

AUTOREFERAT

z opisem osiągnięć naukowych związanych
z postępowaniem habilitacyjnym

Załącznik 3

dr inż. Joanna Julia Bryś

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Wydział Nauk o Żywności

Katedra Chemii

Warszawa 2019

Spis treści:

1. Dane osobowe	3
2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe	3
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	4
4. Wskazanie osiągnięcia stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego	
a) Tytuł osiągnięcia naukowego	
b) Spis publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego	5 5
c) Omówienie celu naukowego i uzyskanych wyników wskazanego osiągnięcia	8
5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych	29
6. Podsumowanie dorobku naukowo-badawczego	49
7. Współpraca z ośrodkami badawczymi, z otoczeniem gospodarczym; działalność dydaktyczna i popularyzacja nauki	51

1. Dane osobowe

Imię i nazwisko: **Joanna Julia Bryś**
Miejsce pracy: Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Wydział Nauk o Żywności
Katedra Chemii
ul. Nowoursynowska 159c
02-787 Warszawa

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

- 2005 r.** **Doktor nauk rolniczych**
w zakresie technologii żywności i żywienia
Tytuł rozprawy doktorskiej:
„Badanie właściwości produktów przeestryfikowania mieszanin tłuszczu mlecznego i olejów roślinnych”
Promotor: prof. dr hab. Bolesława Kowalski
Wydział Nauk o Żywności
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
- 2001 r.** **Magister inżynier w zakresie technologii żywności**
Tytuł pracy magisterskiej:
„Wpływ ilości katalizatora na właściwości przeestryfikowanych mieszanin łożu wołowego z olejem rzepakowym”
Promotor: prof. dr hab. Bolesława Kowalski
Wydział Technologii Żywności
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
- 2002 r.** **Studia Podyplomowe w zakresie Doskonalenia Pedagogicznego**
Wydział Ekonomiczno-Rolniczy
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- 30.12.2006 r. -** Katedra Chemii
do chwili obecnej Wydział Nauk o Żywności
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
adiunkt
- 01.11.2010r. -** Instytut Żywności, Żywienia i Zdrowia
31.10.2011r. Politechnika Federalna w Zurychu (ETHZ)
Szwajcaria
staż naukowy
- 30.12.2005r. -** Katedra Chemii
29.12.2006r. Wydział Technologii Żywności (obecnie Wydział Nauk o Żywności)
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
asystent

Przerwy w wykonywaniu obowiązków wynikających z zajmowanych stanowisk pracy:

02.12.2009 – 20.04.2009 - urlop macierzyński z tytułu urodzenia drugiego dziecka

21.03.2007 – 24.07.2007 - urlop macierzyński z tytułu urodzenia pierwszego dziecka

4. Wskazanie osiągnięcia stanowiącego podstawę postępowania habilitacyjnego

a) Tytuł osiągnięcia naukowego

Osiągnięciem naukowym wynikającym z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm. Dz. U. z 2011 r. nr 204, poz. 1200) jest cykl publikacji naukowych pt.

„ZAMIENNIKI TŁUSZCZU MLEKA KOBIECEGO – CHARAKTERYSTYKA INNOWACYJNYCH LIPIDÓW STRUKTURYZOWANYCH UZYSKANYCH NA DRODZE PRZEESTRYFIKOWANIA ENZYMATYCZNEGO”

b) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

H1. Bryś J., Wirkowska M., 2010, Znaczenie struktury triacylogliceroli w projektowaniu lipidów strukturyzowanych. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 20 (2), 86 – 89 (MNiSW2010 – 6 pkt).

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na określeniu koncepcji artykułu, zebraniu i analizowaniu materiału publikacyjnego, przygotowaniu tekstu manuskryptu, także jego korekcie wynikającej z przedstawionych recenzji i korespondencji z redakcją czasopisma. Mój udział procentowy szacuję na 90 %.

H2. Wirkowska M., Bryś J., Górską A., Ostrowska-Ligęza E., Tarnowska K., 2012, Próba wzbogacenia tłuszczu mlecznego kwasami EPA i DHA. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 82 (3), 46-55 (IF2012 – 0,19; MNiSW2012 - 15pkt).

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na określeniu koncepcji badań, pozyskaniu funduszy na badania (redaktor wniosku o finansowanie projektu badawczego własnego, kierownik projektu i główny wykonawca zaplanowanych badań, współautor i redaktor raportów), zaplanowaniu doświadczeń, wykonaniu analiz chromatograficznych, interpretacji wyników oraz napisaniu części manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 60 %.

