karoten, oksyhemoglobina i zredukowana hemoglobina [6,8]. Zabarwienie skóry, stanowi jedną z najistotniejszych cech, pozwalających na rozróżnienie poszczególnych ras ludzkich. U osób reprezentujących rasę białą, barwa skóry zmienia się w zależności od: wieku, płci, właściwości osobniczych i okolicy ciała. Dodatkowymi czynnikami wpływającymi na zabarwienie skóry są: naturalne zabarwienie włókien klejorodnych skóry, ilość melaniny w skórze, stopień ukrwienia skóry, obecność chorobowych lub przypadkowych barwników, które przedostały się do skóry. W fizjologicznych warunkach, skóra w wieku młodym jest najjaśniejsza, ciemniejsza u osób dojrzałych, najciemniejsza zaś u osób starszych. U kobiet z reguły skóra jest jaśniejsza niż u mężczyzn. Na zabarwienie skóry wpływa nie tylko melanina, ale również barwnik obecny w skórze właściwej wewnątrz komórek barwnikonośnych, tzw. melanoforów [6,8]. Zmienne zabarwienie skóry u osób reprezentujących poszczególne rasy, uwarunkowane jest przede wszystkim różną ilością melaniny, skupionej w warstwie rozrodczej naskórka. Kolor poszczególnych ziarenek pigmentu, waha się od koloru jasnożółtego do ciemnobrązowego. Zatem intensywność barwy skóry nie zależy od chemicznych różnic barwnika, lecz jedynie od stopnia skupienia ziarenek melaniny [8]. Na barwę skóry wpływa nie tylko melanina naskórkowa, ale również barwnik znajdujący się w skórze właściwej. Niesłuszny jest pogląd, mówiący o tym, że intensywność barwy skóry u osobników poszczególnych ras jest wprost proporcjonalna do stopnia nasłonecznienia.

3.4. Starzenie się skóry

W czasie starzenia rozciągliwość skóry zmniejsza się, ale rozerwać ją można przy większym obciążeniu. Spowodowane jest to wysychaniem skóry [6,8]. Skóra u młodych kobiet jest, co prawda łatwiej rozciągalna, ale rozrywa się przy mniejszym obciążeniu. Wraz z upływem wieku, stan napięcia skóry zmniejsza się, co w rezultacie prowadzi do jej zwiotczenia. Wiotczenie skóry spowodowane jest zubożeniem skóry w kwas hialuronowy. Wraz z wiekiem ilość kwasu hialuronowego zmniejsza się, zastępuje go kwas dermatanowy [6,8]. Stan suchości skóry obserwowany u ludzi starszych spowodowany jest mniejszą wodochłonnością kwasu dermatanowego.

4. CZYM JEST ZAPACH CZŁOWIEKA?

Indywidualny zapach każdego człowieka jest wypadkową następujących zapachów: zapachu skóry, zapachu skóry głowy oraz włosów, zapachu oddechu, zapachu pochodzącego z pach, zapachu stóp oraz zapachu okolic odbytu i narządów płciowych [4-7,11]. Wymienione składowe, w różnym stopniu składają się na zindywidualizowany i niepowtarzalny zapach każdego człowieka. Mówi się nawet, o czymś w rodzaju „podpisu zapachowego” (*ang. odor signature*), przy czym za najbardziej wyrazisty uważa się zapach pochodzący z pach, zapach skóry oraz zapach pochodzący z narządów płciowych [4-7]. Naturalny zapach ciała nie jest niezmienny, mimo, że w dużej mierze uwarunkowany jest genetycznie, pozostaje pod silnym wpływem czynników środowiskowych [5,7]. Stąd też, w miarę upływu lat, „indywidualna kompozycja zapachowa” danego człowieka przechodzi wiele modyfikacji o charakterze rozwojowym. Wszyscy wiedzą, że niemowlęta i małe dzieci mają swój charakterystyczny zapach ciała, zupełnie inaczej pachną ludzie starsi. Dużo mówi się o charakterystycznym „zapachu osoby starszej”, w Japonii zyskał swoje miano „*kareishū*”, [13].

Ciekawym zjawiskiem, jest umiejętność rozpoznawania przez matkę swojego dziecka, właśnie po zapachu, jakie ono wydziela, podobnie, jak i umiejętność zapamiętywania i rozróżniania przez nowo narodzone dzieci zapachu matki [14].

Do czynników niegenetycznych, mających wpływ na zróżnicowanie zapachu każdego człowieka, zalicza się: m.in. dietę, fazę cyklu menstruacyjnego u kobiet, stres, choroby (cukrzyca, choroby nerek i wątroby) i różnorodne infekcje [4,5,7].

Wydzielany przez człowieka zapach zależy również od rodzaju i ilości flory bakteryjnej obecnej na powierzchni skóry [5,6,15,16]. Rozważając różnice osobnicze w profilu zapachowym danego człowieka, dużo uwagi poświęca się diecie. Przeprowadzone, w 2006r badania Havlicka i Lenochovy [5], dowiodły, że osoby przebywające na diecie pozbawionej czerwonego mięsa, pachną o wiele subtelniej, niż osoby jedzące mięso. W aspekcie ewolucji, wyniki badań, wydają się dość zaskakujące. Należałoby oczekiwać, typowy łowca, spożywający duże ilości mięsa, gdzie charakteryzował się bardziej intensywnym i atrakcyjnym dla płci przeciwnej zapachem. Badania dowodzą, że im więcej warzyw i owoców w naszej diecie, im mniej mięsa, tłuszczów zwierzęcych i nabiału, tym przyjemniej pachnie skóra. Żywność wysoko przetworzona również intensyfikuje zapach skóry. Świeże soki z cytrusów oraz takie korzenne przyprawy, jak: cynamon, kardamon oraz goździki uważane są za „naturalne perfumy”.

Specyficzny zapach skórze mogą nadawać również zażywane leki, tak jest w przypadku stosowanych miejscowo preparatów przeciwtrądzikowych, zawierających

nadtlenek benzoilu [4,5]. Dieta uboga w cynk i wit B₁₂, bądź zaburzenia związane z ich wchłanianiem, również skutkują powstawaniem brzydkiego zapachu ciała.

Przykry zapach skóry może też wynikać niekiedy z wadliwego metabolizmu pewnych pokarmów, np. produkty bogate w cholinę, zawartą w jajkach, wątróbce, czy roślinach strączkowych powodują niekiedy specyficzny, brzydki zapach skóry [4,5,17].

Również predyspozycje genetyczne mogą być kluczowe dla zapachu ludzkiego ciała. Częsteczki układu zgodności tkankowej MHC (*ang. Major Histocompatibility Complex*), które są determinowane genetycznie i należą do systemu odporności również warunkują zapach człowieka. Obecne w narządzie lemieszowym receptory, analizują zapach napotkanych osób w aspekcie przynależności do konkretnego układu MHC.

Wśród społeczności pierwotnych zapach ciała był wyróżnikiem przynależności do danej wspólnoty i miejsca [4,5]. Zamieszkali w Puszczy Amazońskiej Indianie z plemienia Desana wierzą, że każde plemię pachnie w charakterystyczny dla siebie sposób, co częściowo wynika z dziedziczenia, a po części z diety. Wyraźny podział na ludzi biednych i zamożnych już w Starożytności znajdował odzwierciedlenie w zapachach. Już wtedy ludzi zamożnych utożsamiano z ładnymi, przyjemnymi zapachami. Sokrates wskazał na różnice zapachowe występujące między wolnymi obywatelami, a niewolnikami [4]. Przez stulecia zapach ludzkiego ciała zdradzał nie tylko pozycję społeczną, przynależność grupową, ale również i wykonywany zawód [4,5].

Do dziś zapach człowieka wiele mówi o jego miejscu zamieszkania, zarówno w sensie geograficznym, jak i socjalnym. Inaczej pachną mieszkańcy wsi, inaczej mieszkańcy starych kamienic, a inaczej właściciele nowo wybudowanych domów [4].

W aspekcie niniejszych rozważań, zapach ludzkiego ciała jest najbardziej znanym i rozpoznawanym sygnałem świadczącym zarówno o ogólnym stanie higieny, jak również o prawidłowości procesów metabolicznych zachodzących w organizmie. Fakt, że choroba zmienia metabolizm organizmu, będzie skutkowało powstaniem charakterystycznego zapachu oddechu, moczu, czy też potu. Idea badania zapachu ludzkiego ciała, jako odzwierciedlenia procesów metabolicznych zachodzących wewnątrz organizmu, ma swój początek w Starożytności za czasów Hipokratesa. Na dalekim wschodzie w tradycyjnej medycynie chińskiej, liczącej ponad 5000 lat, obwąchiwanie całego ciała pacjenta, a zwłaszcza ocena zapachu jego oddechu, nadal odgrywa istotną rolę w stawianiu diagnozy.

Mimo, że współczesna medycyna w swojej diagnostyce, nie uwzględnia zmienionego chorobą zapachu ciała, tak w dermatologii znajduje już zastosowanie. Przykładem schorzenia, wiążącego się z nieprzyjemnym, zmienionym zapachem ciała są niektóre odmiany *ichthyosis*,

genetycznej choroby popularnie zwanej „rybią łuską”, polegającej na zaburzeniach w procesie rogowacenia naskórka. Aktywność metaboliczna bakterii kolonizujących złuszczone fragmenty naskórka, skutkuje powstaniem charakterystycznego i specyficznego dla tego schorzenia, zapachu skóry [18,19].

