

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Wydział Nauk o Żywności

DR INŻ. DOROTA DEREWIAKA

ZAŁĄCZNIK 2

AUTOREFERAT

WARSZAWA, 2019

SPIS TREŚCI

1. IMIĘ I NAZWISKO	3
2. POSIADANE TYTUŁY, STOPNIE NAUKOWE Z PODANIEM NAZWY, MIEJSCA I ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ	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 TYTUŁE NAUKOWYM ORAZ O STOPNIACH I TYTUŁE W ZAKRESIE SZTUKI (DZ. U. 2016 R. POZ. 882 ZE ZM. DZ. U. Z 2016 POZ. 1311):	4
4.1. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO.....	4
4.2. PUBLIKACJE WCHODZĄCE W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO	4
4.3. OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO WW. PRAC I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW WRAZ Z OMÓWIENIEM ICH EWENTUALNEGO WYKORZYSTANIA.....	5
4.3.1. WSTĘP.....	5
4.3.2. CEL NAUKOWY I OMÓWIENIE WYNIKÓW	6
4.3.3. OKREŚLENIE AUTENTYCZNOŚCI PRODUKTÓW SPOŻYWCZYCH NA PODSTAWIE SKŁADU STEROLI	7
4.3.4. WPLYW OBRÓBKI TERMICZNEJ NA CHOLESTEROL ORAZ CHARAKTERYSTYKA PRODUKTÓW PRZEMIAN CHOLESTEROLU NA PRZYKŁADZIE BADAŃ MODELOWYCH.....	10
4.3.5. WPLYW DODATKU OLEJU ZAWIERAJĄCEGO WYSOKI UDZIAŁ FITOSTEROLI NA JAKOŚĆ TŁUSZCZÓW WYSTĘPUJĄCYCH W JOGURCIE NATURALNYM.....	13
4.3.6. PODSUMOWANIE.....	15
5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH	18
5.1. WŁAŚCIWOŚCI I PRZEMIANY FRAKCJI TŁUSZCZOWEJ WYSTĘPUJĄCEJ W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH I SUPLEMENTACH DIETY	20
5.2. PROBLEMATYKA ZAFALSZOWAŃ ŻYWNOŚCI ORAZ PRZEKAZYWANIA RZETELNYCH INFORMACJI KONSUMENTOM O PRODUKCIE.....	24
5.3. WŁAŚCIWOŚCI BIOAKTYWNE SKŁADNIKÓW WYSTĘPUJĄCYCH W WYBRANYCH PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH	25
5.4. ANALIZA ZWIĄZKÓW LOTNYCH W WYBRANYCH PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH.....	27
5.5. ANALIZA RYNKU PRODUKTÓW SPOŻYWCZYCH ORAZ POZIOMU WIEDZY I PREFERENCJI KONSUMENTÓW DOTYCZĄCYCH WYBRANYCH PRODUKTÓW SPOŻYWCZYCH	27

1. IMIĘ I NAZWISKO

DOROTA DEREWIAKA (Z D. MATIAS)

2. POSIADANE TYTUŁY, STOPNIE NAUKOWE Z PODANIEM NAZWY, MIEJSCA I ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

12.12.2008

stopień doktora inżyniera nauk rolniczych w zakresie technologii żywności i żywienia człowieka, Wydział Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Praca doktorska pt. ” Występowanie i powstawanie produktów utleniania steroli w wybranych produktach spożywczych” realizowana w Katedrze Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności pod kierunkiem Prof. dr. hab. Mieczysława Obiedzińskiego

5.07.2004

stopień magistra inżyniera nauk rolniczych w zakresie żywienia człowieka, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka oraz Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Praca magisterska pt. „Ocena zawartości izomerów *trans* kwasów tłuszczowych w wybranych produktach cukierniczych i przekąskowych” realizowana w Katedrze Dietetyki i Żywności Funkcjonalnej pod kierunkiem Prof. dr. hab. Franciszka Świdzkiego

3. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

Od 1.01.2010

adiunkt w Katedrze Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydział Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

30.12.2008 – 31.12.2009

asystent w Katedrze Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydział Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

1.10.2004 – 12.12.2008

doktorantka dziennych studiów doktoranckich, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydział Technologii Żywności (obecnie Wydział Nauk o Żywności), Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Urlopy macierzyńskie

23.10.2009-25.03.2010 oraz 08.11.2013-3.07.2014

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. 2016 R. POZ. 882 ZE ZM. DZ. U. Z 2016 POZ. 1311):

4.1. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

**„STEROLE I ICH PRODUKTY PRZEMIAN JAKO WSKAŹNIKI JAKOŚCI
TŁUSZCZÓW OBECNYCH W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH”**

4.2. PUBLIKACJE WCHODZĄCE W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

H1. Derewiaka D., Sosińska E., Obiedziński M., Krogulec A., Czaplicki S. 2011. Determination of the adulteration of butter. *European Journal of Lipid Science and Technology* 113, 1005-1011. DOI: 10.1002/ejlt.201100006

IF₂₀₁₁= 1,733, IF_{5-year}=2,296, pkt. MNiSW=25

H2. Derewiaka D., Szwed E., Wołosiak R. 2014. Physicochemical properties and composition of lipid fraction of selected edible nuts. *Pakistan Journal of Botany*, 46(1), 337-343

IF₂₀₁₄= 0,822, IF_{5-year} = 0,844, pkt. MNiSW=20

H3. Derewiaka D., Łuczak A., Reder M. 2016. Detection of adulteration of extra virgin olive oils available on the Polish market. *Nauka Przyroda Technologie*, 10, 4, #47, 1-11

pkt. MNiSW=9

H4. Derewiaka D., Molińska E. 2015. Cholesterol transformations during heat treatment. *Food Chemistry* 171, 233–240. DOI:10.1016/j.foodchem.2014.08.117

IF₂₀₁₅= 4,052, IF_{5-year}=4,879, pkt. MNiSW= 40

H5. Derewiaka D., Zaręba D., Obiedziński M., Matuszewska-Janica A. 2017. Volatile markers of cholesterol thermal changes. *European Journal of Lipid Science and Technology* 119 (10),1-13. DOI: 10.1002/ejlt.201600486

IF= 2,200, pkt. MNiSW=30

H6. Derewiaka D., Stepnowska N., Bryś J., Ziarno M., Ciecierska M., Kowalska J. 2019. Chia seed oil as an additive to yogurts. *Grasas y Aceites* 70 (2), e302. DOI:10.3989/gya.070518, w druku

IF_{5-year} =**0,969***, pkt. MNiSW=20

Sumaryczny IF prac stanowiących podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego wynosi **9,776** według roku opublikowania (**IF_{5-year}= 11,284**), suma punktów według punktacji MNiSW, obliczonej według roku publikacji, wynosi **144**.

*IF za 2019 rok nie został obliczony, w związku z tym podany jest 5-letni IF.

4.3.OMÓWIENIE CELU NAUKOWEGO WW. PRAC I OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW WRAZ Z OMÓWIENIEM ICH EWENTUALNEGO WYKORZYSTANIA

4.3.1. WSTĘP

Głównym źródłem steroli w diecie człowieka są tłuszcze. Produkty pochodzenia zwierzęcego, np. masło, jaja, sery twarde, podroby, przetwory mięsne i mięso, są bogatym źródłem cholesterolu [Molkentin 2006]. Fitosterole dostarczane są do organizmu człowieka poprzez spożycie olejów roślinnych (np. oleju ryżowego, kukurydzianego, rzepakowego), orzechów, ziaren zbór, nasion oraz owoców i warzyw [Ostlund 2002]. Skład frakcji sterolowej poszczególnych produktów spożywczych jest charakterystyczny, zarówno pod względem jakościowym, jak i ilościowym. Ponadto mogą w niej występować produkty przemian steroli, które mogą wskazywać na procesy zachodzące podczas przechowywania i przetwarzania żywności np. utlenianie. W związku z tym, profil steroli i produkty ich przemian mogą dostarczyć informacji na temat autentyczności produktów spożywczych lub warunków w jakich były transportowane, składowe i przetwarzane.

Sterole pełnią wiele ważnych funkcji w organizmie człowieka, wraz z zapewnieniem odpowiedniej struktury i funkcjonowaniem błon komórkowych [Soupas 2006]. Fitosterole nie są syntetyzowane w organizmie ludzkim (w odróżnieniu do cholesterolu). Poziom absorpcji fitosteroli w przewodzie pokarmowym człowieka waha się między 5 a 16%, w przypadku cholesterolu ten poziom jest wyższy i wynosi od 40 do 60% [Clinton 2002, Ostlund 2002]. Odziaływanie steroli na organizm ludzki może mieć pozytywny i negatywny wpływ. Nadmierne spożycie produktów bogatych w cholesterol może prowadzić do podwyższenia ryzyka wystąpienia miażdżycy lub niedokrwiennej choroby serca. Natomiast spożywanie produktów bogatych w fitosterole może zapobiegać negatywnym skutkom wysokiego udziału cholesterolu w diecie. Dzieje się to dzięki mechanizmom wchłaniania fitosteroli i cholesterolu opisanym przez Rozner i Garti [2006], jako efekt współzawodniczenia podczas procesu wchłaniania. W raporcie EFSA podano, że zalecana dawka spożycia estrów fitosteroli i/lub fitostanoli, która wywiera efekt obniżający poziom cholesterolu w surowicy krwi człowieka (o 10-15%) to 1-3 g/dobę [Raport EFSA 2008]. Jednym z niekorzystnych efektów wysokiego spożycia fitosteroli jest zakłócanie absorpcji karotenoidów i witaminy E, jednakże zastosowanie dawki 1,6 g fitosteroli na dobę nie wpływa znacząco na obniżenie poziomu karotenoidów i witaminy E w osoczu krwi człowieka [Szymbańska i Kruk 2007].

Pod wpływem wielu czynników, np. tlenu, światła, podwyższonej temperatury, promieniowania ultrafioletowego oraz gamma, obecności nienasyconych kwasów tłuszczowych, wolnych rodników, nadtlenków, enzymów, jonów metali, niektórych barwników

[Johnsson i wsp. 2003, Baggio i Bragognolo 2006] może dochodzić do degradacji, utleniania lub polimeryzacji steroli. Przemiany te prowadzą do obniżenia zawartości steroli w produktach spożywczych i powstania produktów ich przemian np. oksysteroli lub polimerów.