H3. Bryś J., Wirkowska-Wojdyła M., Górską A, Ostrowska-Ligęza E., Ciemnińska-Żytkiewicz H., Kowalska D., 2015, Próba uzyskania zamienników tłuszczu mleka kobiecego na drodze przeestryfikowania enzymatycznego. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 48 (3), 265-269 (MNiSW2015 - 6 pkt).

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na określeniu koncepcji badań, pozyskaniu funduszy na badania (redaktor wniosku o finansowanie projektu badawczego własnego, kierownik projektu i główny wykonawca zaplanowanych badań, współautor i redaktor raportów), zaplanowaniu doświadczeń, współudziale w wykonaniu eksperymentów mających na celu uzyskanie zamienników tłuszczu mleka kobiecego, wykonaniu analiz chromatograficznych, interpretacji wyników, napisaniu części manuskrypt, korespondencji z redakcją czasopisma, wykonaniu korekty artykułu, wynikającej z przedstawionych recenzji. Mój udział procentowy szacuję na 60 %.

- H4.** Bryś J., Wirkowska-Wojdyła M., Górską A., Ostrowska-Ligęza E., Burek M., Tarnowska K., 2016, Skład i rozmieszczenie kwasów tłuszczowych w triacyloglicerolach zamienników tłuszczu mleka kobiecego. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 49 (3), 229-233 (MNiSW2016 – 6 pkt).

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na określeniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń, współudziale w wykonaniu doświadczeń mających na celu uzyskanie zamienników tłuszczu mleka kobiecego, wykonaniu analiz chromatograficznych, interpretacji wyników, napisaniu manuskrypt, korespondencji z redakcją czasopisma, wykonaniu korekty artykułu, wynikającej z przedstawionych recenzji. Mój udział procentowy szacuję na 60 %.

- H5.** Bryś J., Vaz Flores I.F., Wirkowska-Wojdyła M., Górską A., Ostrowska-Ligęza E., Bryś A., 2017, Właściwości zamienników tłuszczu mleka kobiecego uzyskanych na drodze przeestryfkowania smalcu i oleju z ostropestu plamistego. Monografia pod red. A. Pękasy „*Żywność dla przyszłości: XLIII Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności i Żywieniu PAN*”, Wrocław, 4-5 lipca 2017 r, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego, ISBN 9788377172643, 41-48 (MNiSW2017 – 5 pkt).

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na określeniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń, współudziale w wykonaniu eksperymentów mających na celu uzyskanie zamienników tłuszczu mleka kobiecego, wykonaniu analiz chromatograficznych, interpretacji wyników, napisaniu manuskrypt, korespondencji z redakcją czasopisma, wykonaniu korekty artykułu, wynikającej z przedstawionych recenzji. Mój udział procentowy szacuję na 75 %.

- H6.** Wirkowska M., Bryś J., Górską A., Ostrowska-Ligęza E., Koczón P., 2012, Oxidative properties of interesterified mixtures of milk fat, rapeseed oil and n-3 fatty acids. *Cheminé Technologija*, 61(3), 11 – 13 (MNiSW2012 – 5 pkt).

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na określeniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń, pozyskaniu funduszy na badania (redaktor wniosku o finansowanie projektu badawczego własnego, kierownik projektu i główny wykonawca zaplanowanych badań, współautor i redaktor raportów), współudziale w wykonaniu doświadczeń mających na celu uzyskanie zamienników tłuszczu mleka kobiecego, interpretacji wyników, napisaniu części manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 65 %.

- H7. Bryś J.,** Wirkowska M., Górską A., Ostrowska-Ligęza E., Bryś A., 2012, The use of Lipozyme RM IM for modifying the properties of lard. *Cheminè Technologija*, 61(3), 19 – 21 (MNiSW2012 – 5 pkt).

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na określeniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń, pozyskaniu funduszy na badania (redaktor wniosku o finansowanie projektu badawczego własnego, kierownik projektu i główny wykonawca zaplanowanych badań, współautor i redaktor raportów), współudziale w wykonaniu doświadczeń mających na celu uzyskanie zamienników tłuszczu mleka kobiecego, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu, korespondencji z redakcją czasopisma, wykonaniu korekty artykułu, wynikającej z przedstawionych recenzji. Mój udział procentowy szacuję na 65 %.