Naturalny zapach ludzkiego ciała w dużym stopniu mogą też modyfikować nawyki higieniczne [4,8]. Okazuje się, że używanie detergentów o działaniu antybakteryjnym, zmniejsza produkcję feromonów steroidowych np. androstenonu [4,8]. Dzieje się tak, dlatego, że lotne związki wydzielane wraz z potem, w wyniku działalności bakterii aerobowych, przekształcane są z mniej wonnych (androstadienol i androstadienon) w bardziej wonne androsteny (androstenol i androstenon).

Zaburzenia prawidłowego postrzegania naturalnego zapachu ciała, występują w niektórych schorzeniach, jak: choroba Huntingtona, czy Parkinsona. Osoby cierpiące na w/w schorzenia są przekonane o wydzielaniu odrażającego dla otoczenia zapachu, przez co spychani są na margines życia społecznego. Chorzy żyją z poczuciem upokorzenia z powodu swojego rzekomego brzydkiego zapachu ciała [4].

Dziś, w dobie rozwoju nowoczesnych technik analitycznych wiadomo, że za charakterystyczny i specyficzny dla każdego człowieka zapach, odpowiedzialne są lotne związki organiczne, występujące na śladowym poziomie stężeń, (rzędu ppb-ppt). Źródłem pochodzenia lotnych związków organicznych, odpowiedzialnych za tzw. „body odor”, jest wydzielina gruczołów ekrynowych, apokrynowych i łojowych. Metabolizm związków wydzielanych przez gruczoły potowe i łojowe, poprzez florę bakteryjną obecną na powierzchni skóry oraz zachodzące na skórze reakcje utleniania, skutkują powstawaniem charakterystycznego dla każdego człowieka zapachu. Gruczoły potowe i łojowe są rozmieszczone nierównomiernie na powierzchni skóry, dlatego różne obszary ludzkiego ciała, mogą wykazywać odmienny „profil zapachowy”.

Rozpatrując potencjalne mechanizmy związane z powstawaniem charakterystycznego „ludzkiego” zapachu, nie sposób pominąć udziału białek OBP (*Odorant Binding Proteins*), które wykazują zdolność do wiązania substancji zapachowych. [20].

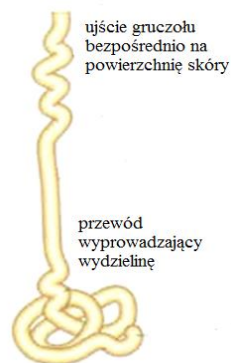
5. FIZJOLOGIA ZAPACHU LUDZKIEGO CIAŁA

W skórze wyróżnia się trzy rodzaje gruczołów zróżnicowanych pod względem budowy, składu produkowanej wydzieliny oraz sposobu wytwarzania i wyprowadzania wydzieliny na powierzchnię skóry. Do gruczołów skórnych zalicza się: gruczoły potowe ekrynowe, gruczoły potowe apokrynowe oraz gruczoły łojowe [4-8,11,21,22].

5.1. Gruczoły potowe ekrynowe (GSE)

Gruczoły potowe ekrynowe GSE (*ang. eccrine sweat glands*) są najliczniej występującymi gruczołami skórnymi. Na powierzchni skóry występuje ich około 2 – 5 mln, średnio 144–339/cm². Rozmieszczenie tych gruczołów w różnych miejscach ciała człowieka nie jest jednakowe. Największe zagęszczenie gruczołów ekrynowych jest na dłoniach i stopach (620±120/cm²), najmniejsze zaś na tułowiu i kończynach (150±15/cm²) [6-8].

Gruczoł ekrynowy ma budowę kanalikową, ciągnącą się od tkanki podskórnej do naskórka. Schemat budowy gruczołu ekrynowego przedstawiono na rysunku 2.



Rys.2. Budowa gruczołu ekrynowego [23]

Gruczoły ekrynowe, należą do grupy gruczołów merokrynowych, czyli takich, których komórki, w procesie wydzielania potu, zachowują swoją całkowitą integralność, nie ulegają zmianom, czy uszkodzeniu. Pot wydzielany jest w sposób stały na zasadzie egzocytozy. Gruczoły ekrynowe nie funkcjonują pojedynczo, tworzą połączony układ wspólnie działający i odpowiadający w czasie. Rozwijają się już w 4-5 miesiącu życia płodowego. Człowiek rodzi się już ze ściśle określoną ilością gruczołów ekrynowych, jednak w miarę upływu lat, stopień zagęszczenia gruczołów ekrynowych na powierzchni skóry, znacząco się zmniejsza (tabela 1).

Tabela 1. Średnia gęstość gruczołów ekrynowych na cm^2 w poszczególnych kategoriach wiekowych [6,21,22].

| Wiek organizmu | Średnia gęstość gruczołów na cm^2 |
|------------------------|--|
| 23 tygodniowy płód | 2970 |
| noworodek | 1560 |
| dziecko 11-18 miesięcy | 500 |
| osoba dorosła | 120 |

Na zagęszczenie gruczołów ekrynowych wpływ ma nie tylko wiek, ale również i płeć [6,21,22], co przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Porównanie ilości gruczołów ekrynowych u kobiet i mężczyzn na różnych częściach ciała [6].

| Część ciała | ilość gruczołów na cm^2 | |
|-------------|----------------------------------|-----------|
| | kobieta | mężczyzna |
| pachwiny | 118 | 80 |
| brzuch | 149 | 149 |
| podbrzusze | 101 | 137 |
| plecy | 92 | 145 |

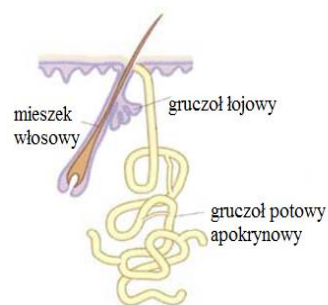
Wydzielany przez gruczoły ekrynowe pot, jest bezbarwną, przezroczystą, bezzapachową cieczą o takiej samej gęstości, jaką ma woda. Składa się w 99% z wody, pozostały 1% to chlorek sodu, mocznik, amoniak, kwas mlekowy, kwas pirogronowy, aminokwasy. Gruczoły ekrynowe służą termoregulacji oraz wydalaniu produktów przemiany materii [6-8,21,22]. Wydzielanie potu przez gruczoły ekrynowe nasila się, gdy temperatura otoczenia wzrasta powyżej 30°C albo w przypadku przegrzania organizmu. Na funkcjonowanie gruczołów ekrynowych ma również wpływ praca ośrodkowego układu nerwowego. Stąd też wynika tzw. pocenie emocjonalne, dotyczące dłoni, stóp, czy twarzy.

Pot ekrynowy jest ważnym składnikiem płaszcza wodno lipidowego i odpowiada za utrzymanie prawidłowego pH skóry, przez obecność interleukiny, pełni również funkcje immunologiczne. Z uwagi na małą zawartość składników organicznych, pot ekrynowy nie stanowi pożywki dla flory bakteryjnej [6-8].

5.2. Gruczoły potowe apokrynowe (GSA)

Gruczoły potowe apokrynowe GSA (*ang. apocrine sweat glands*) to drugi rodzaj gruczołów potowych. Pot apokrynowy jest wydzielany w niewielkich ilościach

w powtarzających się cyklach związanych z okresowym opróżnianiem i napełnianiem gruczołu. Pot apokrynowy nie odgrywa żadnej roli w termoregulacji ustroju [6-8,21,22]. Cechą charakterystyczną gruczołów potowych apokrynowych jest fakt, że wydzielina gromadzi się w szczytowej części komórki, która następnie odrywa się i dostaje do światła odcinka wydzielniczego. W takim sposobie wydzielania, dochodzi do uszkodzenia części komórki gruczołu, z pozostałej części następuje odbudowa powstałego ubytku i cykl wydzielniczy powtarza się. Gruczoł apokrynowy otoczony jest komórkami mioepitelialnymi, które kurcząc się pod wpływem impulsów układu nerwowego współczulnego, powodują wyciśnięcie potu. Gruczoły apokrynowe uchodzą do mieszka włosowego [6-8,21,22]. Schemat gruczołu apokrynowego przedstawiono na rysunku 3.



Rys.3. Budowa gruczołu apokrynowego [24]

Gruczoły apokrynowe zlokalizowane są w okolicy narządów płciowych, wżgórka łonowego, wokół pępka, na klatce piersiowej, na gruczołach piersiowych, na małżowinach usznych oraz w dole pachowym. Pod wpływem wysokiej temperatury lub gwałtownego napływu adrenaliny, gruczoły apokrynowe, wydzielają bladożółtą, lekko pachnącą wydzielinę [6-8]. Pot apokrynowy zawiera lipoproteiny i komórki resztkowe, łatwo ulega rozkładowi pod wpływem flory bakteryjnej obecnej na powierzchni skóry, dając w efekcie przykrą woń. Co ważne, skład potu apokrynowego zależy od płci, zabarwienia skóry oraz rodzaju stosowanej diety [6-8,21,22]. Gruczoły apokrynowe rozwijają się w okresie prenatalnym, ale zaczynają funkcjonować dopiero w okresie dojrzewania płciowego, pod wpływem hormonów płciowych. Stanowią część atawistycznego mechanizmu związanego z zachowaniami seksualnymi, wydzielaniem feromonów, u zwierząt ze znaczeniem terytorium itp. czynności.