Większość opisanych produktów przemian steroli bowiem ma niekorzystny wpływ na organizm człowieka. Produkty utleniania steroli, w szczególności produkty utleniania cholesterolu przyczyniają się do powstawania arteriosklerozy oraz wykazują działanie mutagenne, kancerogenne, angiotoksyczne, cytotoksyczne i immunosupresyjne [Guardiola i wsp. 1996, Chang i wsp. 1997, Johnsson 2004, Wilczak i Kulasek 2004, Ryan i wsp. 2005, Zhang 2005]. Głównymi produktami oksydacji steroli są ich pochodne hydroksylowe, ketonowe, epoksydowe oraz triolowe. W zależności od charakteru utleniania: wolnorodnikowego, fotooksydacji lub utleniania enzymatycznego [Ubhayasekera 2004, Wąsowicz i wsp. 2004], powstają różne produkty utleniania steroli. Ekspozycja na światło powoduje np. powstanie 5,6-epoksysterolu [Rontani i wsp. 2007]. Podczas enzymatycznego utleniania cholesterolu powstają natomiast 7α -hydroksycholesterol i 20α -hydroksycholesterol [Ubhayasekera 2004].

Obecność polimerów steroli w tłuszczach może świadczyć o przemianach zachodzących podczas przetwarzania produktów spożywczych, np. długotrwałego ogrzewania. W takich warunkach dochodzi do utleniania i rozkładu termicznego składników żywności wraz z formowaniem się lotnych i nielotnych produktów rozpadu, a ich spożycie w nadmiarze może być szkodliwe dla zdrowia człowieka [Abidi i wsp. 1999].

4.3.2. CEL NAUKOWY I OMÓWIENIE WYNIKÓW

Celem głównym osiągnięcia było wykorzystanie oznaczenia zawartości steroli oraz produktów ich przemian do określania jakości i zafalszowań tłuszczów wybranych produktów spożywczych.

Cele szczegółowe osiągnięcia:

- Określenie autentyczności produktów spożywczych na podstawie składu steroli (p. 4.3.3 publikacje **H1, H2, H3**),
- Wpływ obróbki termicznej na cholesterol oraz charakterystyka produktów przemian cholesterolu na przykładzie badań modelowych (p. 4.3.4 publikacje **H4, H5**)
- Wpływ dodatku oleju zawierającego wysoki udział fitosteroli na jakość tłuszczów występujących w jogurcie naturalnym (p. 4.3.5 publikacje **H6**),

4.3.3. OKREŚLENIE AUTENTYCZNOŚCI PRODUKTÓW SPOŻYWCZYCH NA PODSTAWIE SKŁADU STEROLI

W tej części pracy analizowano profile steroli takich produktów jak masło [H1], orzechy jadalne [H2] oraz oliwa z oliwek tłoczonych na zimno [H3].

Jednym ze sposobów wykrywania zafałszowań produktów spożywczych może być analiza składu frakcji tłuszczowej. Niestety proste badanie składu żywności zawierającej tłuszcz najczęściej nie pozwala na wykrycie zafałszowań. Bardziej przydatne są zaawansowane metody analityczne najczęściej polegające na analizie składu triacylogliceroli, kwasów tłuszczowych, steroli i tokoferoli w tłuszczu mlecznym [H1].

W publikacji H1 przedstawiono wyniki analiz oznaczenia estrów metylowych kwasów tłuszczowych za pomocą GC-MS na przykładzie produktu pochodzenia zwierzęcego, tj. masła. Profil składu kwasów tłuszczowych dostarczył wielu informacji, jednakże bez odpowiedniej, zaawansowanej analizy statystycznej trudne byłoby wnioskowanie, która z prób masła ma nieodpowiedni skład. W związku z powyższym w publikacji opisano również wyniki oznaczenia ilościowego steroli oraz tokoferoli. Oznaczenie zawartości steroli zostało wykonane przy użyciu GC-MS, a zawartość tokoferoli przy użyciu HPLC. W dwóch masła stwierdzono bardzo niską zawartość cholesterolu w próbce nr 3 - 216,6 mg/100 g tłuszczu, i w próbce nr 12 - 176,8 mg/100 g tłuszczu. W pozostałych 14 próbach masła zawartość cholesterolu wyniosła od 229,5 do 264,8 mg/100 g. Dodatkowo informacją potwierdzającą, że masła (nr 3 i 12) zostały wyprodukowane z dodatkiem tłuszczu roślinnego była wysoka zawartość w nich β -sitosterolu, która wynosiła odpowiednio 12,6 oraz 27,8 mg/100 g [H1]. W pozostałych masłach nie stwierdzono obecności β -sitosterolu. Do potwierdzenia autentyczności masel dużo wnoszące było wyniki oznaczenia zawartości homologów tokoferoli. Najbardziej charakterystyczną formą tokoferolu występującą w tłuszczu mlecznym był α -tokoferol, którego zawartość wahała się od 1,25 do 1,83 mg w 100 g tłuszczu i wynosiła średnio 1,65 mg/100 g tłuszczu. Nietypowym dla tłuszczu mlecznego była obecność form β -, γ -, δ -tokoferolu w próbach masła nr 3 oraz nr 12. Są to formy tokoferolu charakterystyczne dla olejów roślinnych np. sojowego. **Wyniki tych analiz potwierdziły w niepodważalny sposób, iż dwa spośród szesnastu badanych produktów były fałszowane poprzez dodatek tłuszczu roślinnego.**

Do kolejnego etapu pracy wybrano surowce roślinne, jakimi są orzechy. Należy podkreślić, że wcześniejsze doniesienia naukowe nie opisywały tak szczegółowo składu frakcji sterolowej orzechów. Wykazano, że na podstawie której jest możliwa identyfikacja konkretnych gatunków orzechów. We wspomnianych doniesieniach wskazywano zawartość zaledwie tylko kilku

fitosteroli obecnych we frakcji tłuszczowej orzechów. Były to najczęściej β -sitosterol, kampesterol, stigmasterol, cholesterol i clerosterol. Takie szczerkowe informacje dotyczące profilu fitosteroli ograniczonego do głównych składników, uniemożliwiały potwierdzenie autentyczności konkretnych gatunków orzechów. Wśród badanych gatunków orzechów występowały orzechy: laskowe, włoskie, brazylijskie, piniowe, pistacje, pekan, nerkowce i makadamia [H2]. Wszystkie gatunki orzechów zostały poddane oznaczeniu zawartości suchej masy, tłuszczu, składu kwasów tłuszczowych, steroli, tokoferoli i skwalenu. Na potrzebę przeprowadzenia oznaczenia składu kwasów tłuszczowych, należało zmodyfikować dotychczas wykorzystywaną metodę i zastosowano dwustopniową metodę uzyskiwania estrów metylowych kwasów tłuszczowych (składającą się ze zmydlania przy użyciu zasady potasowej oraz kwasu siarkowego) [O'Fallon i wsp. 2007]. Wśród fitosteroli występujących we wszystkich badanych orzechach były β -sitosterol (od 96,9 do 474,8 mg/100 g), kampesterol (od 2,9 do 26,5 mg/100 g), Δ^5 -awenasterol (od 2,0 do 52,3 mg/100 g) oraz citrostadienol (od 2,4 do 19,6 mg/100 g). Obecność stigmasterolu stwierdzono jedynie w orzechach włoskich (1,3 mg), pekan (2,6 mg) oraz brazylijskich (7,9 mg w 100 g oleju). Δ^7 -Sitosterol zidentyfikowano jedynie we frakcji tłuszczowej orzechów makadamia (2,2 mg/100 g) i brazylijskich (2,9 mg/100 g). Fitosterolem charakterystycznym dla orzechów włoskich i makadamia był Δ^7 -awenasterol, a jego zawartość wynosiła odpowiednio 4,4 i 1,5 mg/100 g. Zawartość cycloartenolu kształtowała się na poziomie od 3,3 (orzechy brazylijskie) do 27,9 mg/100 g oleju (orzechy włoskie), jednakże związek ten nie został zidentyfikowany w orzechach laskowych, pinii i makadamia. 24-metylocycloartenol został wykryty we frakcji tłuszczowej orzechów makadamia (1,3 mg/100 g oleju), nerkowców (4,5 mg/100 g oleju) oraz pistacji (14,6 mg/100 g oleju). Wśród wszystkich badanych orzechów tylko gatunek orzechów pekan zawierał w składzie frakcji fitosterolowej $\Delta^{5,24}$ -stigmastadienol [H2]. **Wyniki zawartości steroli umożliwiają identyfikację frakcji tłuszczowej pochodzącej z konkretnych odmian orzechów.**

Oliwa z oliwek jest jednym z najczęściej fałszowanych produktów dostępnych na rynku europejskim. Publikacja H3 opisuje wyniki analiz umożliwiające potwierdzenie autentyczności oliw z oliwek tłoczonych na zimno. Na podstawie wytycznych opisanych w Rozporządzeniu UE 1348/2013 przeprowadzono analizy kwasów tłuszczowych, steroli oraz wyznaczono wartości współczynników ekstynkcyjności K_{232} i K_{270} dziesięciu oliw z oliwek tłoczonych na zimno, zakupionych na rynku polskim. Wspomnianym analizom poddano również jedną próbkę oliwy z oliwek z wycieków, w celu jej porównania z badanym materiałem [H3]. Analiza składu steroli (obejmująca cholesterol, brassikasterol, kampesterol, stigmasterol, β -sitosterol

i Δ^7 -stigmasterol) wykazała, że wszystkie z analizowanych oliw tłoczonych na zimno spełniały wymagania wyznaczone przez Rozporządzenie nr 1348/2013. Jednakże analiza wartości współczynnika ekstynkcji (K_{232} i K_{270}) oraz zmienności gęstości optycznej ΔK podawała w wątpliwość jakość jednego z produktów. Wynikało to z faktu, że wartość współczynnika K_{232} wyniosła 2,54 dla oliwy z nr. 1 i była wyższa od wartości wskazanej w Rozporządzeniu ($\leq 2,50$). Również wartość współczynnika K_{270} dla tej samej oliwy wyniosła 0,25, co stanowi o przekroczeniu wartości wyznaczonej w Rozporządzeniu ($\leq 0,22$). Analiza frakcji sterolowej, poszerzona o analizę obecności erytrodiolu oraz uwaolu, pochodnych fitosteroli powstających podczas obróbki termicznej tłuszczów, wykazała, że udział tych pochodnych w ogólnej zawartości fitosteroli oliwy nr 1 wyniósł 5,32%. Wartość ta jest zdecydowanie za wysoka w porównaniu do wymagań stawianych oliwom z oliwek tłoczonym na zimno ($\leq 4,5\%$). **Obserwacje te wskazują, że jeden z badanych produktów był produktem fałszowanym. Uzyskane wyniki analiz, w szczególności składu frakcji sterolowej, wskazują, że produkt ten był poddany obróbce termicznej lub zawierał w swoim składzie dodatek oliwy poddanej obróbce termicznej, np. oliwy rafinowanej czy też gorszej jakości oliwy z wytlóków. Świadczy to o prowadzeniu nieuczciwych praktyk ze strony dostawców lub producentów ww. produktu.**