- H8. Bryś J.,** Wirkowska M., Górską A., Ostrowska-Ligęza E., Bryś A., Koczoń P., 2013, The use of DSC and FT-IR spectroscopy for evaluation of oxidative stability of interesterified fats. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 112(1), 481-487 (IF2013 – 2,206; MNiSW2013 - 20 pkt).

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na określeniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń, pozyskaniu funduszy na badania (redaktor wniosku o finansowanie projektu badawczego własnego, kierownik projektu i główny wykonawca zaplanowanych badań, współautor i redaktor raportów), współudziale w wykonaniu doświadczeń mających na celu uzyskanie zamienników tłuszczu mleka kobiecego i wykonaniu analiz chromatograficznych, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu, korespondencji z redakcją czasopisma, wykonaniu korekty artykułu, wynikającej z przedstawionych recenzji. Mój udział procentowy szacuję na 60 %.

- H9. Bryś J.,** Wirkowska M., Górską A., Ostrowska-Ligęza E., Bryś A., 2014, Application of the calorimetric and spectroscopic methods in analytical evaluation of the human milk fat substitutes. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 118 (2), 841-848 (IF2014 – 2,042; MNiSW2014 - 25 pkt).

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na określeniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń, pozyskaniu funduszy na badania (redaktor wniosku o finansowanie projektu badawczego własnego, kierownik projektu i główny wykonawca zaplanowanych badań, współautor i redaktor raportów), współudziale w wykonaniu doświadczeń mających na celu uzyskanie zamienników tłuszczu mleka kobiecego i wykonaniu analiz chromatograficznych, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu, korespondencji z redakcją czasopisma, wykonaniu korekty artykułu, wynikającej z przedstawionych recenzji. Mój udział procentowy szacuję na 70 %.

H10. Bryś J., Vaz Flores I.F., Górska A., Wirkowska-Wojdyła M., Ostrowska-Ligęza E., Bryś A., 2017, Use of GC and PDSC methods to characterize human milk fat substitutes obtained from lard and milk thistle oil mixtures. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 130 (1), 319–327 (IF2017 – 2,209; MNiSW2017 – 20 pkt).

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na określeniu koncepcji badań, zaplanowaniu doświadczeń, współudziale w wykonaniu doświadczeń mających na celu uzyskanie zamienników tłuszczu mleka kobiecego i wykonaniu analiz chromatograficznych, interpretacji wyników, napisaniu manuskryptu, korespondencji z redakcją czasopisma, wykonaniu korekty artykułu, wynikającej z przedstawionych recenzji. Mój udział procentowy szacuję na 75%.

Odpowiednie oświadczenia Współautorów przedstawiono w załączniku 6.

Sumaryczny IF prac stanowiących podstawę ubiegania się o stopień doktora habilitowanego wynosi **6,647** według roku opublikowania, suma punktów według punktacji **MNiSW**, obliczona według roku publikacji, wynosi **113**.

c) **Omówienie celu naukowego i uzyskanych wyników wskazanego osiągnięcia**

Wstęp

Mleko kobiece jest nieodzownym i niezbędnym źródłem pożywienia przez pierwsze pół roku życia dziecka, a w kolejnych miesiącach, choć jego udział w diecie staje się coraz mniej niezastąpiony, nadal stanowi jej istotny element [Hamosh i wsp. 1985]. Podobnie jak inne rodzaje mleka jest układem koloidalnym o złożonej budowie i kompleksowym składzie; zawiera węglowodany i sole mineralne we właściwym i zbilansowanym stężeniu, zdyspergowane białka, komórki somatyczne, enzymy i białka odpornościowe [Jensen 1996].