Ilość gruczołów apokrynowych jest różna u poszczególnych ras ludzkich. Azjaci mają znacznie mniej gruczołów apokrynowych w stosunku do rasy białej, zaś u ludzi ciemnoskórych, liczba gruczołów jest trzykrotnie wyższa w stosunku do rasy białej [6,8]. Pojawiają się doniesienia, że różnice w zapachu skóry różnych ras ludzkich, podyktowane są różnicami w sposobie funkcjonowania gruczołów apokrynowych, a różne unerwienie

gruczołów u ludzi rasy białej i czarnej, skutkuje odmiennym składem potu [6]. Porównanie składu potu ekrynowego i apokrynowego zestawiono w tabeli 3.

Tabela 3. Porównanie składu potu ekrynowego i apokrynowego [6].

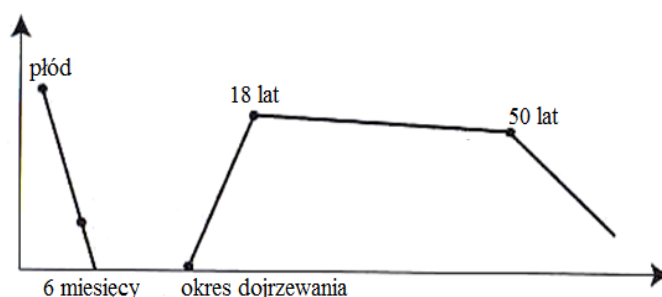
| | gruczoły ekrynowe | gruczoły apokrynowe |
|-------------------|-------------------|---------------------|
| sole mineralne | + | + |
| mocznik | + | ++ |
| amoniak | + | ++ |
| kwas mlekowy | + | 0 |
| lipoproteiny | 0 | ++ |
| lipidy łożowe | 0 | + |
| resztki komórkowe | 0 | + |
| enzymy | + | + |
| aminokwasy | + | 0 |
| kwas urokaninowy | + | 0 |
| cholesterol | 0 | + |
| siarczan | | |
| androsteronu | 0 | + |
| siarczan DHEA | 0 | + |

Niezależnie od gruczołów potowych pewna ilość wody jest przez cały czas wydzielana drogą transepidermalną z ich pominięciem, wydzielanie to związane z nawilżaniem powierzchniowych warstw skóry, określa się, jako transepidermalną utratę wody TEWL (*ang. transepidermal water loss*). Wydzielanie przez skórę innych związków niż woda podlega ścisłej kontroli i jest przy tym wysoce selektywne. Przykładem są gruczoły łożowe [6,8].

5.3. Gruczoły łożowe

Gruczoły łożowe można podzielić na gruczoły rozwojowe związane z mieszkem włosa, (stanowiące ok 90% wszystkich gruczołów łożowych) i całkowicie nie zależne od włosów. Wolne gruczoły łożowe niezwiązane z włosem są szczególnie liczne w obrębie warg, brodawki sutkowej, pępka, prącia, warg sromowych i w okolicach odbytu [6,8]. Gruczoły łożowe występują prawie na całej powierzchni skóry, brak ich jedynie na dłoniach i stopach. Górna część klatki piersiowej, pleców, twarzy i czoło, mogą mieć, aż 400-900 gruczołów/cm² [6]. Gruczoły łożowe są typu pęcherzykowatego, należą do grupy gruczołów holokrynowych. Komórki gruczołów holokrynowych całe przekształcają się w wydzielinę, po czym odłączają się od nabłonka gruczołowego, co w efekcie prowadzi do powstania ubytków w odcinkach wydzielniczych, które muszą być uzupełniane przez podziały pozostałych komórek. Gruczoły holokrynowe muszą być, zatem wielowarstwowe.

Ujścia gruczołów znajdują się w mieszkach włosowych. Gruczoły łojowe rozpoczynają swą działalność w okresie embrionalnym, między 13, a 15 tygodniem życia. Łój (*sebum*) jest pierwszą wydzieliną ludzkiego ciała, która chroni skórę rozwijającego się organizmu, przed nasiąkaniem wodami płodowymi. Wydzielina gruczołu łojowego człowieka, zawiera: mono, di i triglicerydy typu oleistego – nadające łojowi lepkość, wolne kwasy tłuszczowe powstające z rozkładu triglicerydów, woski i wyższe estry, skwalen, estry cholesterolu i wolny cholesterol [6-8]. Wydzielanie łoju nie jest stałe, zmienia się wraz z temperaturą otoczenia (każdy wzrost temperatury o 1°C, zwiększa wydzielanie łoju o 10%), zmienia się również wraz z cyklem menstruacyjnym kobiet (zwiększa się w drugiej części cyklu) [6]. Wydzielanie łoju zależy od wieku, płci i dodatkowo gospodarki hormonalnej. Rozwinięta w okresie embrionalnym, aktywność gruczołów łojowych zanika około 6 miesiąca życia, ponowny wzrost aktywności gruczołów następuje w okresie dojrzewania. Swoją maksymalną aktywność gruczoły łojowe osiągają w wieku dorosłym, utrzymując się na maksymalnym poziomie do około 50 roku życia. Po 50 roku życia, obserwuje się ponowny spadek aktywności gruczołów łojowych [6]. Zależność obrazującą ilość wydzielanego łoju w funkcji wieku człowieka, zobrazowano na rysunku 4.



Rys.4. Ilość wydzielanego łoju w funkcji wieku [6].

Wydzielanie łoju u kobiet jest mniejsze niż u mężczyzn. Skóra azjatycka, nazywana „żółta”, wydziela znacznie mniej łoju, niż skóra rasy kaukaskiej (białej) [6].

Wydzielony na skórę i włosy łój po zmieszaniu z potem i lipidami powierzchniowych warstw naskórka tworzy emulsję typu W/O, określaną, jako wodno lipidowy płaszcz skóry. Stanowi on najbardziej zewnętrzną warstwę ochronną, hamującą nadmierną ucieczkę wody z naskórka, jest również dodatkowym czynnikiem barierowym chroniącym skórę przed działaniem czynników mechanicznych. W połączeniu ze złuszczonej komórkami naskórka tworzy doskonałą pożywkę dla saprofitycznych mikroorganizmów bytujących na powierzchni skóry [6-8].

6. FLORA BAKTERYJNA SKÓRY

Skóra człowieka fizjologicznie zasiedlana jest przez mikroorganizmy stale bytujące na skórze (tzw. mikroflora stała, odnawialna) oraz mikroorganizmy występujące okresowo (tzw. mikroflora przejściowa) [6,15,16]. Mikroflora stała (*ang. resident skin flora*), żyje i rozmnaża się na skórze, tworząc mikrokolonie w szczelinach skóry, mieszkach włosowych, ujściach gruczołów potowych i łojowych. Drobnoustroje stanowiące tzw. fizjologiczną mikroflorę, są zwykle bardzo dobrze przystosowane do warunków, jakie panują w zajmowanych przez nie przestrzeniach, stanowią dobrze zorganizowaną „społeczność”. Mikroflora przejściowa (*ang. transient skin flora*) to flora obca dla skóry, mająca z nią luźny i przejściowy kontakt. Drobnoustroje, które tworzą ten rodzaj mikroflory, mogą pochodzić od innych ludzi, zwierząt lub ze środowiska, w jakim żyje i pracuje człowiek. Mikroflora przejściowa często wykazuje wysoką chorobotwórczość [15,16]. Każda zmiana w składzie jakościowym i ilościowym flory bakteryjnej na powierzchni skóry, może prowadzić do poważnych, niekorzystnych dla człowieka, zmian patologicznych, szczególnie dla rozwoju infekcji skóry. Skład ilościowy i jakościowy mikroorganizmów zasiedlających ludzką skórę, zależy przede wszystkim od właściwości fizjologicznych zasiedlanych miejsc, czyli m.in. od temperatury, pH, wilgotności, czy potencjału oksydoredukcyjnego [6,15,16]. Na skład mikroflory skórnej wpływa również wiek, ogólny stan odporności organizmu, określone nawyki żywieniowe i higieniczne, jak również stosowane leki.

Skóra noworodka, wkrótce po narodzinach, kolonizowana jest przez bakterie, drożdże i grzyby, których ilość zmienia się wraz z wiekiem [6,15]. Na skórze małego dziecka bytują gronkowce białe, złociste, paciorkowce, maczugowce i pałeczki okrężnicy. W okresie dorastania flora skórna wzbogaca się o pakietowce. Stałą florę bakteryjną u osób dorosłych, tworzą głównie bakterie Gram-dodatnie, wśród których wyróżnić można:

- Rodzaj *Staphylococcus*, zwłaszcza *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. aureus*
- Rodzaj *Enterococcus faecalis*
- Rodzaj *Micrococcus*
- Rodzaj *Corynebacterium* na całej powierzchni ciała
- Rodzaj *Propionibacterium* – *P. acnes*, *P. granulosum*, *P. avidum*
- Rodzaj *Pseudomonas aeruginosa*

U osób starszych obserwowany jest wzrost liczby *Candida albicans*.

Grzybicza flora skórna jest mniej liczna, niż flora bakteryjna i rozwija się dopiero w specyficznych warunkach, takich, jak: zmiana wilgotności, zmiana pH, czy stany

chorobowe. Wykrywa się głównie: *Pityrosporum ovale*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Epidermophyton* oraz *Candida albicans* [6,15].