Na podstawie przedstawionych badań można stwierdzić, że:

1. Wykrycie fałszowanych produktów jest trudne i wymaga użycia zaawansowanego sprzętu, dostosowania metod badawczych oraz zaangażowania wyspecjalizowanego personelu badawczego.
2. Metoda oznaczania steroli opisana w publikacjach **H1, H2 i H3** jest bardzo dobrym narzędziem analitycznym i z pewnością może być wykorzystywana podczas potwierdzania autentyczności w przypadku innych produktów spożywczych.
3. Jedną z najbardziej skutecznych metod umożliwiających wykrycie zafałszowań produktów takich, jak masło, oliwa z oliwek tłoczona zimno oraz orzechy, jest analiza składu i zawartości steroli frakcji tłuszczowej.
4. Analiza zawartości cholesterolu, β -sitosterolu oraz homologów tokoferoli w badanych masłach umożliwiła wskazanie próbek fałszowanych za pomocą dodatku tłuszczu roślinnego. **W przypadku oliw z oliwek tłoczonych na zimno możliwe było wskazanie produktów zafałszowanych dzięki określeniu udziału erytrodiolu oraz uwaolu we frakcji sterolowej. Natomiast szczegółowa charakterystyka frakcji sterolowej orzechów może posłużyć jako źródło cennych informacji podczas określania autentyczności olejów pozyskiwanych ww. gatunków orzechów.**

4.3.4. WPLYW OBRÓBKI TERMICZNEJ NA CHOLESTEROL ORAZ CHARAKTERYSTYKA PRODUKTÓW PRZEMIAN CHOLESTEROLU NA PRZYKŁADZIE BADAŃ MODELOWYCH

Obróbka termiczna żywności jest bardzo popularnym zabiegiem technologicznym. Jest ona nieodzowna, aby uzyskać odpowiednią jakość żywności przetwarzanej nie tylko zapewniając bezpieczeństwo mikrobiologiczne, ale również pozwalając na uzyskanie odpowiedniej struktury i pożądanej jakości sensorycznej. Pod wpływem tego procesu składniki żywności mogą ulegać wielokierunkowym przemianom. Wśród najlepiej poznanych przemian, jakim podlegają sterole podczas obróbki termicznej można wymienić degradację oraz utlenianie. Mniej poznany procesem występującym pod wpływem wysokiej temperatury jest polimeryzacja steroli, szczególnie cholesterolu. Ponadto, w znikomym stopniu opisany został do tej pory proces tworzenia się związków lotnych z cholesterolu.

Badania opisane w publikacji **H4** polegały na poddaniu próbce termicznej standardu cholesterolu. Obróbka termiczna była prowadzona w czterech różnych temperaturach: 120, 150, 180 i 220°C przez 30, 60, 120 i 180 minut. Na potrzeby realizacji badań, opisanych w publikacjach **H4** i **H5**, należało dopracować warunki oznaczania produktów utleniania cholesterolu wprowadzając etap ekstrakcji przy użyciu kolumn SPE wypełnionych żelem krzemionkowym. Dodatkowo należało usprawnić rozdział monomerów, dimerów, trimerów i tetramerów cholesterolu prowadzony przy użyciu chromatografii preparatywnej wyposażonej w detektor światła rozproszonego. Ponadto dokonano ulepszenia metody oznaczania związków lotnych powstających podczas przemian cholesterolu, która opierała się na wykorzystaniu GC-MS [**H4**, **H5**]. Należy podkreślić fakt, że podczas oznaczenia spodziewanych produktów przemian cholesterolu dodatkowo zidentyfikowano związki świadczące o dehydratacji cholesterolu, a dokładnie 3,5-cholestadien i 4,6-cholestadien, a ich zawartość w poszczególnych próbkach została przedstawiona na wykresie 1 publikacji **H4**. Cholestadieny mogą również wchodzić w skład polimerów cholesterolu. Innym ważnym niespodziewanym odkryciem była identyfikacja związków świadczących o rozpadzie cząsteczek cholesterolu na przykład powstawała pochodna 3 β ,4 β -cholest-5-en. Zawartość tych związków w próbkach ogrzewanego cholesterolu została przedstawiona na wykresie 2 publikacji **H4**.

Poziom degradacji standardu cholesterolu podczas obróbki termicznej prowadzonej w różnych temperaturach został szczegółowo opisany w tabelach 1 oraz 4 w publikacji **H4**. Uzyskane wyniki badań wskazują, że im wyższa temperatura obróbki termicznej, tym intensywność degradacji cholesterolu była większa. Na przykład poddając ogrzewaniu cholesterol w temp. 120°C przez 2 godziny obserwowano jego degradację na poziomie 14,6%,

a w temp. 220°C na poziomie 72,9%. Stwierdzono, że im dłuższy czas ogrzewania cholesterolu tym degradacja była bardziej intensywna [H4, tabela 1 , 4].

W badaniach tych potwierdzono również, że cholesterol ulega utlenianiu. Wśród zidentyfikowanych produktów utleniania cholesterolu można wymienić: 4 α -, 4 β -, 6 α -, 6 β -, 7 α , 7 β -, 25-hydroksycholesterol, 5 α ,6 α - oraz 5 β ,6 β -epoksycholesterol, triol cholesterolu oraz 7-ketocholesterol. Sumaryczna i szczegółowa zawartość ww. związków została przedstawiona w tabeli 2 w publikacji H4.

Ogólna zawartość związków lotnych powstających podczas obróbki termicznej standardu cholesterolu została przedstawiona na wykresie 3 publikacji H4. Na podstawie tych danych można stwierdzić, że wraz ze wzrostem temperatury ogrzewania cholesterolu sumaryczna zawartość związków lotnych zwiększała się i była najwyższa w próbkach ogrzewanych w temp. 180 i 220°C. Dokładna charakterystyka związków lotnych powstających w poszczególnych etapach doświadczenia została przedstawiona w publikacji H5. Szczegółowa analiza ilościowa profilu związków lotnych oznaczona w próbkach standardu cholesterolu nieogrzewanego oraz ogrzewanego w temp. 120, 150, 180 i 220°C została przedstawiona w tabelach 1-5 publikacji H5. Wśród grup związków zidentyfikowanych podczas przemian termicznych cholesterolu znalazły się: węglowodory, aldehydy, alkohole, ketony, estry, kwasy oraz inne związki. Zważywszy na fakt, że w próbkach cholesterolu ogrzewanego w temp. 120, 150, 180 i 220°C zidentyfikowano odpowiednio 10, 34, 95 i 104 różne związki. Ich zawartość w zależności od zastosowanego czasu obróbki termicznej ulegała zmianie, zdecydowano się na zastosowanie statystycznego testu niezależności Kendalla w celu zredukowania liczby rozpatrywanych związków lotnych. Na podstawie analizy statystycznej wybrano 14 związków lotnych [tabela 6 publikacja H5], które były obecne we wszystkich próbkach cholesterolu poddanych ogrzewaniu w temp. 150, 180 i 220°C, co pozwoliło na przeprowadzenie korelacji tych związków z ogólną zawartością produktów utleniania cholesterolu, cholestadienów oraz polimerów. W przypadku analizy korelacji związków lotnych i ogólnej zawartości produktów utleniania cholesterolu stwierdzono negatywną zależność 5 związków lotnych. Oznacza to, że gdy obserwowano wyższą zawartość produktów utleniania cholesterolu w tych samych próbkach zawartość związków lotnych malała (np. 2-propanol, 5-metyloheksanal). Na podstawie analizy statystycznej stwierdzono pozytywną zależność między zawartością 4-metylopentan-2-olu oraz ogólną zawartością produktów utleniania cholesterolu, co pozwoliło na stwierdzenie, że związek ten może zostać wskazany jako marker oksydacji cholesterolu. Na takiej samej podstawie dokonano wyboru markera degradacji cholesterolu, którym okazał się 6-metyloheptan-2-on. Hipotetyczną drogę

powstawania tej pochodnej cholesterolu przedstawiono na wykresie 1 publikacji **H5**. W przypadku cholestadienów stwierdzono pozytywną zależność między ogólną ich zawartością i zawartością dwóch związków lotnych, którymi były 2-pentanon i 2-metyloheptan. Podobnie jak w przypadku 6-metyloheptan-2-onu, hipotetyczną drogę powstawania 2-pentanonu i 2-metyloheptanu przedstawiono na wykresie nr 2 publikacji **H5**. Dokonując analizy statystycznej zawartości oligomerów cholesterolu oraz związków lotnych, stwierdzono pozytywną zależność między zawartością dimerów cholesterolu a zawartością 5-metyloheksanal i 4-metylodek-2-enu [**H5**].

Proces polimeryzacji standardu cholesterolu spowodowany obróbką termiczną w różnych temperaturach tj. 150, 180 i 220°C został scharakteryzowany na podstawie wyników zamieszczonych w tabeli 3 publikacji **H4**. W tabeli wyszczególniono różne formy polimeryczne cholesterolu powstające w trakcie ogrzewania, jednakże w przeważającej ilości stwierdzono powstawanie dimerów cholesterolu, rzadziej trimerów, a tylko w jednej z próbek stwierdzono obecność tetrametrów cholesterolu. Niestety zastosowana metoda oznaczania polimerów nie umożliwiła analizy jakościowej badanych związków, jednakże analiza bilansu przemian cholesterolu [tabela 4 publikacja **H4**] wskazuje, że intensywność polimeryzacji prowadzi, w zależności od temperatury i czasu obróbki termicznej, do ubytku od ok. 1 do 19% początkowej zawartości cholesterolu. Poczynione obserwacje mogą sugerować, że sterole dodawane do produktów spożywczych w celu wzbogacania mogą także ulegać polimeryzacji, co skutkuje obniżeniem ich dostępnej ilości i zostało potwierdzone w badaniach nad modelowym utlenianiem stigmasterolu [Lampi i wsp. 2009].

Efektom zrealizowanych badań są następujące stwierdzenia:

1. Proces obróbki termicznej standardu cholesterolu prowadzi do wielokierunkowych przemian: degradacji, polimeryzacji i oksydacji, w wyniku których powstają związki lotne, które mogą być markerami niekorzystnych zmian tłuszczu zachodzących w produktach żywnościowych.