Stanowi ono zatem źródło składników odżywczych potrzebnych do prawidłowego wzrostu i rozwoju niemowląt, a podawane prosto z piersi matki dodatkowo posiada odpowiednią temperaturę, właściwości antybakteryjne, jest zawsze świeże i nie wymaga żadnego specjalnego przygotowania [Sahin-Yesilçubuk i Akoh 2017]. W skład mleka kobiecego wchodzi również tłuszcz, czyli substancje o szczególnym znaczeniu fizjologicznym dla niemowląt i małych dzieci. Tłuszcze są związkami odżywczymi niezbędnymi do normalnego rozwoju niemowląt i małych dzieci, głównie dlatego, że wprowadzają do organizmu wielonienasycone kwasy tłuszczowe będące składnikami niezbędnymi do prawidłowego rozwoju mózgu i układu nerwowego, membran komórkowych, stanowią również nośnik dla witamin rozpuszczalnych w tłuszczach i hormonów zawartych w mleku [Jensen 1996]. Specyficzną cechą tłuszczu mleka kobiecego jest jego skład zawierający wielonienasycone długołańcuchowe kwasy tłuszczowe (LCPUFA). Głównymi LCPUFA występującymi w tłuszczu mleka matki są: kwas eikozapentaenowy (EPA), dokozaheksaenowy (DHA) oraz arachidonowy (ARA). To właśnie powyższe kwasy są odpowiedzialne za właściwy wzrost i mineralizację kości, a także za odpowiedni rozwój centralnego układu nerwowego. LCPUFA są również prekursorami prostaglandyn i eikozanoidów pełniących funkcje regulacyjne, m.in. są mediatorami reakcji immunologicznej, przepływu naczyniowego krwi i agregacji płytek [Mojska 2001, Alles i wsp. 2004]. Tłuszcz mleka kobiecego charakteryzuje się nie tylko specyficznym składem kwasów tłuszczowych, ale również specyficznym ich rozmieszczeniem w cząsteczkach triacylogliceroli. Według badań naukowych, to właśnie ta specyfika stereoizomeryczna triacylogliceroli obecnych w mleku kobiecym przyczynia się do zwiększenia absorpcji tłuszczu z pokarmu oraz zmniejszenia tworzenia się nierozpuszczalnych soli wapniowych i zmniejszenia wydalania wapnia i magnezu z organizmu [Lopez-Lopez i wsp. 2001]. Skład chemiczny mleka ludzkiego jest w pewnych granicach labilny. Zawartość niektórych składników chemicznych, w tym skład kwasów tłuszczowych, zmienia się w zależności od fazy laktacji, pory dnia czy też diety matki [Koletzko i wsp. 2001, Martysiak-Żurowska 2008].

Chociaż mleko matki uważa się za najlepsze pożywienie dla niemowląt, nie zawsze jednak karmienie naturalne jest możliwe. Istnieje wówczas konieczność zastąpienia mleka matki mlekiem modyfikowanym. Efektem intensywnych badań naukowych nad profilem poszczególnych kwasów tłuszczowych w mleku matki i ich specyficzną rolą w żywieniu niemowląt jest opracowanie nowoczesnych technologii produkcji mleka modyfikowanego do sztucznego żywienia niemowląt, w możliwie jak największym stopniu upodobnionego do wzorca – pokarmu naturalnego [Solarczyk i Socha 2002]. W celu uzyskania mleka

modyfikowanego zbliżonego składem kwasów tłuszczowych i o podobnej strukturze regiospecyficznej triacylogliceroli do tłuszczu mleka kobycego stosuje się modyfikację różnego rodzaju tłuszczów. Jednym ze sposobów modyfikacji lipidów jest proces przeestryfikowania [Bryś i wsp. 2006]. Przeestryfikowanie jest reakcją polegającą na redystrybucji kwasów tłuszczowych między cząsteczkami triacylogliceroli oraz wewnątrz nich, aż do osiągnięcia równowagi termodynamicznej. Otrzymane produkty charakteryzują się podobnym do mieszanin wyjściowych stopniem nasycenia i profilem kwasów tłuszczowych, ale różnią się stereochemią triacylogliceroli, co wpływa na ich właściwości fizykochemiczne i odżywcze [Rodrigues i Gioielli 2003, Karabulut i wsp. 2004, Idris i Mat Dian 2005, Farfán i wsp. 2013]. Reakcję przeestryfikowania można prowadzić w obecności katalizatorów chemicznych lub enzymatycznych. Przeestryfikowanie enzymatyczne jest prostszym procesem w porównaniu do chemicznego, gdyż składa się z mniejszej liczby etapów, a stosowana temperatura jest względnie niska (55°C do 70°C), podczas gdy chemiczne przeestryfikowanie jest zwykle przeprowadzane w wyższej temperaturze (od 70°C do 120°C). Enzymatyczne przeestryfikowanie można kontrolować i przerwać na dowolnym etapie [Paula i wsp. 2018, Norizzah i wsp. 2018]. Przewaga przeestryfikowania enzymatycznego nad chemicznym wynika też z faktu, że proces ten jest bardziej charakterystyczny, zwłaszcza jeśli stosuje się lipazy o różnej specyficzności. W wyniku użycia tego typu lipaz można uzyskać tłuszcze, które mają pożądane właściwości fizyczne i żywieniowe, a których nie można otrzymać na drodze przeestryfikowania chemicznego. Poza tym, ze względu na stosowanie w trakcie procesu względnie niskich temperatur, labilne kwasy tłuszczowe nie ulegają utlenianiu, natomiast pozostałe składniki znajdujące się w oleju, takie jak np. witamina E nie ulegają rozkładowi. W trakcie procesu nie powstają też niekorzystne z punktu widzenia żywieniowego izomery trans kwasów tłuszczowych [Rousseau i wsp. 1995, Zhang i wsp. 2000, Norizzah i wsp. 2018]. Ze względu zatem na potencjalne korzyści płynące z zastosowania procesów enzymatycznych, w ostatnim czasie obserwuje się wzrost zainteresowania badaniami nad produkcją lipidów strukturyzowanych charakteryzujących się specyficznymi właściwościami funkcjonalnymi, otrzymanych na drodze modyfikacji katalizowanych za pomocą lipaz. Zastosowanie sn-1,3-selektywnych lipaz pozwala na zachowanie kwasów tłuszczowych w położeniu sn-2 acylogliceroli, co jest korzystne pod względem żywieniowym i niemożliwe do osiągnięcia na drodze katalizy chemicznej [Tecelao i wsp. 2010, Wang i wsp. 2010].