Okolicami, najbardziej zasiedlonymi przez mikroorganizmy są: ręce, owłosiona skóra głowy, pachy, czoło, kończyny oraz plecy [6]. Rozmieszczenie bakterii na powierzchni różnych części ciała przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Rozmieszczenie bakterii na powierzchni różnych części ciała [6].

| część ciała | ilość bakterii/cm ² |
|-------------|--------------------------------|
| głowa | 1.45×10^6 |
| pachy | 2.41×10^6 |
| przedramię | 4.5×10^2 |
| plecy | 3.1×10^2 |
| czoło | 0.2×10^6 |

Wykonywano eksperyment [25], mający na celu wyjaśnienie, które szczepy bakteryjne, przyczyniają się do powstania charakterystycznego zapachu potu. W tym celu, do próbek bezwonnego potu dodawano różne szczepy bakterii, wśród których były m.in.: *S. epidermidis*, *S. aureus*, *Corynebacterium minutissimum* i *Arthrobacter sp.* Wyniki eksperymentu pokazały, że charakterystyczny zapach potu powstał na pożywce zawierającej szczep: *S. epidermidis* oraz *S. aureus* [25]. W innych badaniach, zwrócono uwagę na obecność kwasu tłuszczowego (E) -3metylo-2-heksenowego, zidentyfikowanego w próbkach potu pobranych od mężczyzn. Sugeruje się, że w/w związek o charakterystycznym, przykrym zapachu, jest produkowany przez bakterie z grupy *Corynebacterium* [7, 25].

7. ODCZYN SKÓRY CZŁOWIEKA

Prawidłowy odczyn skóry człowieka waha się w zależności od miejsca na ciele i wieku, pomiędzy 4.8 a 6.0. Kwaśny odczyn skóry jest spowodowany aktywnością hydrolaz w naskórku, w wyniku, czego powstaje wiele kwasów rozpuszczalnych w wodzie, zwłaszcza kwas urokaninowy, pirolidonokarboksylowy i mlekowy. Uważa się, że kwasy tłuszczowe nie biorą udziału w tworzeniu pH skóry [6-8].

pH skóry czarnej jest bardziej kwaśne niż skóry białej, przyjmuje wartości od 4.8 do 5.2. pH skóry wzrasta wraz z wiekiem, u kobiet jest bardziej zasadowe. Kwaśny odczyn skóry jest jej ważną cechą, gdyż stanowi system obrony przed patologicznymi mikroorganizmami, których obecność mogłaby spowodować zachwianie naturalnej równowagi mikrobiologicznej, a przez to schorzenia dermatologiczne. Mimo, że skóra ludzka ma dość skuteczne „właściwości obronne”, często naturalne warunki fizjologiczne na powierzchni naskórka, ulegają zachwianiu wskutek niewłaściwej pielęgnacji. Wrogiem, fizjologicznego kwaśnego odczynu skóry są przede wszystkim roztwory alkoholowe stosowane w tonikach, wodach toaletowych, jak również zasadowe, odtłuszczające mydła, zmieniające pH skóry na zasadowe. Co prawda, działanie gruczołów potowych, warunkuje powrót do pH kwaśnego po około 2h po umyciu się, ale powtarzające się cyklicznie „niekorzystne” działania z użyciem nadmiernych ilości kosmetyków na bazie alkoholu, stosowanie zasadowych mydeł, będą zaburzały prawidłowe funkcjonowanie skóry. Fakt ten, jest szczególnie istotny u małych dzieci i osób starszych, gdzie „wiekowo” funkcje ochronne skóry są mocno ograniczone [6-8].

Zdaniem dr Pawła Grzesiowskiego (Kierownik Zakładu Profilaktyki Zakażeń), „wyjaławianie skóry myciem, a potem drażnienie peelingami oraz szorstkimi ręcznikami powoduje mikrourazy naskórka i pozbawia nas dobrotliwych szczepów gronkowców, co zmienia pH skóry, ułatwia inwazję grzybom i alergenom, które w normalnych warunkach nie są groźne”.

8. ZAPACH CZŁOWIEKA

Charakterystyczny dla każdego człowieka zapach, pochodzi niemal wyłącznie z rozkładu potu apokrynowego, w dalszej kolejności z rozkładu potu ekrynowego i wydzieliny gruczołów łojowych. Znaczącą rolę w tworzeniu indywidualnej „kompozycji zapachowej człowieka”, odgrywa również mikroflora bytująca na skórze [15,16,26]. Do lotnych związków organicznych emitowanych z powierzchni ludzkiej skóry należą: węglowodory, aldehydy, ketony, kwasy tłuszczowe, estry oraz związki zawierające azot i siarkę [27].

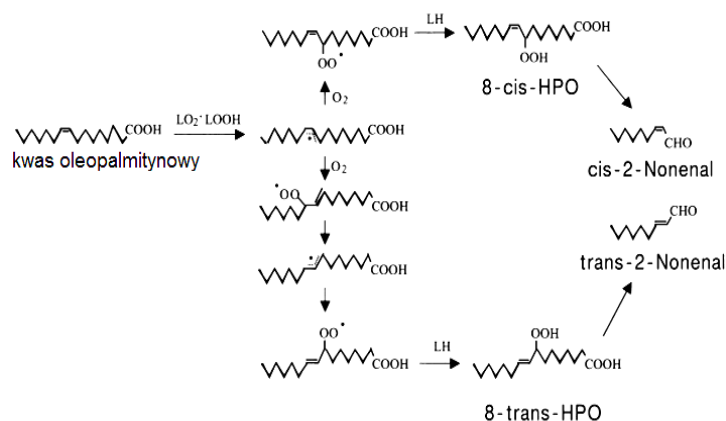
Przeprowadzone w 2008r. badania, dotyczące analizy lotnych związków organicznych emitowanych ze skóry, pozwoliły na oznaczenie prawie 100 związków, należących do różnych klas związków chemicznych, wśród nich znalazły się głównie aldehydy (C8-C12), ketony, alkohole, kwasy [7]. Podjęto się próby opracowania profilu zapachowego człowieka charakterystycznego dla wieku, płci, czy określonego miejsca na ciele. Dla wybranych związków autorom pracy udało się ustalić korelacje związane z wiekiem, czy miejscem pobierania próbek zapachu [7]. Inni autorzy [28], używając metody chromatografii gazowej i spektrometrii mas, badali, w jakim stopniu zmienia się profil zapachowy człowieka w zależności od danej pory roku.

Badania [6,7,26] wykazały, że przykra, mdląca woń potu apokrynowego, jest efektem powstawania krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, takich, jak: kaprynowy, kaprylowy, walerianowy, oraz nasyconych kwasów tłuszczowych: 3-metylo-2-palmitynowego, kwasów 2-metylo C₆-C₁₀ oraz kwasów 4-etylo C₅-C₁₁. W próbkach potu pobranych spod pach mężczyzn, zidentyfikowano związki należące do lotnych sterydów, np.: androstenol, androsteron i ich pochodne. Poziom stężeń lotnych sterydów w próbkach potu pobieranych u mężczyzn, był znacząco wyższy w stosunku do próbek pobieranych od kobiet [6,7].

Jeszcze inni badacze, zwracają uwagę na obecność kwasu 3-hydroksy-3-metyloheksanowego, związku o charakterystycznym zapachu, wnoszącym istotny wkład w tzw. „body odor” [25]. Udział w tworzeniu indywidualnej kompozycji zapachowej każdego człowieka ma również skóra głowy i włosy. Badania chromatograficzne skóry głowy i włosów, z zastosowaniem techniki „*headspace*”, pozwoliły na identyfikację około 50 związków, należących do różnych klas chemicznych: aldehydów, ketonów, kwasów tłuszczowych i laktonów. Uważa się, że związkami decydującymi o zapachu skóry głowy i włosów są: kwas izowalerianowy, kwas izomasłowy, kwas pentanowy, kwas heksanowy, pentanal, heptanal oraz indol [25]. Chromatografię gazową wykorzystano również do badania lotnych związków organicznych, emitowanych ze stóp. Wyniki badań pokazały, że zapach

stóp, wywołują przede wszystkim niskocząsteczkowe kwasy tłuszczowe oraz kwas izowalerianowy [25].

Szczególną uwagę naukowców zwraca 2-nonenal, nienasycony aldehyd o tłusto trawiastym zapachu, identyfikowany w próbkach zapachu, pobranych od osób powyżej 40 roku życia i uważany za potencjalny biomarker procesu starzenia [25,29]. Przeprowadzone badania wykazały, że ilość 2-nonenalu uwalnianego ze skóry, wzrasta wraz z wiekiem. Nie zaobserwowano obecności 2-nonenalu w próbkach pobieranych od osób poniżej 40 roku życia. Schemat obrazujący przypuszczalny mechanizm powstawania 2-nonenalu w organizmie człowieka przedstawiono na rysunku 5.



Rys.5. Schemat procesu powstawania 2-nonenalu w organizmie [25]

Pojawiają się doniesienia naukowe, o obecności kwasu trans-3-metylo-2-heksenowego w pocie osób chorych na schizofrenię. Badania mające na celu stwierdzenie obecności w/w związku, pozwalają na rozróżnienie osób chorych na schizofrenię od osób symulujących schorzenie [30].