2. W wyniku ogrzewania standardu cholesterolu w różnych temperaturach, tj. 120, 150, 180 i 220°C, powstają związki o zróżnicowanym charakterze, m.in. polimery cholesterolu, produkty utleniania cholesterolu, cholestadieny, produkty rozpadu cholesterolu i związki lotne.

3. Wyniki przedstawione w tej części osiągnięcia naukowego zostały po raz pierwszy w tak kompletny sposób ujęte i opublikowane. Świadczy to o bardziej złożonym ujęciu tematu przemian cholesterolu niż miało to miejsce dotychczas.

Ważnym aspektem, który należy podkreślić jest fakt uzyskania nowatorskich wyników badań tj. wskazania markerów w postaci związków lotnych, świadczących o przemianach

cholesterolu czyli polimeryzacji, degradacji oraz oksydacji. Wyniki tych doświadczeń mogą w przyszłości posłużyć do określania zakresu przemian cholesterolu zachodzących w produktach spożywczych, np. podczas budowy biosensorów wykorzystywanych w przemyśle spożywczym. Byłaby to jedna z nowoczesnych metod umożliwiających określenia jakości tłuszczów obecnych w żywności, która nie wymagałaby wykonania analiz przy użyciu skomplikowanej aparatury badawczej, wykorzystania odczynników i wzorców chromatograficznych.

4.3.5. WPLYW DODATKU OLEJU ZAWIERAJĄCEGO WYSOKI UDZIAŁ FITOSTEROLI NA JAKOŚĆ TŁUSZCZÓW WYSTĘPUJĄCYCH W JOGURCIE NATURALNYM

W tej części pracy analizowano zawartość steroli w jogurcie naturalnym oraz jogurcie z dodatkiem oleju z nasion *Salva hispanica* [H6]. Dodatkowo zbadano jakość handlową wyprodukowanych jogurtów [H6].

Jednym ze sposobów przeciwdziałania chorobom występującym na tle żywieniowym jest stosowanie dodatkowych składników w produktach spożywczych, np. nasion. Od kilku lat bardzo popularnym dodatkiem są nasiona *Salva hispanica* potocznie nazywane nasionami chii hiszpańskiej. Nasiona *Salva hispanica* od wielu tysięcy lat są wykorzystywane przez ludzi głównie w Ameryce Południowej i Północnej. Aczkolwiek od niedawna zyskują popularność na terenie Unii Europejskiej. Dzieje się to za przyczyną bogatego składu nasion chii hiszpańskiej. Nasiona te są bogate w tłuszcz, który zawiera wysoki udział nienasyconych kwasów tłuszczowych, głównie kwasu α -linolenowego (66% w ogólnym profilu kwasów tłuszczowych). Kwas α -linolenowy należy do rodziny kwasów n-3, które muszą być codziennie dostarczane do organizmu człowieka, ponieważ nie jest on w stanie ich syntetyzować. Kwasy z rodziny n-3 są nieodzowne dla prawidłowego funkcjonowania układu nerwowego oraz wzrokowego, wspomagają leczenie zaburzeń neurologicznych i psychiatrycznych [Melgosa i wsp. 2019]. Dodatkowo nasiona *Salva hispanica* zawierają stosunkowo wysoki udział witaminy E ok. 8 mg/100 g [Silva da i wsp. 2017]. Wśród składników mineralnych, które są obecne w nasionach chii hiszpańskiej w znacząco żywieniowo ilościach, należy wymienić wapń, magnez, potas [Ding i wsp., 2018]. W profilu związków fenolowych zidentyfikowano kwasy fenolowe (rozmarynowy, ferulowy i kawowy), kwas anyżowy, skondensowane taniny oraz flawonoidy rutynę oraz hesperydynę [Ding i wsp. 2018, Rahman i wsp. 2017].

Do chwili obecnej nie wydano pozytywnej decyzji EFSA dotyczące wzbogacania nasionami *Salva hispanica* produktów mleczarskich, ale być może w najbliższym czasie ta sytuacja się zmieni [strona internetowa UE]. Z tego względu podjęto próbę wzbogacenia

produktu mleczarskiego, a dokładnie jogurtu naturalnego, dodatkiem oleju z nasion *Salva hispanica* [H6]. W tym celu zaplanowano procesy mające na celu pozyskanie świeżego oleju nasion chii hiszpańskiej, następnie wyprodukowanie w skali półtechnicznej jogurtu naturalnego z i bez dodatku 2% oleju z nasion chii, które następnie były przechowywane przez 4 tygodnie. W trakcie tego czasu dokonywano analiz polegających na określeniu jakości uzyskanych jogurtów wraz ich oceną sensoryczną. Badania jakości jogurtów polegały na pomiarze pH, oznaczeniu ogólnej liczby drobnoustrojów, oznaczeniu zawartości kwasów tłuszczowych oraz steroli. Na podstawie wyników ww. analiz, które szczegółowo zostały opisane w publikacji H6, stwierdzono, że dodatek 2% oleju z nasion chii hiszpańskiej do jogurtu naturalnego wzbogacił skład frakcji tłuszczowej. Zostało to potwierdzone poprzez analizę składu kwasów tłuszczowych oraz steroli. W przypadku profilu kwasów tłuszczowych wzbogacenie jogurtu prowadziło do zwiększenia udziału nienasyconych kwasów tłuszczowych do 68,5-71,3% w nowym produkcie, w porównaniu do jogurtu naturalnego bez dodatku oleju, który zawierał około 30,2-31,4% tych kwasów tłuszczowych. Głównie zanotowano wzrost udziału kwasów wielonasyconych, szczególnie kwasu α -linolenowego. Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono również, że olej z nasion *Salva hispanica* był bogaty w fitosterole, ponieważ zawierał ich około 4,6 g w przeliczeniu na 100 g oleju. W skład tej frakcji wchodziły β -sitosterol, kampesterol, Δ^5 -awenasterol i stigmasterol. Zawartość steroli w jogurcie naturalnym wynosiła 1,2-1,3 g steroli w 100 g tłuszczu, a po dodaniu oleju z chii poziom ten wzrósł do 2,8-3,3 g w 100 g tłuszczu. W jogurcie naturalnym wykryto obecność tylko dwóch steroli, czyli cholesterolu oraz Δ^5 -awenasterolu, po zastosowaniu dodatku oleju z nasion chii profil ten został wzbogacony głównie w β -sitosterol, kampesterol i stigmasterol.

Na podstawie przeprowadzonych analiz jogurtów z 2% dodatkiem oleju z nasion *Salva hispanica* zaobserwowano nieznaczne zmiany w profilu kwasów tłuszczowych oraz zawartości steroli podczas 28-dniowego przechowywania. Zmiany te prowadziły do spadku ogólnej zawartości steroli, jednakże dopiero po 28 dniach przechowywania, natomiast w przypadku zawartości nasyconych i nienasyconych kwasów tłuszczowych spadek ten zaobserwowano już pod 14 dniach przechowywania. Pomimo tych obserwacji należy podkreślić, iż inne wyróżniki jakościowe jogurtów, tj. pH oraz ogólna liczba drobnoustrojów, nie podlegały istotnie statystycznym zmianom. Ponadto osoby oceniające jogurty zarówno w dniu wyprodukowania, jak i po 28 dniach przechowywania nie zaobserwowały istotnych różnic w ogólnej ocenie jogurtu z i bez dodatku oleju z nasion chii hiszpańskiej [H6].

Na tym etapie zrealizowanych badań udokumentowano, że:

1. 2% dodatek oleju z nasion *Salva hispanica* do jogurtu naturalnego wpłynął pozytywnie na jakość frakcji tłuszczowej produktu, wzbogacając go w fitosterole (β -sitosterol, kampesterol i stigmasterol) w ilości około 2 g w przeliczeniu na 100 g tłuszczu oraz w wielonasycone kwasy tłuszczowe głównie, kwas α -linolenowy, którego zawartość wzrosła z 1 do 45% w ogólnej puli kwasów tłuszczowych.

2. Jakość sensoryczna jogurtu przechowywanego przez okres 4 tygodni nie uległa w istotny sposób zmianie, jak również inne wyróżniki jakości handlowej jogurtu.

4.3.6. PODSUMOWANIE

Przedstawiony w osiągnięciu cykl publikacji pozwolił na poszerzenie wiedzy na temat profilu frakcji sterolowej w wybranych produktach spożywczych, a w szczególności: orzechów, oliwy z oliwek tłoczonych na zimno oraz maseł [H1, H2, H3]. Opisane wyniki analiz wskazane w osiągnięciu, umożliwiły wykorzystanie opisanych metod badawczych jako skutecznego narzędzia do wykrywania zafałszowań żywności. Na przykładzie dwóch grup produktów, tj. oliwy z oliwek tłoczonych na zimno oraz maseł stwierdzono, że na rynku polskim występują produkty zafałszowane [H1, H3].

Przedstawiony w osiągnięciu cykl publikacji pozwala również na scharakteryzowanie przemian cholesterolu, który przebiega pod wpływem zastosowania wysokiej temperatury obróbki termicznej. Po raz pierwszy w tak kompletny sposób zostały opisane wielokierunkowe przemiany cholesterolu stwierdzone podczas obróbki termicznej prowadzonej w temp. 120, 150, 180 i 220°C. Analiza ilościowa grup związków powstających podczas przemian cholesterolu umożliwiła określenie intensywności procesów o charakterze degradacyjnym, oksydacyjnym i polimeryzacyjnym. W ramach osiągnięcia przedstawiono również, w jaki dokonano wyboru związków lotnych, powstających podczas przemian cholesterolu, które mogą być uznane za markery konkretnych przemian cholesterolu. Po zastosowaniu zaawansowanej analizy statystycznej wyników wskazano sześć różnych związków lotnych, które świadczą o poszczególnych przemianach cholesterolu, tj. degradacji, polimeryzacji i oksydacji. Obserwacja ta jest unikatowa w badaniach opisujących przemiany cholesterolu.

Osiągnięcie wskazuje także, że olej z nasion *Salva hispanica*, bogaty w fitosterole i kwasy tłuszczowe, może być z powodzeniem stosowany w recepturze jogurtów naturalnych w postaci 2% dodatku. Wyniki analiz mikrobiologicznych, fizykochemicznych oraz sensorycznych potwierdziły, że produkt ten charakteryzuje się wysoką jakością handlową, utrzymującą się przez okres 4 tygodni od dnia wyprodukowania. Spożycie produktów wzbogacanych

w fitosterole zalecane jest osobom, które mają zbyt wysoki poziom cholesterolu we krwi, a ich dieta jest obfita w cholesterol. W przypadku wzbogacenia jogurtu naturalnego 2% dodatkiem oleju z nasion *Salva hispanica*, ze względu na bogaty skład frakcji nienasyconych kwasów tłuszczowych, w tym znaczącej obecności kwasu α -linolenowego, produkt ten powinien być zalecany w żywieniu osób, których dieta jest uboga w kwasy z grupy n-3. Dodatkowym atutem tego produktu jest obecność wysokiej liczby bakterii kwasu mlekowego (*Lb. delbruecki* subsp. *Bulgaricus*, *Str. thremophilus*), które mają udowodnione pozytywne działanie na funkcjonowanie układu pokarmowego i odpornościowego człowieka [H6].