Tłuszcze i oleje są podatne na proces utleniania, w wyniku którego powstają wolne rodniki, wodoronadtlenki i polimery. Produkty te wpływają negatywnie na cechy

organoleptyczne tłuszczów, a także mogą niekorzystnie oddziaływać na nasze zdrowie. Produkty zawierające utlenione tłuszcze charakteryzują się zatem gorszą jakością. Szybkość utlenienia w największym stopniu zależy od składu kwasów tłuszczowych, a także od obecności prooksydantów i przeciwutleniaczy. Najbardziej narażone na utlenianie są tłuszcze zawierające wielonienasycone kwasy tłuszczowe [Yankah i Akoh 2000, Thurgood i wsp. 2007, Martin i wsp. 2010].

Głównym produktem procesu przeestryfikowania są triacyloglicerole. W procesie przeestryfikowania zachodzą jednak dwie przeciwstawne reakcje: częściowa hydroliza i ponowna estryfikacja acylogliceroli. Na skutek hydrolizy powstają, obok frakcji triacylogliceroli, pewne ilości niepełnych acylogliceroli i wolnych kwasów tłuszczowych. Reakcja hydrolizy jest nierozdzielnie związana z procesem przeestryfikowania poprzez, m.in. przyspieszenie interestryfikacji. Woda w układzie reakcyjnym spełnia dwie podstawowe funkcje: jest reagentem w reakcji hydrolizy oraz jest konieczna do utrzymania w stanie aktywnym katalizatora enzymatycznego. Zwiększona zawartość frakcji wolnych kwasów tłuszczowych w produkcie tłuszczowym może obniżać jego stabilność oksydacyjną [Ledóchowska i Datta 1999]. Istnieje zatem konieczność monitorowania zmian zarówno hydrolitycznych, jak i oksydacyjnych, które mogą zachodzić w trakcie procesu przeestryfikowania.

Przy realizacji kilkunastoletnich badań powyższe zagadnienia przyjąłem jako główne założenia. Prowadziłem je m.in. w ramach projektu badawczego własnego w charakterze kierownika i głównego wykonawcy.

Cel naukowy prac

Podstawowym celem naukowym badań zaprezentowanych w cyklu publikacji badań, stanowiących osiągnięcie naukowe, było uzyskanie lipidów strukturyzowanych zbliżonych pod względem składu kwasów tłuszczowych oraz ich rozmieszczenia w cząsteczkach triacylogliceroli do tłuszczu mleka kobycego, jak również dokonanie charakterystyki uzyskanych zamienników, głównie pod kątem ich stabilności hydrolitycznej i oksydacyjnej, a także przydatności technologicznej.

Na główny cel naukowy składały się poniższe cele szczegółowe:

- omówienie przeestryfikowania enzymatycznego jako jednej z najlepszych metod pozwalających na uzyskanie lipidów strukturyzowanych o zbliżonym do tłuszczu mleka kobycego składzie i rozmieszczeniu kwasów tłuszczowych w cząsteczkach triacylogliceroli;