Badania wykonane techniką IMS w Innsbrucku [11], pozwoliły na zidentyfikowanie w próbkach pobranych ze skóry, następujących związków: 3-metylo-2-butenalu, octan sec-butyli, 6-metylo-5-hepten-2-onu, benzaldehydu, oktanalu, 2-etyloheksanolu, nonanal oraz dekanalu na poziomie ppb. Zdaniem autorów [11], aldehydy produkowane przez skórę są produktem peroksydacji lipidów. Sugeruje się, że dekanal, aldehyd identyfikowany w każdej badanej próbce, jest produktem powstającym w wyniku szeregu reakcji dekompozycji kwasu oleinowego, będącego składnikiem łoju. Badania z zastosowaniem techniki IMS, pozwoliły oszacować ilości wydzielanych przez skórę związków w czasie: i tak wartości dla wybranych substancji przedstawiają się następująco: 0.12-1.82 $\mu\text{g}/(\text{godz m}^2)$ dla dekanalu, 0.16-1.96 $\mu\text{g}/(\text{godz m}^2)$ dla nonenal i 0.87-1.53 $\mu\text{g}/(\text{godz m}^2)$ dla oktanalu [11].

9. ZAPACH PACH, JAKO KLUCZOWY SKŁADNIK ZAPACHU LUDZKIEGO CIAŁA

Zdaniem wielu autorów [4,5] „narząd pachowy”, wyewoluował, jako miejsce produkcji różnych substancji zapachowych, w tym również atraktantów, jako konsekwencja przyjęcia w toku ewolucji wyprostowanej postawy ciała i związanej z tym dwunożnej lokomocji. Postuluje się, więc, że zapach pach, jest zapachem, który decyduje o zapachu całego ciała. Pod pachami obecne są wszystkie trzy rodzaje gruczołów: ekrynowe, apokrynowe i łojowe [6-8]. Obfite owłosienie pachowe, stanowi dodatkową powierzchnię dla rozwoju i funkcjonowania mikroorganizmów, odpowiedzialnych za powstawanie charakterystycznego „ludzkiego” zapachu.

Wykonywano eksperymenty, mające na celu wykazanie wpływu obecności owłosienia pachowego na intensywność zapachu ciała. Badania wykazały, że po dokładnym umyciu niewygolonej pachy, typowy charakterystyczny zapach, pojawia się już po ok. 6h, natomiast, w przypadku pachy ogolonej, nieprzyjemny zapach, pojawia się dopiero po 24 h [5]. Badano również zapach w grupie mężczyzn, w dwóch sytuacjach, kiedy mężczyźni golili pachy oraz w sytuacji, gdzie nie wykonywali tego zabiegu [5]. Pobrane próbki zapachowe, oceniane były pod kątem intensywności i atrakcyjności zapachu. Wyniki badań pokazały, że zapach pochodzący z wygolonych pach, był oceniany, jako bardziej przyjemny i mniej intensywny w porównaniu do zapachu tych samych mężczyzn, ale z niewygolonymi pachami.

Na uwagę zasługuje również fakt, że flora bakteryjna w dole pachowym kobiet różni się znacząco, od tej u mężczyzn: u kobiet jest zdominowana przez gram-dodatnie ziarniaki (*Micrococcaceae ssp.*), zaś u mężczyzn dominują maczugowce (*Corynebacterium ssp.*) [5,6].

W świetle powyższych rozważań, trudno się, zatem dziwić, że ze względu na różną florę bakteryjną u obu płci, analiza zapachu z narządu pachowego umożliwia identyfikację płci. Zapach dołu pachowego często określany jest mianem zapachu piżmowego. Mimo, że wydzielina gruczołów apokrynowych jest bezwonna w chwili pojawienia się na skórze, to już po 6 godz. flora bakteryjna zasiedlająca skórę, powoduje rozpad wydzielanych substancji na kwasy tłuszczowe (np. kwas kaprylowy i kapronowy) oraz substancje steroidowe (np. androstenol) o charakterystycznym zapachu [4-8]. Dodatkowo badania wykazały, że ilość lotnych steroidów w próbkach potu pobranych spod pach mężczyzn jest znacząco wyższa w stosunku do próbek „kobiecych”.

10. METODY POBIERANIA PRÓBEK ZAPACHU ORAZ STOSOWANE METODY ANALITYCZNE

Badania zapachu emitowanego z ludzkiego ciała, wymagają przestrzegania przez osoby uczestniczące w eksperymencie ściśle określonych zasad tzw. higieny zapachowej [7,25,26,28,31]. Przed rozpoczęciem eksperymentu, prosi się uczestników o wypranie bielizny osobistej i pościelowej w bezzapachowym proszku do prania oraz o używanie bezpośrednio przed eksperymentem oraz w trakcie trwania badania bezzapachowych środków kosmetycznych i pielęgnacyjnych, chodzi tutaj przede wszystkim o nieużywanie dezodorantów, perfum, antyperspirantów, pachnących mydeł, kremów, szamponów, balsamów, żeli, czy innych zapachowych produktów. Drugim ograniczeniem zalecanym podczas badania zapachu ludzkiego ciała jest wyeliminowanie z diety składników, które potencjalnie mogą mieć wpływ na wydzielany przez człowieka zapach. Takimi składnikami są: czosnek, cebula, ostre przyprawy, zioła, rośliny kapustne, seler, szparagi, jagnięcina, pieprz, ocet, sery pleśniowe, rzodkiewka, fermentowane przetwory mleczne, ryby [5,25-28]. Kolejnym zaleceniem jest rezygnacja z palenia papierosów oraz spożywania napojów alkoholowych. Wszystkie zalecenia mają na celu zachowanie jak najbardziej naturalnego zapachu ciała.

Pobieranie próbek zapachu skóry, odbywa się w różny sposób. Często używa się do tego celu, zwykłych białych, bawełnianych T-shirtów służących, jako pewnego rodzaju „sorbent” [25]. Uczestnicy eksperymentu zakładają przygotowane koszulki bezpośrednio na skórę i noszą je przez ściśle określony czas (np. przez jedną lub dwie kolejne noce). Innym, również częstym sposobem pozyskiwania próbek zapachu są specjalne waciki (*ang. cotton pads*), umieszczane za pomocą bezwonnej taśmy (plastra) na powierzchni skóry [28]. Zaleca się, aby miejsce, na które zostanie naklejony „wacik”, uprzednio zdezynfekować spirytusem. Próbkę zapachu pobiera się z miejsc niezranionych, niezmienionych chorobowo i pozbawionych znamion skórnych. Po określonym czasie ekspozycji, waciki „nasączone” naturalnym zapachem człowieka, umieszcza się w szczelnych fiolkach. Zdaniem wielu autorów, sposób pozyskiwania próbek zapachowych skóry, z zastosowaniem wacików, wiąże się z mniejszym narażeniem na zanieczyszczenie próbek, substancjami pochodzenia egzogenne. Autorzy pracy [26,28], badali przydatność różnych rodzajów materiałów sorpcyjnych (bawełna i jej pochodne) do analiz lotnych związków organicznych z powierzchni ludzkiej skóry. W badaniach brano pod uwagę łatwość sorbowania się na danym materiale, zdolność desorpcji, jak również badano efekt tła, jaki dają poszczególne materiały.

Innymi proponowanymi w literaturze rozwiązaniami, jest użycie techniki SPME (*ang. solid phase microextraction*) z ekspozycją włókna nad powierzchnią skóry [11,27,28,31], bądź zastosowanie ekstrakcji rozpuszczalnikowej [7].

Do nowoczesnych metod analizy lotnych związków organicznych emitowanych ze skóry, zaliczyć można: chromatografię gazową z różnymi systemami detekcji, w tym chromatografię gazową sprzężoną ze spektrometrią mas (GC/MS), oraz spektrometrię ruchliwości jonów (IMS) (*ang. ion mobility spectrometry*).

11. AKTUALNE TRENDY BADAWCZE ZWIĄZANE Z ANALIZĄ SKÓRY

Wiele laboratoriów na świecie podejmuje prace związane z opracowywaniem metodyki analizy związków pochodzących ze skóry. Podejmowane są próby opracowywania profili zapachowych skóry zdrowej oraz zmienionej chorobowo [7,11,26,28,29,32].

W latach 90 w prestiżowym amerykańskim czasopiśmie Lancet, opisano historię psa, który nieustannie obwąchiwał znamię na nodze swojego właściciela. Wykonane późniejsze badanie lekarskie wykazało, że niepokojące psa znamię było jednym z najbardziej złośliwych nowotworów skóry. Podobny przypadek zaobserwowano na wystawie psów rasowych, gdzie pies uporczywie pokładał się u stóp zasiadającej w jury sędzi. Okazało się, że kobieta chorowała na czerniaka skóry, o którym nie wiedziała. Powyższe przypadki świadczą, o tym, że zmieniona chorobowo tkanka nowotworowa wytwarza charakterystyczne substancje. Pies, którego zmysł węchu jest ok. 100 tys. razy wrażliwszy od zmysłu człowieka, potrafi wyczuć specyficzny dla danego schorzenia zapach, już na wczesnym etapie rozwoju choroby, kiedy szanse na wyleczenie są stosunkowo wysokie. Obecnie w Polsce badania nad wykorzystaniem psiego węchu w diagnostyce prowadzi prof. Tadeusz Jeziński (Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN, Jastrzębiec), który tresuje psy do rozpoznawania różnych schorzeń, w tym jednego z najgroźniejszych nowotworów skóry, jakim jest czerniak [32].

Badania związków emitowanych ze skóry nie ograniczają się jednak tylko do celów diagnostycznych. Z danych literaturowych wynika, że podejmowane są próby opracowywania profili zapachowych człowieka, zróżnicowanych pod względem wieku, płci, rasy, czy miejsca, z jakiego pobrana jest próbka potu [6,11,26,28,29]. Opracowanie profilu zapachowego człowieka, zapewne znajdzie odzwierciedlenie w opracowaniu nanosensorów. W różnych ośrodkach na świecie trwają intensywne badania nad opracowaniem nanosensorów, mających zastosowanie w ratownictwie w poszukiwaniu osób uwięzionych pod zwalami gruzu w wyniku trzęsień ziemi, huraganów, czy katastrof budowlanych [33].