Wydaje się, że uzyskane wyniki badań mogą zostać wykorzystane w określeniu jakości tłuszczów oraz badaniu zafałszowań wybranych produktów spożywczych [H1, H2, H3]. Na podstawie wykorzystania informacji dotyczących obecności markerów oksydacyjnych, degradacyjnych oraz polimeryzacyjnych przemian steroli, można wnioskować o jakości tłuszczów stosowanych w produkcji żywności. Związki te mogą zostać wykorzystane jako wskaźniki jakości tłuszczów stosowanych w procesie przetwarzania żywności i mogą być także podstawą budowy biosensorów stosowanych w analizie żywności [H4, H5].

Spis literatury

1. Abidi S.L., Kim I.M., Rennick K.A. 1999. Determination of nonvolatile components of heated soybean oils separated with high-efficiency mixed-bed polystyrene/divinylbenzene columns. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76 (8), 939–944.
2. Baggio S.R., Bragagnolo N. 2006. The effect of heat treatment on the cholesterol oxides, cholesterol, total lipid and fatty acid contents of processed meat products. *Food Chemistry* 95, 611-619.
3. Chang Y. H., Abdalla D.S.P., Sevanian A. 1997. Characterization of cholesterol oxidation products formed by oxidative modification of low density lipoprotein. *Free Radical Biology and Medicine*, 23, 2, 202-214.
4. Clinton P. 2002. Plant sterol and stanols – comparison and contrasts. Sterols versus stanols in cholesterol – lowering: is there a difference? *Atherosclerosis Supplements* 3, 5-9.
5. Ding Y., Lin H.-W., Lin Y.-L., Yang D.-J., Yu Y.-S., Chen J.-W., Wang S.-Y., Chen Y.-C. 2018: Nutritional composition in the chia seed and its processing properties on restructured ham-like products. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26, 124-134.
6. Guardiola F., Codony R., Addis P.B., Refecas M., Boatella J. 1996. Biological effects of oxysterols: current status. *Food and chemical toxicology* 2, 193-211.
7. Johnsson L., Rolf E., Andersson, Dutta P.C. 2003. Side –chain autoxidation of stigmasterol and analysis of a mixture of phytosterol oxidation products by chromatographic and spectroscopic methods. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 80, 8, 777- 783.
8. Johnsson L. 2004. Phytosterol oxidation products. Formation, analysis and occurrence. *Rozprawa doktorska, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala* 2004, 46-47.

9. Lampi A.-M., Kemmo S., Mäkelä A., Heikkinen S., Piironen V., 2009. Distribution of monomeric, dimeric and polymeric products of stigmasterol during thermo-oxidation. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111, 1027-1034.
10. Melgosa R, Benito-Román Ó, Sanz MT, de Paz E, Beltrán S. 2019. Omega-3 encapsulation by PGSS-drying and conventional drying methods. Particle characterization and oxidative stability. *Food Chemistry*, 270, 138–148.
11. Molquentin J. 2006. Cholesterol content and lipid composition of low fat dairy products. *European Food Research and Technology* 223, 253-260.
12. O’Fallon, J.V., J.R. Busboom, M.L. Nelson, Gaskins C.T. 2007. A direct method for fatty acid methyl ester synthesis: Application to wet meat tissues, oils, and feedstuffs. *Journal of Animal Science*, 85, 1511-1521.
13. Ostlund R.E., 2002. Phytosterols in human nutrition. *Annual Review of Nutrition* 22, 533-549.
14. Rahman J., de Camargo A..C, Shahidi F. 2017: Phenolic and polyphenolic profiles of chia seeds and their in vitro biological activities. *Journal of Functional Foods* 35, 622–634.
15. Raport EFSA 2008. Consumption of food and beverages with added plant sterols in the European Union. *The Efsa Journal* 133, 1-21.
16. Rontani J.-F., Jameson I., Christodoulou S., Volkman J.K. 2007. Free radical oxidation (autoxidation) of alkenones and other lipids in cells of *Emiliana huxleyi*. *Phytochemistry* 68, 913-924.
17. Rozner R., Garti N. 2006. The activity and absorption relationship of cholesterol and phytosterol. *Colloids and surfaces. A, Physicochemical and engineering aspekt* 282-283, 435-456.
18. Rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) nr 1348/2013 z dnia 16 grudnia 2013 r. zmieniające rozporządzenie (EWG) nr 2568/91 w sprawie właściwości oliwy z oliwek i oliwy z wyciągów oliwek oraz w sprawie odpowiednich metod analizy
19. Ryan E., Chopra J., McCarthy F., Maguire A.R., O’Brien N.M. 2005. Qualitative and quantitative comparison of the cytotoxic and apoptotic potential of phytosterol oxidation products with their corresponding cholesterol oxidation products. *British Journal of Nutrition* 94, 443-451.
20. Silva da B.P., Anunciação P.C., Silva da Matyelka J.C., Lucia C.M.D., Martino H.S.D., Pinheiro-Sant’Ana H.M. 2017. Chemical composition of Brazilian chia seeds grown in different places. *Food Chemistry* 221, 1709–1716.
21. Soupas L., Huikko L., Lampi A.-M., Piironen V. 2006: Oxidative stability of phytosterols in some food application. *European food research and technology* 222, 266-273.
22. Strona internetowa UE [http://ec.europa.eu/food/safety/novel_food/catalogue/search/public/index.cfm].
23. Szymańska R., Kruk J. 2007. Fitosterole – występowanie znaczenie dla człowieka. *Kosmos Problemy Nauk Biologicznych* 56, 1-2 (274-275), 107-114.
24. Ubhayasekera S.J.K.A. 2004. Cholesterol oxidation products – analytical methods and levels in sweets containing heated butter oil. Praca magisterska, Uniwersytet Saint Luis. Źródła internetowe (http://ex-epsilon.slu.se/archive/00000527/01/Kumari_thesis.pdf)
25. Wąsowicz E. Gramza A., Hęś M., Jeleń H.H., Korczak J., Małecka M., Mildner-Szkudlarz S., Rudzińska M., Samotyja U., Zawirska-Wojtasiak R. 2004. Oxidation of lipids in food. *Polish journal of food and nutrition science* 13/54, 1, 87-100.

26. Wilczak J., Kulasek G. 2004: Produkty utleniania cholesterolu w produktach pochodzenia zwierzęcego – wpływ na zdrowie zwierząt i ludzi. *Życie Weterynaryjne*, 79, 9, 1-11.
27. Zhang T. 2005. Cholesterol oxidation in roasted salmon fish with different cooking oils. Praca magisterska. Louisiana State University, Maj 2005.

5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

W 2004 roku ukończyłam studia wyższe uzyskując tytuł magistra inżyniera na kierunku technologia żywności i żywienie człowieka w zakresie żywienia człowieka. Pracę magisterską pt. „Ocena zawartości kwasów tłuszczowych ze szczególnym uwzględnieniem izomerów *trans* w wybranych produktach cukierniczych i przekąskowych” wykonałam pod kierunkiem Prof. dr. hab. Franciszka Świderskiego w Katedrze Dietetyki i Żywności Funkcjonalnej Wydziału Żywienia Człowieka i Konsumpcji, SGGW w Warszawie.

W październiku 2004 rozpoczęłamienne studia doktoranckie na Wydziale Technologii Żywności (obecnie Wydział Nauk o Żywności) SGGW w Warszawie. W trakcie studiów odbyłam praktykę w zakładzie mięsnym „Farm Food” (27.06-17.07.2005 r.) w zakresie systemów zarządzania jakością i bezpieczeństwem żywności. Przed uzyskaniem stopnia doktora zajmowałam się badaniem przemian steroli zachodzących w układach modelowych oraz składu i autentyczności wybranych produktów cukierniczych. Wyniki tych badań zostały opublikowane w pracach oryginalnych [Zał. 4, pkt II A publ.1, 2; Zał. 4, pkt II D publ. 18-20].

Pracę doktorską pt. „Występowanie i powstawanie produktów utleniania steroli w wybranych produktach spożywczych” realizowałam w Katedrze Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności pod kierunkiem Prof. dr. hab. Mieczysława Obiedzińskiego. Celem pracy była identyfikacja i ilościowe oznaczenie produktów utleniania steroli w produktach spożywczych oraz określenie wpływu obróbki termicznej na zmiany zawartości steroli i tworzenie się produktów utleniania steroli. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono obecność produktów utleniania steroli w większości analizowanych produktów spożywczych pochodzenia zwierzęcego i roślinnego, za wyjątkiem pieczywa i herbatników maślanych. W badanych artykułach żywnościowych zidentyfikowano 11 różnych produktów utleniania cholesterolu i fitosteroli. Źródłem produktów utleniania steroli były głównie produkty poddane obróbce termicznej (smażeniu, pieczeniu i gotowaniu), w tym produkty zawierające znaczny udział steroli. Sumaryczna zawartość produktów utleniania steroli w analizowanych produktach żywnościowych była niska (od 0,1 do 33,0 µg/g), co sugeruje nieznaczną ekspozycję polskiego konsumenta na produkty utleniania steroli. Ponadto stwierdzono, że procesy oksydacji cholesterolu mogą być ograniczone poprzez dodatek

preparatów fitosteroli (1 i 2,5%). Porównanie dynamiki powstawania produktów utleniania cholesterolu i produktów utleniania fitosteroli wskazuje, że procesy utleniania cholesterolu są bardziej intensywne w porównaniu z utlenianiem fitosteroli. Dodatkowo stwierdzono, że skutecznym działaniem przeciwutleniającym w stosunku do steroli występujących w oleju rzepakowym podczas obróbki termicznej charakteryzowały się dodatki 1% BHT lub 1% skwalenu, co pozwala wnioskować, że obecność tych związków prowadzi do skutecznego ograniczenia oksydacji steroli w warunkach stresu termicznego. Wyniki tych badań zostały opublikowane w pracach oryginalnych [Zał. 4, pkt II A publ. 4, 6, 7; Zał. 4, pkt II D publ. 21, 23, 24, 26, 28]. W trakcie studiów doktoranckich brałam także udział w intensywnym programie „Food and Consumer” odbywającym się na Uniwersytecie w Burgos w Hiszpanii (9-20.07.2007 r.).