- opracowanie składu surowcowego mieszanin pozwalających na otrzymanie lipidów strukturyzowanych zbliżonych pod względem profilu kwasów tłuszczowych i ich rozmieszczenia w cząsteczkach triacylogliceroli do tłuszczu mleka matki;
- charakterystyka uzyskanych w procesie przeestryfikowania enzymatycznego lipidów strukturyzowanych pod kątem ich składu i rozkładu kwasów tłuszczowych w cząsteczkach triacylogliceroli;
- wykazanie, iż proces przeestryfikowania może mieć wpływ na stabilność hydrolityczną i oksydacyjną uzyskanych lipidów strukturyzowanych, a tym samym wpływać na przydatność technologiczną uzyskanych produktów;
- określenie wpływu składu surowcowego oraz zastosowanych warunków procesu przeestryfikowania, takich jak temperatura i czas reakcji na stabilność hydrolityczną i oksydacyjną uzyskanych zamienników tłuszczu mleka kobiecego, głównie poprzez zastosowanie metod miareczkowych, kalorymetrycznych i spektroskopowych.

Założenia badawcze

Formułując cele pracy, przyjęto następujące założenia:

- (i) mleko matki jest najbardziej wartościowym i odpowiednim pokarmem dla niemowląt;
- (ii) tłuszcz jest jednym z głównych składników mających znaczenie dla prawidłowego rozwoju fizjologicznego noworodków, niemowląt i dzieci (tłuszcz odgrywa kluczową rolę w budowaniu układu nerwowego i w produkcji eikozanoidów, które są ważnymi regulatorami wielu funkcji komórek i tkanek);
- (iii) struktura triacylogliceroli tłuszczu mleka kobiecego jest specyficzna i pozwala na odpowiednie trawienie i wchłanianie tłuszczu z pokarmu przez niemowlęta.

Hipotezy badawcze

Realizując cele naukowe pracy, wykazano prawdziwość następujących hipotez badawczych:

- (i) tłuszcz mleka krowiego oraz smalec charakteryzują się zbliżoną do tłuszczu mleka kobiecego strukturą triacylogliceroli, jednak w przeciwieństwie do tłuszczu mleka matki nie zawierają wielonienasyconych kwasów tłuszczowych;
- (ii) oleje roślinne oraz olej rybi zawierają niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe, których nie mają w składzie smalec i tłuszcz mleka krowiego, dlatego też mogą znaleźć zastosowanie we wzbogaceniu tych tłuszczów w kwasy z rodziny n-3 i n-6;

- (iii) przeestryfikowanie z użyciem enzymów regiospecyficznych pozwala na otrzymanie lipidów strukturyzowanych o podobnym do tłuszczu mleka kobiecego działaniu fizjologicznym;
- (vi) proces przeestryfikowania wpływa na jakość hydrolityczną i oksydacyjną uzyskanych produktów.

Omówienie osiągniętych wyników

Otrzymanie lipidów strukturyzowanych zbliżonych pod względem składu kwasów tłuszczowych i struktury triacylogliceroli do tłuszczu mleka kobiecego

Strukturyzowane triacyloglicerole są związkami chemicznymi o zmodyfikowanych w stosunku do naturalnych triacylogliceroli właściwościach żywieniowych i fizykochemicznych. Często określane są one jako nowa generacja tłuszczów mogących być uznanymi za nutraceutyki, gdyż nie tylko posiadają właściwości odżywcze, ale również charakteryzują się właściwościami leczniczymi lub zdrowotnymi [Marangoni i Rousseau 1998, Claro i wsp. 2011]. Tematyka lipidów strukturyzowanych została podjęta przeze mnie w artykule przeglądowym H1.

W pierwszej części pracy H1 skupiłam się głównie na omówieniu wpływu składu i struktury triacylogliceroli na właściwości tłuszczów. Skład kwasów tłuszczowych oraz ich rozmieszczenie w cząsteczkach triacylogliceroli nie są bowiem przypadkowe, lecz charakterystyczne dla danego rodzaju tłuszczu. Różnice w budowie triacylogliceroli różnych tłuszczów mogą mieć natomiast wpływ na ich trawienie oraz metabolizm w organizmie człowieka. Lipaza trzustkowa biorąca udział w trawieniu tłuszczów wykazuje bowiem specyficzną zdolność do odszczepiania kwasów tłuszczowych wyłącznie z pozycji skrajnych, tj. sn-1 lub sn-3 triacylogliceroli, co prowadzi do powstawania w jelicie cienkim wolnych kwasów tłuszczowych oraz sn-2 monoacylogliceroli kwasów tłuszczowych. Uwolnione z pozycji zewnętrznych triacylogliceroli w wyniku hydrolizy mono- i dinienasycone kwasy tłuszczowe oraz powstające sole wapniowe tych kwasów są dobrze wchłaniane w organizmie człowieka [Xu 2000, Chmura i Staniewski 2001]. W przypadku gdy w pozycjach zewnętrznych znajdują się długołańcuchowe nasycone kwasy tłuszczowe (m.in. kwas palmitynowy C16:0 i stearynowy C18:0), wówczas, po hydrolizie, są one gorzej wchłaniane i mogą reagować z wolnymi jonami Ca^{2+} , tworząc nierozpuszczalne sole wapniowe, które następnie są wraz z kałem usuwane z organizmu [Cichoń i Stołyhwo 1999]. Natomiast, jeśli