12. METODYKA BADAŃ LOTNYCH ZWIĄZKÓW ORGANICZNYCH ZE SKÓRY W ZAKŁADZIE FIZYKOCHEMII EKOSYSTEMÓW IFJ PAN

Wstępne badania lotnych związków organicznych emitowanych z powierzchni ludzkiej skóry, wykonywano w Zakładzie Fizykochemii Ekosystemów pod kierownictwem dr hab. Ireneusza Śliwki. Badaniem objęto grupę 14 osób, w tym 11 kobiet i 3 mężczyzn. Wiek ochotników mieścił się w zakresie od 5-75 lat, średnia wieku ok. 40 lat. Każdy uczestnik eksperymentu otrzymywał do wypełnienia ankietę dotyczącą wieku, płci, stosowanych leków, przebytych i istniejących chorób, w tym chorób skóry oraz rodzaju stosowanych kosmetyków. Aby zweryfikować ewentualne zachowania niezgodne z procedurami badawczymi, osoby badane proszone były o uczciwe wypełnienie kwestionariusza. Jako sorbent użyty został płatek kosmetyczny, będący 100% bawełną.

Uwzględniając doniesienia literaturowe, dotyczące ilości bakterii obecnych na danej części ciała, rozmieszczenia gruczołów potowych i łojowych, jako miejsce pobierania próbek, wybrano zewnętrzną część ramienia. Próbki pobierano z miejsc niezranionych, niezmienionych chorobowo i pozbawionych znamion skórnych. Płatki naklejało się 1h po wieczornej kąpieli średnio na okres ok. 10h. Bawełniany płatek nałożony bezpośrednio na powierzchnię skóry, przykrywano warstwą folii polietylenowej. Całość mocowano do skóry bezzapachowym plastrem opatrunkowym. Po 10 h okresie ekspozycji płatka na skórze, „opatrunek” odklejało się i przy pomocy pęsety związano i zamykano w szczelnej fiolce (*Supelco*). Procedura pobierania próbek zapachu skóry z użyciem płatka kosmetycznego, została przedstawiona na rysunku 6.



Rys.6. Procedura pobierania próbek zapachu skóry z użyciem płatka kosmetycznego.

Lotne związki organiczne obecne w próbkach pobranych ze skóry występują na śladowym poziomie stężeń (ppb, ppt), dlatego konieczne było użycie wybranej techniki

zateżenia i wzbogacania analitów. W prezentowanym eksperymencie zastosowano technikę termicznej desorpcji (TD) (*ang. thermal desorption*).

Technika termicznej desorpcji polega na adsorpcji analitów na dobranym wcześniej sorbencie. Sorbent umieszczany jest w stalowej lub szklanej rurce w ilości kilku mg. Adsorpcja analitów następuje na sorbencie wypełniającym rurkę podczas zasysania odpowiedniej objętości próbki (za pomocą pompki – metoda dynamiczna) lub przez ekspozycję rurki w badanym środowisku (metoda statyczna). Zastosowanie termicznej desorpcji umożliwia zateżenie analitów ze znacznie większej objętości próbki (do kilku litrów) niż w przypadku techniki SPME.

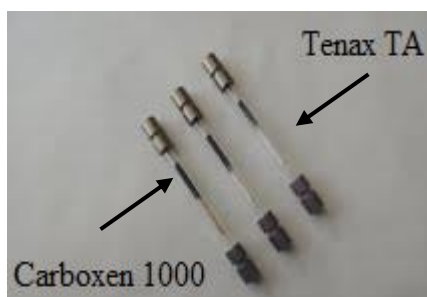
W badaniach lotnych związków organicznych, emitowanych z powierzchni skóry, zastosowano rurki adsorpcyjne wykonane ze szkła boro krzemowego wypełnionego podwójnym sorbentem: Carboxenem 1000 i Tenaxem TA (60/80 mesh) (*Markes*).

Szczegółowa charakterystyka sorbentów użytych do badań przedstawiono w tabeli poniżej (tabela5).

Tabela 5. Charakterystyka sorbentów użytych do zateżenia LZO z powierzchni skóry.

| Rodzaj sorbenta | Zakres stosowalności | Maksymalna temperatura [°C] | Powierzchnia właściwa sorbenta [m ² /g] | Gęstość sorbenta [g/ml] |
|-----------------|----------------------|-----------------------------|--|-------------------------|
| Carboxen 1000 | C2-C5 | 400 | 1200 | 0,44 |
| Tenax TA | C7-C26 | 350 | 35 | 0,25 |

Wygląd samodzielnie przygotowywanych rurek sorpcyjnych przedstawiono na rysunku 7.



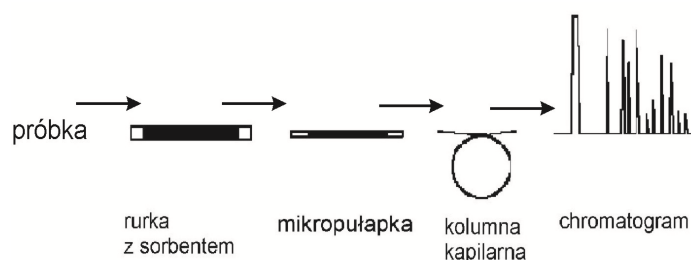
Rys.7. Rurki sorpcyjne wypełnione podwójnym sorbentem.

Zamknięty w fiolce płatek, inkubowano w temp. 37°C przez okres 20 minut. Po okresie inkubacji, przez fiolkę o objętości 15ml przepuszczano ze stałą szybkością 100 ml powietrza syntetycznego. Sposób wypłukiwania analitów przy zastosowaniu pompki i gazoszczelnej strzykawki (*Hamilton*), zilustrowano na rysunku 8.



Rys.8. Desorpcja i zażęzanie analitów zaadsorbowanych na płątku kosmetycznym.

Anality „wyplukane” z płątku kierowane były na rurkę sorpcyjną, gdzie ulegały zażęzeniu. Przygotowaną w ten sposób rurkę umieszczano w piecu desorbera, gdzie pod wpływem wysokiej temperatury następowało uwolnienie lotnych analitów z powierzchni złoża. Desorpcja następuje w dwóch etapach. W pierwszym kroku anality są usuwane z sorbenta przez wygrzewanie rurki przez 5 min w 280°C i ponownie adsorbowane na kwarcowej mikropułapce (*ang. cold trap*) – rurce wypełnionej węglowymi sitami molekularnymi. Mikropułapka chłodzona jest za pomocą ogniwa Peltiera, które umożliwia szybkie chłodzenie i ogrzewanie kwarcowej rurki w zakresie temperatur: -10 do 325°C. Zastosowanie mikropułapki zapewnia punktowe dozowanie próbki, przez co unika się „efektu rozmycia”. Ogólny schemat procesu termicznej desorpcji wraz z uwzględnieniem mikropułapki został przedstawiony na rysunku 9.

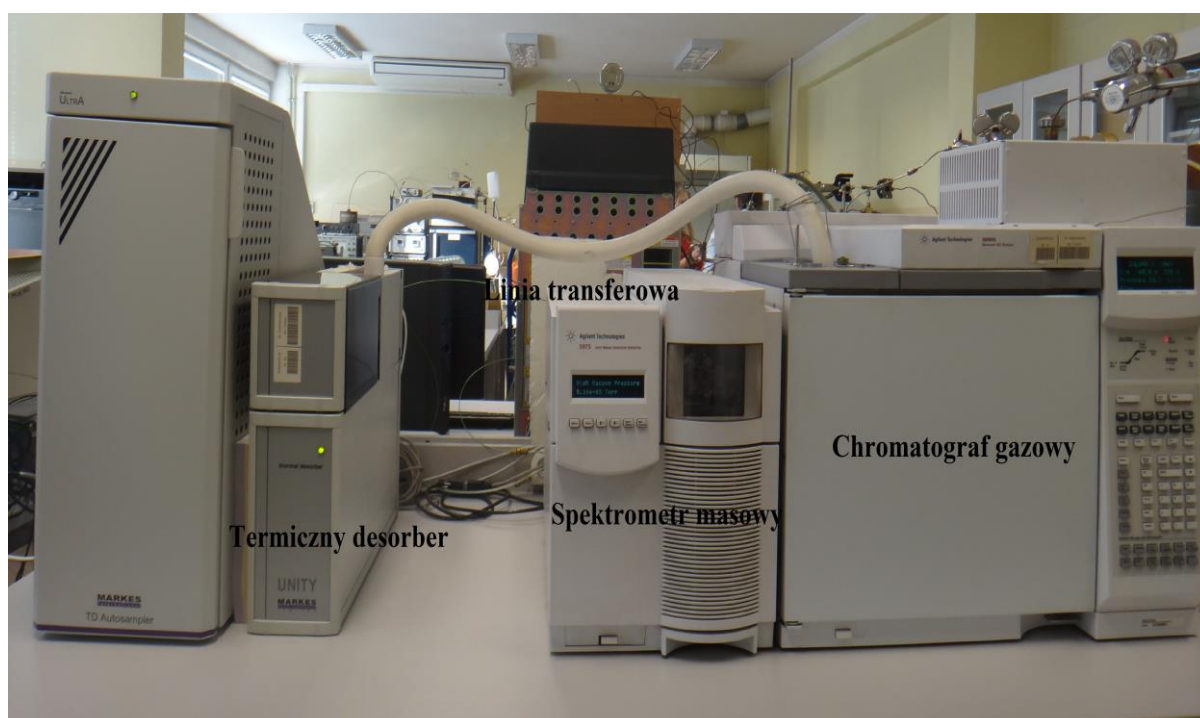


Rys.9. Schemat procesu termicznej desorpcji.