Po uzyskaniu stopnia doktora (grudzień 2008 r.) zostałam zatrudniona w Katedrze Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności Wydziału Nauk o Żywności SGGW w Warszawie początkowo na stanowisku asystenta, a rok później adiunkta. Tematyka badawcza zespołu Zakładu Oceny Jakości Żywności obejmuje zagadnienia dotyczące jakości i bezpieczeństwa żywności, w tym bardziej specjalistyczne analizy dotyczące składu produktów żywnościowych. Moje zainteresowania naukowe koncentrowały się wokół właściwościach frakcji tłuszczowej i składników w niej występujących, głównie steroli. W roku 2012 uzyskałam środki finansowe przyznawane w trybie konkursowym przez SGGW na wykonanie zadania badawczego. Temat mojego zadania brzmiał „Studia nad określeniem bilansu ilościowego przemian cholesterolu podczas obróbki termicznej”. Ponownie analogiczne finansowanie uzyskałam w roku 2015, co umożliwiło mi zrealizowanie zadania badawczego pt. „Ocena poziomu występowania bioaktywnych i toksycznych, lipofilnych składników żywności z uwzględnieniem wpływu procesów technologicznych na poziom ich występowania - badania nad modelowym trawieniem cholesterolu oraz produktów utleniania cholesterolu”. Równolegle rozwijałam swoje zainteresowania dotyczące nowych technik stosowanych w analityce żywności oraz badaniach wpływu alergenów na organizm ludzki i metodach oznaczania alergenów w żywności. W roku 2017 uzyskałam środki finansowe na realizację pojedynczego działania naukowego pt. „Studia nad wpływem matrycy żywności na proces modelowego trawienia cholesterolu” w konkursie Narodowego Centrum Nauki Miniatura 1 (2017/01/X/NZ9/00919). W trakcie realizacji ww. badań naukowych zostałam trzykrotnie wyróżniona za osiągnięcia naukowe.

Współpraca z pracownikami Wydziału Nauk o Żywności oraz spoza wydziału pozwoliła mi na rozwijanie zainteresowań naukowych w następujących kierunkach:

1. Właściwości i przemiany frakcji tłuszczowej występującej w produktach spożywczych i suplementach diety,
2. Problematyka zafałszowań żywności oraz przekazywania rzetelnych informacji konsumentom o produkcie,
3. Właściwości bioaktywne składników występujących w wybranych produktach spożywczych,
4. Analiza związków lotnych w wybranych produktach spożywczych,
5. Analiza rynku produktów spożywczych oraz poziomu wiedzy i preferencji konsumentów dotyczące wybranych produktów spożywczych.

5.1. WŁAŚCIWOŚCI I PRZEMIANY FRAKCJI TŁUSZCZOWEJ WYSTĘPUJĄCEJ W PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH I SUPLEMENTACH DIETY

Tematyką związaną z właściwościami oraz przemianami tłuszczów obecnych w produktach spożywczych zainteresowałam się podczas wykonywania części doświadczałnej mojej pracy magisterskiej, zgłębiając tę tematykę podczas realizacji pracy doktorskiej i kontynuując prace w tym zakresie po zatrudnieniu na Uczelni już po uzyskaniu stopnia doktora. W ramach prowadzonych badań opublikowano 30 prac oryginalnych, z czego 5 publikacji ukazało się przed uzyskaniem przeze mnie stopnia doktora [Zał. 4, pkt II A publ. 1, Zał. 4, pkt II D 18-20, M1], pozostałe 25 zostało opublikowanych po uzyskaniu przeze mnie stopnia doktora [Zał. 4, pkt II A publ. 3-10, 13-15, Zał. 4, pkt II D publ. 21, 23-30, 36-37, 45, 50, 65, 68].

Obecność poszczególnych grup kwasów tłuszczowych wpływa na właściwości tłuszczów, a tym samym na strukturę produktu spożywczego. Przykładowo wysoki udział nienasyconych kwasów tłuszczowych we frakcji tłuszczowej prowadzi do ciekłej postaci, natomiast wysoki udział nasyconych kwasów tłuszczowych prowadzi do stałej postaci tłuszczu. Innym sposobem na uzyskanie stałej postaci tłuszczu może być jego uwodornienie. W wyniku tego procesu wiązanie nienasycone o izomerii *cis* może zostać przekształcone w izomer *trans* lub przekształcić się w wiązanie nasycone. Obydwie sytuacje są niekorzystne z punktu widzenia żywieniowego, ponieważ kwasy te podobnie wpływają na metabolizm człowieka, a ich nadmierne spożycie może przyczyniać się do rozwoju niekorzystnych procesów w organizmie człowieka np. podwyższenia ogólnej zawartości cholesterolu oraz frakcji LDL cholesterolu w surowicy krwi. Według zaleceń raportu Światowej Organizacji Zdrowia spożycie nasyconych kwasów tłuszczowych nie powinno przekraczać 10% energii dostarczanej wraz z dietą w ciągu dnia. Wskazany jest nawet niższy poziom ich konsumpcji

oraz zwiększenie w diecie udziału nienasyconych kwasów tłuszczowych. Według zaleceń EFSA spożywanie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny n-6 oraz n-3 powinno zawierać się w przedziale od 7 do 10% energii dostarczanej wraz z dietą w ciągu dnia. Powszechnie przyjęto, że zawartość ta odpowiada stosunkowi kwasu linolowego (n-6) do kwasu α -linolenowego (n-3), który powinien wynosić 4-5 : 1 [EFSA, 2010a]. Dobrym przykładem zachowania prawidłowej proporcji pomiędzy powyższymi kwasami tłuszczowymi jest dieta śródziemnomorska, w której stosunek ten wynosi 4,5 : 1. Przeciętna europejska dieta charakteryzuje się stosunkiem kwasów z rodziny n-6 do n-3 wynoszącym około 20:1 [Załącznik 4, pkt II D, publ. 37]. Z tego powodu należy monitorować poziom poszczególnych grup kwasów tłuszczowych obecnych w produktach spożywczych. W celu poszerzenia wiedzy dotyczącej składu kwasów tłuszczowych prowadzono badania używając różnego materiału badawczego: olejów roślinnych [Załącznik 4, pkt II D publ. 3, 45, 65], wyrobów cukierniczych [Załącznik 4, pkt II D, publ. 18], batonów zbożowych [Załącznik 4, pkt II D, publ. 29], tłuszczów do smarowania pieczywa [Załącznik 4, pkt II D, publ. 37], produktów mięsnych [Załącznik 4, pkt II D, publ. 50] oraz suplementów diety [Załącznik 4, pkt II, D publ.68]. Wśród badanych grup produktów najlepszym składem frakcji tłuszczowej pod względem żywieniowym wyróżniały się oleje surowe wytłoczone z lnicznika siewnego lub z pierwiosnka, ze względu na wysoki udział wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, np. kwasu linolenowego lub linolowego. Niekorzystny skład pod względem żywieniowym stwierdzono w batonach zbożowych i cukierniczych posiadających odpowiednio od 46,0-74,0% oraz od 40,0 do 60,0% nasyconych kwasów tłuszczowych. Dodatkowo stwierdzono wysoką zawartość izomerów *trans* nienasyconych kwasów tłuszczowych w waflach tj. od 28,0 do 57,5%, batonach cukierniczych od 0,2 do 10,7% oraz w masłach jedynie od 0,6 do 2,3%, a w margarynach od 0,8 do 1% [Załącznik 4, pkt II D publ. 18, 29, 37]. Inną grupą produktów zawierającą kwasy tłuszczowe są suplementy diety [Załącznik 4, pkt II D publ. 68].

Od kilkunastu lat popularnym produktem są suplementy zawierające sprzężone dieny kwasy linolowego. Według opinii EFSA, produkty wzbogacone w równomolową mieszaninę izomerów *cis*-9, *trans*-11 i *trans*-10, *cis*-12 sprzężonego kwasu linolowego (CLA-conjugated linoleic acid) oraz zawierające ją suplementy diety, zostały dostatecznie scharakteryzowane i na podstawie licznych badań klinicznych stwierdzono, że nie występuje związek pomiędzy spożyciem wymienionych izomerów, a ich udziałem w utrzymaniu lub osiągnięciu normalnej lub mniejszej masy ciała, wzrostem beztłuszczowej masy ciała, wzrostem wrażliwości insulinowej, ochroną DNA, białek czy tłuszczów przed zmianami oksydacyjnymi, ich udziałem w systemie immunologicznym, poprzez stymulację produkcji przeciwciał w odpowiedzi na szczepienia ochronne [EFSA, 2010 b]. Pomimo tej opinii suplementy diety zawierające

sprężone dieny kwasy linolowego są popularne na rynku polskim. Na podstawie przeprowadzonych analiz zawartości kwasów tłuszczowych stwierdzono, że trzy z czterech badanych preparatów zawierających CLA nie wykazały składu zgodnego z deklaracją producenta. Deklaracje zamieszczane przez producentów tych suplementów diety różniły się ilością podawanych informacji, jak również ich szczegółowością. Informacje zawarte na opakowaniach suplementów diety niejednokrotnie mogły wprowadzać w błąd konsumentów, przedstawiając niejasną informację, która może niekiedy różnić się na opakowaniu produktu oraz na dołączonej ulotce [Zał. 4, pkt II D publ. 68].