długołańcuchowe kwasy nasycone, takie jak kwas palmitynowy znajdują się w pozycji wewnętrznej triacylogliceroli, wówczas w wyniku hydrolizy prowadzonej przez lipazę trzustkową powstaje głównie *sn*-2 monopalmitynian glicerolu, który jest w ponad 98% wchłaniany przez nasz organizm [Xu 2000, Chmura i Staniewski 2001]. Nasycone krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, w odróżnieniu od kwasów długołańcuchowych, ulegają w organizmie człowieka, w procesie trawienia, bezpośredniemu wchłanianiu do naczyń krwionośnych i stąd żyłą wrotną transportowane są do wątroby. Tłuszcze zawierające krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe mogą być zatem spożywane przez osoby z zaburzeniami wydzielania żółci oraz zaburzeniami czynności wydzielniczej trzustki, a także z pierwotnymi zespołami złego wchłaniania [Ziemiański i Budzyńska-Topolowska 1991].

W pracy H1 szczególną uwagę zwróciłam na specyficzną budowę tłuszczu mleka kobiecego. Cechą charakterystyczną tego tłuszczu jest między innymi wysoka zawartość krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, które w odróżnieniu od kwasów długołańcuchowych charakteryzują się łatwą absorpcją i przyśpieszonym metabolizmem [Ziemiański i Budzyńska-Topolowska 1991]. Rozmieszczenie kwasów tłuszczowych, zwłaszcza kwasu mirystynowego (C14:0) i palmitynowego (C16:0), w triacyloglicerolach tłuszczu mleka kobiecego jest unikatowe, gdyż właśnie te nasycone kwasy tłuszczowe wykazują wyjątkową preferencję do obsadzania pozycji *sn*-2 triacylogliceroli w proporcjach: 68% (C16:0) i 57% (C14:0) [Cichoń i Stołyhwo 1999]. Według badań naukowych to właśnie ta specyfika stereoizomeryczna triacylogliceroli obecnych w mleku kobiecym przyczynia się do zwiększenia absorpcji tłuszczu z pokarmu oraz zmniejszenia tworzenia się nierozpuszczalnych soli wapniowych i nadmiernego wydalania wapnia z organizmu [Lopez-Lopez i wsp. 2001].

W pracy H1 zauważyłam również, iż skład i struktura triacylogliceroli smalcu są zbliżone do składu i struktury triacylogliceroli tłuszczu mleka kobiecego, gdyż prawie 80% kwasu palmitynowego zawartego w smalcu obsadza pozycje *sn*-2. Triacyloglicerole w olejach roślinnych mają natomiast odmienną strukturę stereospecyficzną. W olejach roślinnych pozycje zewnętrzne *sn*-1,3 triacylogliceroli są zajmowane w przeważającej ilości przez kwasy nasycone, natomiast w pozycji wewnętrznej *sn*-2 znajdują się głównie kwasy nienasycone osiemnastowęglowe (w olejach tych około 70% kwasu linolowego – C 18:2 znajduje się w pozycji wewnętrznej) [Cichoń i Stołyhwo 1999, Ledóchowska i wsp. 2003]. Tłuszcz mleczny krwi natomiast, podobnie jak tłuszcz mleka kobiecego, charakteryzuje się wysoką zawartością krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych [Ziemiański i Budzyńska-Topolowska 1991]. Mleko kobyce jednak, w odróżnieniu od smalcu i tłuszczu pochodzącego

z mleka krowiego, zawiera wielonienasycone długołańcuchowe kwasy tłuszczowe (LCPUFA). Głównymi LCPUFA występującymi w tłuszczu mleka matki są: kwas eikozapentaenowy, dokozaheksaenowy oraz arachidonowy. To właśnie te kwasy są odpowiedzialne za właściwy wzrost i mineralizację kości, a także za odpowiedni rozwój centralnego układu nerwowego dziecka. LCPUFA są również prekursorami prostaglandyn i eikozanoidów pełniących funkcje regulacyjne. Są one m.in. mediatorami reakcji immunologicznej, przepływu naczyniowego krwi i agregacji płytek [Mojska 2001].