Z mikropułapki anality są desorbowane i transportowane przez linię transferową (temp. 140°C) do dozownika chromatografu, a stamtąd do kolumny chromatograficznej, gdzie następuje ich rozdział i detekcja. Do analizy lotnych związków organicznych,

emitowanych z powierzchni ludzkiej skóry, zastosowano chromatograf gazowy (*Agilent Technologies 7890*), wyposażony w spektrometr masowy (*Agilent Technologies MS 5975*). Anality rozdzielane były na kolumnie kapilarnej typu DB-1 (60m x 0.32 mm, pokrytej 5 μ m warstwą dimetylopolisiloksanu). Kolumna pracowała w trybie stało ciśnieniowym. Zastosowano następujący program temperaturowy: 60°C (6 min), ogrzewanie 5°C/min do 120°C, ogrzewanie 15°C/min do 230°C (6 min). Dla identyfikacji lotnych związków organicznych z powierzchni skóry, wykorzystano komputerową bibliotekę widm NIST (Willey). Spektrometr masowy w trybie SCAN, skanował w zakresie mas 32-150 amu.

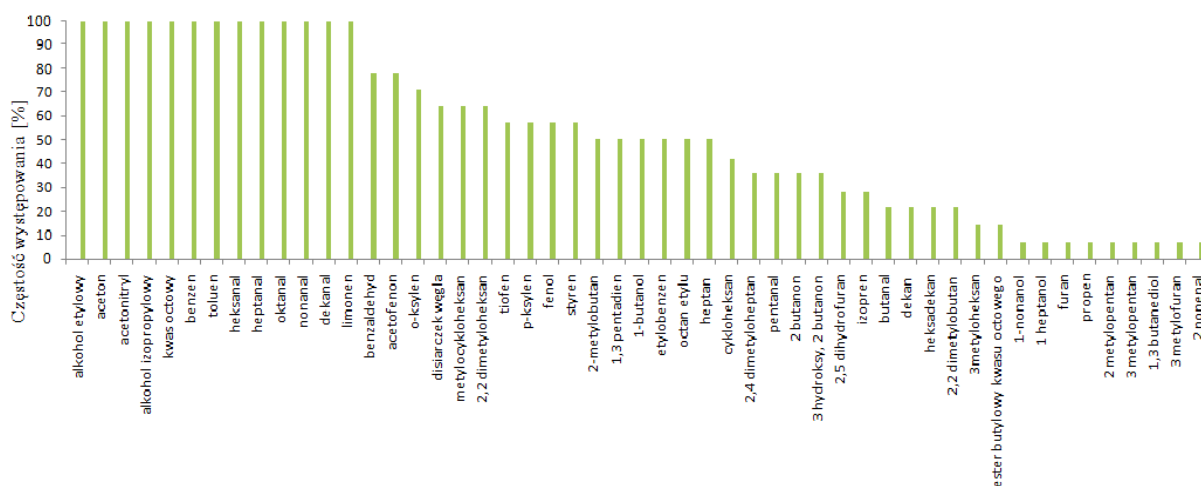
Na rysunku 10 przedstawiono zdjęcie układu analitycznego pracującego w IFJ PAN Kraków.



Rys. 10. Chromatograf gazowy sprzężony ze spektrometrem mas. Dodatkowo zaznaczono linię transferową łączącą termiczny desorber z chromatografem gazowym.

13. WYNIKI BADAŃ

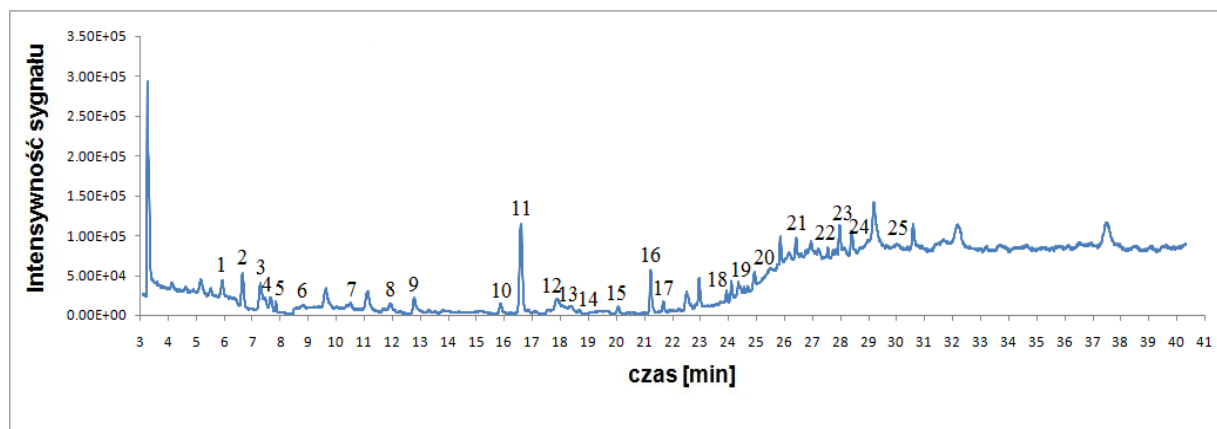
Opracowana metoda pobierania i zateżania lotnych związków organicznych emitowanych z powierzchni ludzkiej skóry, pozwoliła na identyfikację szerokiego spektrum związków. Łącznie w badanej 14 osobowej grupie ochotników, zidentyfikowano około 50 związków, należących do różnych klas chemicznych. Wśród rozpoznanych związków znalazły się: węglowodory, alkohole, aldehydy, ketony oraz estry. Rysunek 11 przedstawia częstość występowania danego związku w próbce pobranej z powierzchni skóry.



Rys.11. Częstość wykrywania lotnych związków organicznych w próbkach pobranych ze skóry.

U wszystkich badanych osób stwierdzono obecność następujących substancji: alkoholu etylowego, acetonu, alkoholu izopropylowego, kwasu octowego, benzenu, toluenu, heksanal, heptanal, oktanal, nonanal, dekanal oraz limonenu.

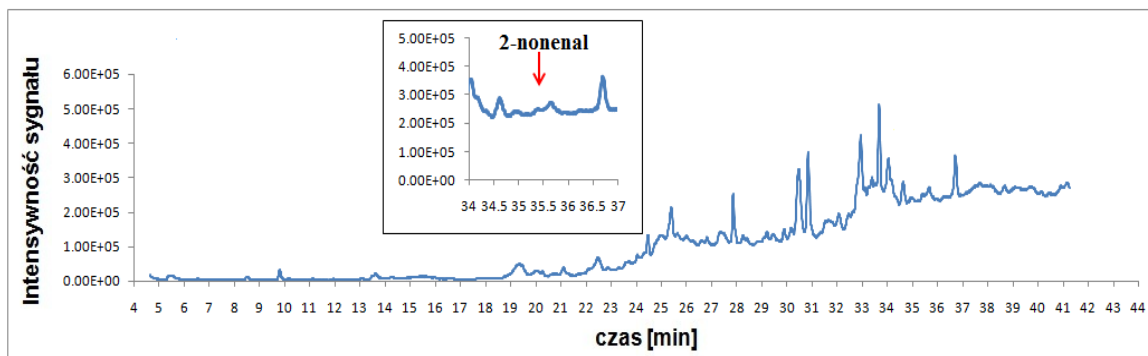
Rysunek 12 przedstawia zarejestrowany w trybie SCAN chromatogram wykonany techniką TD/GC/MS próbki pobranej ze skóry 35 letniego mężczyzny. Próbka została pobrana zgodnie z opisaną powyżej procedurą.



Rys. 12. Chromatogram wykonany techniką TD/GC/MS próbki pobranej ze skóry 35 letniego mężczyzny. Kolejnymi cyframi oznaczono następujące związki:

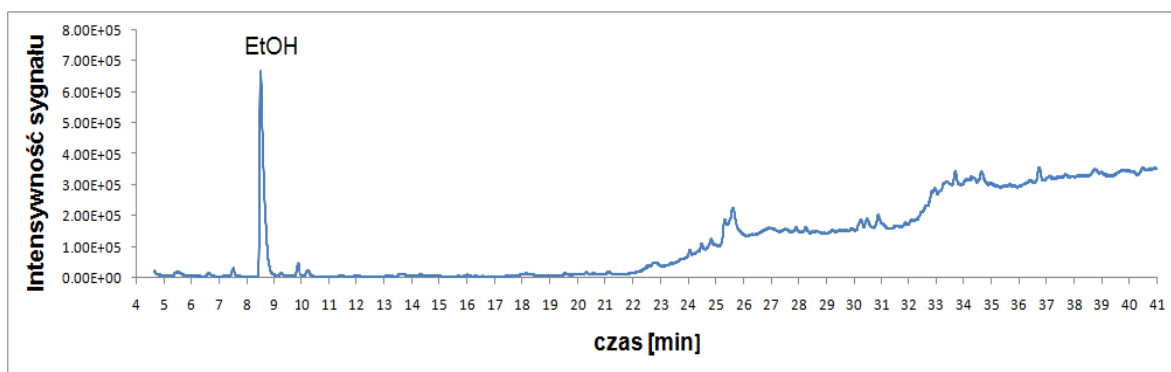
- 1) alkohol etylowy, 2) acetonitryl, 3) aceton, 4) 2 - metylobutan, 5) alkohol izopropylowy, 6) izopren, 7) cyklopropan, 8) 2-metylopentan, 9) kwas octowy, 10) 1- butanol, 11) benzen, 12) 3 – hydroksy- 2 – butanon, 13) 2,2 dimetyloheksan, 14) heptan, 15) metylocykloheksan, 16) toluen, 17) heksanal, 18) etylbenzen, 19) heptanal, 20) benzaldehyd, 21) oktanal, 22) limonen, 23) acetofenon, 24) nonanal, 25) dekanal

W próbce zapachu pobranej ze skóry 65 letniej kobiety, zidentyfikowano 2-nonenal, związek proponowany, jako biomarker procesu starzenia (Rys 13).