Innym ważnym składnikiem tłuszczów występujących w produktach spożywczych jest frakcja sterolowa. W zależności od pochodzenia tłuszczu może ona być źródłem wysokiej ilości cholesterolu, np. w pasztetach, kielbasach, rybach, kotletach, jogurtach, serach dojrzewających, smalcu, tłuszczach do smarowania pieczywa [Zał. 4, pkt II D, publ. 23, 24, 26, 28, 36, 37, 50]. Profil steroli obecnych w różnych olejach roślinnych został opisany w przypadku olejów z: ogórecznika, lnicznika siewnego, amarantusa, wiesiołka, lnu, rzepaku, z pestek rokitnika, pestek dyni, nasion maku i sezamu [Zał. 4, pkt II A, publ. 3, 5, 6, 8, 9, 13-14, Zał. 4, pkt II D, publ. 20, 45]. Profil frakcji sterolowej został opisany również w batonach zbożowych [Zał. 4, pkt II D, publ. 29]. Dodatkowo w ramach prac nad przemianami steroli podczas obróbki termicznej przeprowadzono analizy, w których materiałem był smalec, dodatek oleju z pestek rokitnika do oleju sojowego, mieszanek oleju rzepakowego z różnymi dodatkami [Zał. 4, pkt II A, publ. 6; Zał. 4, pkt II D, publ. 19, 20, 24, 25]. W wyniku doświadczeń stwierdzono, że podczas obróbki mikrofalowej oleju rzepakowego oraz mieszanin na jego bazie (z dodatkiem 5% preparatu fitosteroli, 5% cholesterolu, 1% BHT, 1% skwalenu oraz olej rzepakowy z 16% dodatkiem oleju z amarantusa) stabilność steroli w była mniejsza (ubytek zawartości 6-34%) niż podczas ogrzewania kontaktowego w temp. 150°C (ubytek zawartości od 5 do 15%). W oleju sojowym z 1, 3, 5, 25, 50, 75% dodatkiem oleju z pestek rokitnika ubytki sumarycznej zawartości fitosteroli po przeprowadzeniu testu Rancimat zawierały się w przedziale od 5,2 do 21,3%. Na podstawie modelowych badań, dotyczących obróbki termicznej smalcu oraz smalcu z dodatkiem 10% fitosteroli, prowadzonych w temp. 150°C przez okres 20, 40 i 60 minut stwierdzono, że przemiany te zależą od czasu trwania obróbki termicznej, a najwyższa strata zawartości steroli wynosiła 30%. Dodatkowo stwierdzono, że grubość warstwy tłuszczu ma istotny wpływ na ubytek cholesterolu w trakcie obróbki termicznej prowadzonej w temp. 150°C przez 120 minut [Zał. 4, pkt II D publ. 19].

W wyniku prowadzonych badań zaobserwowano proces oksydacji steroli. W badanych produktach, olejach i tłuszczach stwierdzono obecność zarówno produktów utleniania

cholesterolu, jak i fitosteroli [Zał. 4, pkt II A, publ. 4, 7; Zał. 4, pkt II D, publ. 21, 23-26, 28]. Proces pieczenia, gotowania, smażenia z zastosowaniem oleju rzepakowego lub poddawanie utlenianiu w aparacie Rancimat prowadziło do zwiększenia zawartości produktów utleniania steroli. Przykładowo modelowe badania dotyczące ogrzewania smalcu w temp. 150°C prowadziły do powstania następujących produktów utleniania cholesterolu: 7 β -hydroksycholesterolu, 5 β ,6 β -epoksycholesterolu, 5 α ,6 α -epoksycholesterolu, triolu, 25-hydroksycholesterolu i 7-ketocholesterolu. W zależności od grubości warstwy ogrzewanego smalcu oraz czasu trwania obróbki termicznej, ogólna zawartość produktów utleniania cholesterolu była zróżnicowana i wahała się w próbkach ogrzewanych w cienkiej warstwie tłuszczu (3 \pm 0,5 mm) od 1,5 do 10,4 μ g/g, a grubej warstwie tłuszczu (10 \pm 0,5 mm) od 1,5 do 8,9 μ g/g [Zał. 4, pkt II D, publ. 24]. Podobne zależności stwierdzono w produktach mięsnych przed i po procesie obróbki termicznej, np. smażenia w oleju rzepakowym kotletów z mięsa wieprzowego oraz wołowego. W obydwu produktach zidentyfikowano pochodne cholesterolu: 7 β -hydroksycholesterol, 25-hydroksycholesterol i 7-ketocholesterol, a ich sumaryczna zawartość przed obróbką termiczną wynosiła w kotletach wieprzowych 188,8 μ g, a w kotletach wołowych -147,2 μ g w przeliczeniu na 100 g produktu. Smażenie mięs doprowadziło do wzrostu ogólnej zawartości produktów utleniania cholesterolu do 565,5 μ g w mięsie wieprzowym i 828,8 μ g w 100 gramach mięsa wołowego [Zał. 4, pkt II A, publ. 4]. Odwrotną tendencję zaobserwowano podczas dojrzewania kielbas wieprzowych. Proces fermentacji kielbas wieprzowych prowadził do obniżenia się ogólnej zawartości produktów utleniania cholesterolu. Wśród zidentyfikowanych oksysteroli były: 7 β -hydroksycholesterol, 5 β ,6 β -epoksycholesterol, 5 α ,6 α -epoksycholesterol, 25-hydroksycholesterol i 7-ketocholesterol. Spadek ogólnej zawartości produktów utleniania cholesterolu w trakcie fermentacji kielbas był statystycznie istotny i wyniósł średnio od 15-27%, co oznaczało ubytek około 2 μ g oksysteroli w przeliczeniu na 1 g tłuszczu [Zał. 4, pkt II D, publ. 26].

Wymuszony proces oksydacji oleju sojowego z dodatkiem oleju z pestek rokitnika spowodował powstanie następujących produktów utleniania fitosteroli: 7-ketositosterolu, 5 α ,6 α -epoksysitosterolu, 7-ketokampesterolu, 5 α ,6 α -epoksykampesterolu, 7-ketostigmasterolu i 5 α ,6 α -epoksykammasterolu. Stwierdzono, że im wyższy zastosowano dodatek oleju z pestek rokitnika do oleju sojowego, tym wyższa była ogólna zawartość produktów utleniania fitosteroli w badanych mieszankach. Po przeprowadzonym teście z użyciem aparatu Rancimat w oleju sojowym z dodatkiem 1% oleju z pestek rokitnika zawartość oksyfitosteroli wynosiła 1,2 mg/100 g, a w oleju sojowym z 5% dodatkiem oleju z pestek rokitnika – 11,4 mg produktów utleniania fitosteroli w 100 g oleju [Zał. 4, pkt II D, publ. 25]. W produktach spożywczych

poddanych obróbce termicznej np. smażeniu, pieczeniu i gotowaniu stwierdzono zainicjowanie procesu utleniania fitosteroli. Po obróbce termicznej frytek prowadzonej w temp. 225°C przez 15 minut stwierdzono, że ogólna zawartość fitosteroli wynosiła od 9,0 do 68,8 µg/g tłuszczu. Proces gotowania makaronu prowadził do oksydacji steroli obecnych we frakcji tłuszczowej, a ich ogólna zawartość wahała się od 1,8 do 4,0 µg/g tłuszczu. Smażenie filetów rybnych z użyciem oleju rzepakowego prowadziło do powstania od 32,3 do 38,7 µg oksyfitosteroli w przeliczeniu na 1 g tłuszczu. Wśród pochodnych utleniania fitosteroli najczęściej identyfikowano 7-ketositosterol i 7-ketokampesterol [Zał. 4, pkt II A, publ. 7].

Literatura:

1. EFSA, 2010a. The European Food Safety Authority (2010), Scientific Opinion on Dietary Reference Values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, *trans* fatty acids, and cholesterol. EFSA Journal, 8(3):1461, 1-5.
2. EFSA, 2010b : Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to conjugated linoleic acid (CLA) isomers and contribution to the maintenance or achievement of a normal body weight, increase in lean body mass, increase in insulin sensitivity, protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage, and contribution to immune defenses by stimulation of production of protective antibodies in response to vaccination, pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. The EFSA Journal, 8(10):1794.

5.2. PROBLEMATYKA ZAFALSZOWAŃ ŻYWNOŚCI ORAZ PRZEKAZYWANIA RZETELNYCH INFORMACJI KONSUMENTOM O PRODUKCIE

W ramach prowadzonych badań opublikowano 5 prac oryginalnych. Jedna z tych publikacji ukazała się przed uzyskaniem przeze mnie stopnia doktora [Zał. 4, pkt II A publ. 2], pozostałe 4 ukazały się po uzyskaniu przeze mnie stopnia doktora [Zał. 4, pkt II D publ. 52, 62, 66, M2].

Według Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011 z dnia 25 października 2011 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności, osoby wprowadzające produkty spożywcze na rynek europejski mają obowiązek rzetelnego informowania na temat produktu.

Składniki występujące w produktach spożywczych mogą posłużyć do określenia ich autentyczności, czyli potwierdzenia informacji podanych przez producenta odnośnie tożsamości i składu, właściwości lub innych cech danego środka spożywczego. Analiza zawartości kwasów tłuszczowych i steroli w przypadku czekolad i kaw oraz takich wyróżników fizykochemicznych, jak zawartość wolnych kwasów tłuszczowych, pH, przewodność elektryczna właściwa, zawartość popiołu, białka, cukrów prostych i sacharozy, jak również zastosowanie metod analizy statystycznej umożliwiło wskazanie, że wśród 25 badanych

czekolad 7 było zafałszowanych [Zał. 4, pkt II A publ. 2; Zał. 4, pkt II D publ. 52, 62, M2]. Z kolei analiza składowych głównych zastosowana przy analizie składu kwasów tłuszczowych i steroli kaw, może posłużyć do identyfikacji pochodzenia regionalnego kaw gatunku *Coffea Arabica* [Zał. 4, pkt II D publ. M2].

Dodatkowo według Rozporządzenia nr 1169/2011 należy informować konsumentów o możliwości wystąpienia substancji powodujących alergię i nietolerancję pokarmowe. Obowiązek ten dotyczy żywności pakowanej, nieopakowanej i przekazywanej w formie degustacji. Dostęp do informacji dotyczących składu produktów może być niejednokrotnie utrudniony, co zostało opisane w publikacji dotyczącej przekazywanych informacji dotyczącej alergenów podczas sprzedaży żywności pakowanej i dostępnej w restauracjach [Zał. 4, pkt II D publ. 58]. Dwa lata później zostały wykonane analizy zawartości alergenów sojowych w wybranych produktach spożywczych w celu potwierdzenia rzetelności informacji przekazywanych konsumentom przez producentów żywności. Na podstawie badań uzyskanych dzięki zastosowaniu testu immunoenzymatycznego stwierdzono, że zdecydowana większość z badanych produktów została w prawidłowy sposób oznakowana pod względem obecności alergenów sojowych [Zał. 4, pkt II D publ. 66].