Rys. 13. Chromatogram wykonany techniką TD/GC/MS próbki pobranej ze skóry 65-letniej kobiety (tryb SCAN).

Opracowana metoda pozwoliła na wykrycie obecności alkoholu etylowego emitowanego ze skóry po 48h od spożycia (Rys 14 i 15).



Rys. 14. Chromatogram zarejestrowany w trybie SCAN próbki pobranej ze skóry 23 letniej kobiety, spożywającej alkohol 48h przed wykonaniem badania.



Rys. 15. Chromatogram zarejestrowany w trybie SCAN próbki pobranej ze skóry 23 letniej kobiety, niespożywającej alkoholu w okresie 48 h przed wykonaniem badania.

14. PODSUMOWANIE

Każdy człowiek posiada swój własny, niepowtarzalny zapach, na który składa się bardzo wiele różnorodnych związków chemicznych, występujących w określonych zestawach i proporcjach. We wstępnych badaniach wykonanych w Zakładzie Fizykochemii Ekosystemów, w próbkach potu pobranych z powierzchni przedramienia od 14 ochotników zidentyfikowano grupę 50 związków, z czego grupa 12 związków (alkoholu etylowego, acetonu, alkoholu izopropylowego, kwasu octowego, benzenu, toluenu, heksanal, heptanal, oktanal, nonanal, dekanal oraz limonenu) powtarzała się u wszystkich badanych osób. Prawdopodobnie z powodu małej liczby grupy, nie udało się zaobserwować różnic w profilu zapachowym osób zróżnicowanych pod względem wieku i płci.

W świetle powyższych rozważań, zasadne wydaje się przeprowadzenie badań na większej grupie uczestników, w kierunku zdefiniowania profilu zapachowego człowieka, zróżnicowanego pod względem płci, wieku lub istniejących chorób.

Z uwagi na mnogość czynników, wpływających na zmianę profilu zapachowego człowieka, tematyka analizy lotnych związków organicznych pochodzących ze skóry, nie jest łatwym zagadnieniem analitycznym. Wymaga od uczestników, zachowania wielu obostrzeń, związanych z przestrzeganiem higieny, rodzajem stosowanych kosmetyków, czy stosowanej diety. Z uwagi na różne rozmieszczenie zarówno flory bakteryjnej i gruczołów skórnych, celowe wydaje się również zbadanie profilu zapachowego, próbek pobranych z różnych miejsc na ciele człowieka. Dalsze badania nad analizą zapachu skóry będą skierowane na dopracowanie metodyki pobierania próbek przez zastosowanie innych materiałów sorpcyjnych. Mamy nadzieję, że podjęta tematyka analizy lotnych związków organicznych, emitowanych ze skóry, zaowocuje opracowaniem profilu zapachowego człowieka charakterystycznego dla danej płci, wieku, czy istniejących chorób. Będzie to krok w kierunku stworzenia nanosensorów, mających zastosowanie w ratownictwie w poszukiwaniu osób uwięzionych pod zwałami gruzu w wyniku trzęsień ziemi, huraganów, katastrof budowlanych, a być może także we wczesnej diagnostyce schorzeń, już w gabinecie lekarza pierwszego kontaktu.

Podziękowania

Autorzy pracy pragną złożyć serdeczne podziękowania Panu Prof. Markowi Stępniewskiemu z Katedry Kosmetyki Profilaktycznej i Leczniczej Małopolskiej Wyższej Szkoły Zawodowej im. J. Dietla w Krakowie za wsparcie merytoryczne i naukowe konsultacje w problematyce śladowej analizy skóry.

15. LITERATURA

1. P. Suskind, *Pachnidło. Historia pewnego mordercy*, Świat Książki, Warszawa (2005)
2. K. Ashenburg, *Historia brudu*, Warszawa (2009, 2010)
3. M. Philips, *Breath test in medicine*, Sci. Am, 267 (1992) 74-79
4. B. Hoffmann, *Perfumy – uwarunkowania kulturowo-społeczne*, Oficyna Wydawnicza Impuls, Kraków (2013)
5. B. Pawłowski, *Biologia atrakcyjności człowieka*, Wydawnictwo Uniwersytetu Warszawskiego (2009) 262-288
6. M.C. Martini, *Kosmetologia i Farmakologia skóry*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2007, red. naukowa wydania polskiego Waldemar Placek
7. M. Gallagher, C.J. Wysocki, J.J. Leyden, A.I. Spielman, *Analyses of volatile organic compounds from human skin*, Br J Dermatol. (2008) September
8. A. Bochenek, M.Reicher, *Anatomia człowieka*, wyd III, Warszawa 1989, Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich
9. J. Hadgraft, *Skin, the final frontier*, Int J Pharm., 224 (2001) 1-18
10. AC. Williams, *Transdermal and topical drug delivery*. Pharmaceutical Press, London, Chicago 2003
11. V. Ruzsanyj, P.Mochalski, A. Schmid, H. Wiesenhofer, M. Klieber, H. Hinterhuber, A. Amann, *Ion mobility spectrometry for detection of skin volatiles*, J. Chromatogr. B, 911 (2012) 84-92
12. www.dujs.dartmouth.edu
13. www.badania.net/zapach-czlowieka
14. M. Scheldit, C. Genzel, *The significance of mother's perfume for infant in the first weeks of their life*, Ethnology and Sociobiology, 11 (1990) 145-154
15. Z. Muszyński, *Drobnoustroje skóry człowieka – wskazówki dla kosmetologów*, Homines Hominibus, 6 (2010) 55-64
16. G. Preti, A.I. Spielman, J.J. Leyden, *The structure, origin and function of human axillary odours*, Fragrances, (1998) 21-27
17. www.hipokrates2012.woedpress.com
18. www.skory.choroby.biz
19. J. Urban, *Wybrane zagadnienia genodermatoz wieku rozwojowego – rybia łuska wrodzona i dziedziczna*, Borgis – Nowa Medycyna, 11 (2000)
20. www.biol.uw.edu.pl

21. RK. Freinkel, DT. Woodley, *The biology of the skin*, Parthenon Publishing (2001)
22. K. Wilke, A. Martin, L. Terstegen, SS Biel, *A short story of sweat gland biology*, Int. J. Cosm. Sci. 29 (2007) 169-179
23. http://www.daviddarling.info/images/eccrine_gland.jpg
24. http://www.daviddarling.info/images/apocrine_gland.jpg
25. Sadahiko Yamazaki, Kunihide Hoshino, Masatoshi Kusuhara, *Odor associated with aging*, Anti – Aging Medicine 7 (2010) 60-65
26. S. Riazanskaia, G. Blockburn, M. Harker, D. Taylor, CL. Thomas, *The analytical utility of thermally desorbed polydimethylsilicone membranes for in-vivo sampling of volatile organic compounds in and on human skin*”, Analyst, 133 (2008) 1020-1027
27. Zhuo-Min Zhang, Ji-Jin Cai, Gui – Hua Ruan, Gong- Ke Li, *The study of fingerprint characteristics of the emanations from human arm skin using the original sampling system by SPME-GC/MS*, J. Chromatogr. B, 822 (2005) 244-252
28. DT Hudson – Holness, KG Furton, *Comparison between human scent compounds collected on cotton and cotton blend materials for SPME – GC/MS Analysis*, J. Forensic Res 1 (2010)
29. Shinichiro Haze, Yoko Gozu, Shoji Nakamura, *2- Nonenal newly found in human Body Odor Tends to Increase with Aging*, J. Invest. Dermatol., 4 (2001) 116
30. SG. Gordon, K. Smith, JL. Rabinowitz, PR Vagelos, *Studies of trans-3-methyl-2-hexenoic acid in normal and schizophrenic humans*, J. Lipid Res., 14 (1973) 495-503
31. Allison M. Curran, Carlos F. Ramirez, Adee A. Schoon, Kenneth G. Furton, *The frequency of occurrence and discriminatory power of compounds found in human accent across a population determined by SPME – GC/MS*, J. Chromatogr B, 846 (2007) 86 – 97
32. <http://www.wprost.pl/ar/81042/Nos-na-choroby/>
33. R. Huo, A. Agapiou, V Bocos-Bintintan, L J Brown, C Burns, CS Creaser, NA Devenport, B Gao-Lau, C Guallar-Hoyas, L Hildebrand, A Malkar, HJ Martin, V H Moll, P Patel, A Ratiu, JC Reynolds, S Sielemann, R Slodzynski, M Statheropoulos, MA Turner, W Vautz, VE Wright, CLP Thomas, *The trapped human experiments* J. Breath Res. 5 (2011)