Literatura:

1. ROZPORZĄDZENIE PARLAMENTU EUROPEJSKIEGO I RADY (UE) NR 1169/2011 z dnia 25 października 2011 r. w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności, zmiany rozporządzeń Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1924/2006 i (WE) nr 1925/2006 oraz uchylecia dyrektywy Komisji 87/250/EWG, dyrektywy Rady 90/496/EWG, dyrektywy Komisji 1999/10/WE, dyrektywy 2000/13/WE Parlamentu Europejskiego i Rady, dyrektyw Komisji 2002/67/WE i 2008/5/WE oraz rozporządzenia Komisji (WE) nr 608/2004

5.3. WŁAŚCIWOŚCI BIOAKTYWNE SKŁADNIKÓW WYSTĘPUJĄCYCH W WYBRANYCH PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH

Składniki obecne w żywności, które nie są substancjami odżywczymi mogą mieć różnorodny wpływ na organizm ludzki, prowadząc do osiągnięcia konkretnego efektu w funkcjonowaniu organizmu człowieka. Takie substancje nazywa się bioaktywnymi, a ich działanie w zależności od zastosowanej dawki może być pozytywne lub negatywne. W ramach prowadzonych badań opublikowano łącznie 19 prac oryginalnych [Zał. 4, pkt II A publ. 12, 17; Zał. 4, pkt II D publ. 22, 32, 33, 38, 40-43, 46-48, 51, 53, 54, 60, 61, 63, 64], które ukazały się po uzyskaniu przez mnie stopnia doktora.

Jednym z pozytywnych efektów działania na organizm ludzki odznaczają się związki fenolowe. W wyniku oznaczania właściwości przeciwrodnikowych (i innych właściwości)

oraz zawartości związków o charakterze przeciwutleniającym można wnioskować czy badane surowiec lub produkt może mieć znaczący wpływ na organizm człowieka. W tym celu zbadano właściwości przeciwrodnikowe w następujących produktach: miodach i ich produktach, owocach egzotycznych, żurawinie, suszonych figach, kielkach nasion, orzechach, kawach, oleju rzepakowym, ziarnach kakaowych i produktach ich przerobu, kwiatach jadalnych, ekstraktach herbat [Zał. 4, pkt II A publ. 12; Zał. 4, pkt IID publ. 22, 31, 33, 40-43, 46-48, 51, 53, 54, 60, 61, 63, 64]. Spośród wszystkich analizowanych produktów silnymi właściwościami przeciwrodnikowymi wyróżniały się owoce egzotyczne np. mangostan, mango, liczi, suszone figi [Zał. 4, pkt II D publ. 38, 51], jak również nasiona kielków, np. słonecznika, brokułów, rzodkiewki oraz kwiaty dzikiej róży [Zał. 4, pkt II D publ. 48, 63]. Warto podkreślić, że również produkty pszczelarskie posiadają ww. właściwości i w tej grupie produktów należy wyróżnić głównie pyłek kwiatowy, pierzgę oraz miody pitne szczególnie półtorak [Zał. 4, pkt II publ. 21, 41, 42]. Innym ważnym aspektem jest również wpływ procesów przetwarzania surowców i produktów na właściwości przeciwutleniające. Badania nad wpływem mechanicznego obłuskiwania, prażenia i termicznej obróbki wstępnej nasion rzepaku wskazują, że obróbka mikrofalowa (prowadzona w warunkach od 2 do 10 min z dwuminutowymi przerwami, 800 W) i prażenie (od 20 do 100 min z dwudziestominutowymi przerwami, 165°C) przyczyniły się do zwiększenia właściwości przeciwutleniających olejów rzepakowych. Wzrost aktywności przeciwrodnikowej zaobserwowano głównie we frakcji hydrofilowej olejów i była skorelowana z wysoką zawartością kanololu [Zał. 4, pkt II A publ. 12].

Wśród składników bioaktywnych o negatywnym, a wręcz toksycznym, wpływie na organizm można wymienić wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA). Jest to grupa związków o potwierdzonym działaniu genotoksycznym, mutagennym oraz kancerogennym. Wśród procesów, które przyczyniają się do wzrostu zawartości WWA w żywności, są procesy obróbki termicznej, tj. grillowania, wędzenia i pieczenia na rożnie. W przeprowadzonych badaniach potwierdzono, że pomimo zastosowania różnych sposobów obróbki termicznej produktów mięsnych ilość powstających WWA nie przekraczała limitów regulowanych przez Rozporządzenie Komisji (UE) nr 835/2011 [Zał. 4, pkt II D publ. 33]. Dodatkowo zbadano poziom zanieczyszczenia zielonych ziaren kawy gatunków *Coffea arabica* L. i *Coffea canephora* „*Coffea robusta*” oraz ich prażonych odpowiedników. Wykazano, że proces prażenia ziaren kawy w łagodnych warunkach (przez 25 - 26 min. w temp. od 125 do 135°C) w piecu elektrycznym prowadził do statystycznie niższej zawartości WWA, co powoduje zwłaszcza redukcja zawartości tzw. lekkich WWA w porównaniu z ziarnami zielonymi [Zał. 4, pkt II A publ. 17].

5.4. ANALIZA ZWIĄZKÓW LOTNYCH W WYBRANYCH PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH

Profil związków lotnych obecnych w aromacie poszczególnych produktów może być źródłem istotnych informacji dotyczących pochodzenia surowca i/lub produktu oraz jakości badanego produktu [Zał. 4, pkt II A publ. 15, Zał. 4, pkt II D publ. 35, prace zostały opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora].

Analiza związków lotnych wchodzących w skład aromatu brandy wyprodukowanej przy użyciu jemioli na terenie Chorwacji umożliwiła dokonanie szczegółowej charakterystyki wódek wyprodukowanych zarówno w warunkach domowych, jak i przemysłowych. Bardzo szczegółowa analiza poszczególnych grup związków lotnych tj. estrów, alkoholi, aldehydów, terpenów, kwasów, acetalii połączona z analizą statystyczną doprowadziła do wskazania różnic między 14 badanymi produktami. Wyniki obserwacji pozwoliły wywnioskować, że związki obecne w niewielkiej ilości wśród związków lotnych wódek mogą mieć istotny wpływ na jakość aromatu. Ponadto stwierdzono, że czynnikami, które miały wpływ na skład profilu związków lotnych brandy były warunki środowiskowe wzrostu jemioli, czas zbioru jemioli, procesy występujące podczas produkcji wódek [Zał. 4, pkt II A publ. 15].

Innym przykładem wykorzystania ww. analiz jest określenie wpływu przechowywania produktów spożywczych, np. orzechów na ich jakość. Analiza związków lotnych dostarczać może wielu informacji dotyczących przemian składników żywności w trakcie przechowywania. Na podstawie analizy 9 gatunków orzechów stwierdzono, że najbardziej charakterystycznymi związkami ich aromatu były aldehydy, alkohole, kwasy i węglowodory [Zał. 4, pkt II D publ. 35]. Przy użyciu narzędzi analizy statystycznej stwierdzono, że trzymiesięczny okres przechowywania orzechów miał istotny wpływ na profil związków lotnych pod względem jakościowym i ilościowym. Wysoki udział poszczególnych aldehydów i alkoholi w profilu związków lotnych przechowywanych orzechów może świadczyć o niekorzystnych przemianach nienasyconych kwasów tłuszczowych [Zał. 4, pkt II D publ. 35].

5.5. ANALIZA RYNKU PRODUKTÓW SPOŻYWCZYCH ORAZ POZIOMU WIEDZY I PREFERENCJI KONSUMENTÓW DOTYCZĄCYCH WYBRANYCH PRODUKTÓW SPOŻYWCZYCH

W ramach prowadzonych badań opublikowano łącznie 10 prac oryginalnych [Zał. 4, pkt II D publ. 32, 34, 39, 44, 49, 55-57, 59, 67], które ukazały się po uzyskaniu przez mnie stopnia doktora.

Oceny rynku wybranych produktów spożywczych dokonano m. in. na podstawie analizy raportów systemu wczesnego ostrzegania o niebezpieczeństwie pochodzącym z żywności

lub pasz (RASFF - Rapid Alert System for Food and Feed). W wyniku tych prac można wywnioskować, że produkty obecne na rynku europejskim są to produkty bezpieczne, aczkolwiek kontrole prowadzone przez urzędowe jednostki sprawujące nadzór nad żywnością i paszami notują co roku różnego rodzaju nieprawidłowości. W latach 2009-2013 wśród najczęstszych zagrożeń chemicznych stwierdzonych w produktach spożywczych na rynku europejskim zdarzały się przekroczenia limitów skażenia: mykotoksynami, pestycydami, metalami ciężkimi, a rzadziej dioksynami oraz polichlorowanymi bifenyłami [Zał. 4, pkt II D publ. 44]. Badania ankietowane dotyczące poziomu wiedzy konsumentów na temat tych zagrożeń, w tym szczególnie toksyn grzybowych wykazały niski poziom świadomości konsumentów [Zał. 4, pkt II D publ. 32]. Występowanie zagrożeń o charakterze fizycznym, tj. owadów, szkła czy metali było zdecydowanie niższe niż zagrożeń chemicznych występujących w ilości od 3,0 do 4,7% w skali zagrożeń zgłoszonych do systemu RASFF w latach 2012-2015 [Zał. 4, pkt II D publ. 59].

Na podstawie innych badań dokonano analizy rynku warszawskich produktów wzbogacanych w fitosterole i fitostanole i stwierdzono, że rynek ten jest ubogi w produkty wzbogacone w fitosterole, szczególnie w odniesieniu do innych rynków europejskich oraz ilości i różnorodności środków spożywczych zatwierdzonych przez Komisję Europejską. Ponadto zaobserwowano, że zainteresowanie polskich wytwórców żywności tym obszarem rynku jest niewielkie, a koncerny międzynarodowe oferują na polskim rynku tylko niewielką część asortymentu udostępnianego w innych krajach [Zał. 4, pkt II D publ. 34].

W nauce o żywności ważne miejsce zajmują również badania dotyczące preferencji konsumentów. W celu poszerzenia wiedzy w tym obszarze dokonano weryfikacji przyzwyczajzeń konsumentów poddając ich badaniom ankietowym. Wyniki przeprowadzonych analiz pozwoliły wywnioskować, że wysoki odsetek konsumentów (90%) kupuje produkty mrożone, spożywając gotowe dania obiadowe nawet raz w tygodniu [Zał. 4, pkt II D publ. 39]. Natomiast badania dotyczące preferencji konsumentów na rynku produktów słodczy świadczą o tym, że konsumenci raczej sięgają po te produkty pod wpływem impulsu, zdając sobie sprawę z niekorzystnego wpływu ich nadmiernego spożycia na organizm ludzki, a zmiana przyzwyczajzeń konsumentów jest bardzo trudna [Zał. 4, pkt II D publ. 57], co zostało potwierdzone wynikiem badań sensorycznych czekolad z wysoką zawartością kakao [Zał. 4, pkt II D publ. 56]. Wśród najistotniejszych czynników wpływających na zachowania konsumentów na rynku produktów piekarskich były atrakcyjność sensoryczna oraz zdrowotność [Zał. 4, pkt II D publ. 67].