W drugiej części artykułu przeglądowego H1 wyjaśniłam, iż strukturyzowane triacyloglicerole są związkami chemicznymi o zmodyfikowanych w stosunku do naturalnych triacylogliceroli właściwościach żywieniowych i fizykochemicznych oraz że można je otrzymać na drodze enzymatycznej modyfikacji (przeestryfikowania) z użyciem specyficznych lipaz. Ze względu na potencjalne korzyści płynące z zastosowania procesów enzymatycznych w ostatnim czasie obserwuje się wzrost zainteresowania badaniami nad produkcją lipidów strukturyzowanych charakteryzujących się specyficznymi właściwościami funkcjonalnymi, otrzymanych na drodze modyfikacji katalizowanych za pomocą lipaz. Zastosowanie sn-1,3-selektywnych lipaz pozwala na zachowanie kwasów tłuszczowych w położeniu sn-2 acylogliceroli. Jest to korzystne pod względem żywieniowym i nie może być osiągnięte na drodze katalizy chemicznej [Tecelao i wsp. 2010, Wang 2010]. Dodatkowo, dobierając odpowiednio substraty tłuszczowe i warunki prowadzenia procesu przeestryfikowania, można otrzymać produkty o pożądanym składzie i rozkładzie kwasów tłuszczowych w cząsteczkach triacylogliceroli, a w konsekwencji uzyskać produkt o określonych – i z góry zaplanowanych – właściwościach fizycznych i chemicznych [Ledóchowska 1995]. W pracy H1 wyjaśniłam również, że zamienniki tłuszczu mleka matki można otrzymać m.in. stosując acydolizę tripalmitynianu nienasyconymi kwasami tłuszczowymi. Wówczas otrzymane triacyloglicerole będą cechowały się zbliżonym składem i rozkładem kwasów tłuszczowych do tych zawartych w mleku kobiecym. Metoda ta jest obecnie rozwijana, a jako przykład można wskazać produkt opracowany przez firmę Unilever o nazwie handlowej Betapol [Willis i Marangoni 1999, Xu 2000, Chmura i Staniewski 2001].

W pracach H2, H3, H4, H5 i H6 podjęłam próbę uzyskania lipidów strukturyzowanych, jakimi są zamienniki tłuszczu mleka kobiecego, na drodze przeestryfikowania mieszanin smalcu lub tłuszczu mlecznego z wybranymi olejami roślinnymi oraz/lub preparatem zawierającym koncentrat oleju rybiego. We wszystkich tych pracach głównym celem było uzyskanie składu i struktury triacylogliceroli zbliżonych do tłuszczu mleka kobiecego. Proces przeestryfikowania prowadzony był w obecności preparatu

Lipozyme RM IM, zawierającego immobilizowaną lipazę z *Rhizomucor miehei*, specyficzną w stosunku do wiązań estrowych w pozycji sn-1,3 triacylogliceroli. Przed rozpoczęciem procesu mieszanie tłuszczów inkubowano 10 minut w żądanej temperaturze, a reakcję przeestryfikowania zapoczątkowywano, dodając do układu określoną ilość preparatu enzymatycznego (8% w stosunku do masy mieszaniny tłuszczowej). Proces przeestryfikowania przerywano, oddzielając enzym od próbki tłuszczu poprzez sączenie pod zmniejszonym ciśnieniem na lejku Büchnera. W tłuszczach po przeestryfikowaniu oznaczono skład kwasów tłuszczowych oraz ich rozmieszczenie pomiędzy pozycje: środkową i zewnętrzne triacylogliceroli. Skład kwasów tłuszczowych określano metodą chromatografii gazowej. W celu uzyskania lotnych pochodnych kwasów tłuszczowych badane próbki tłuszczów poddawano estryfikacji metanolem, zgodnie z normą PN-EN ISO 5509:2000, otrzymując estry metylowe kwasów tłuszczowych. Przygotowane próbki wprowadzano na kolumnę. Badania przeprowadzano za pomocą chromatografu gazowego wyposażonego w kolumnę kapilarną przy użyciu azotu jako gazu nośnego. Kwasy tłuszczowe zostały zidentyfikowane na podstawie czasów retencji, porównywanych ze wzorcem. W celu określenia struktury triacylogliceroli wykorzystano zdolność lipazy pochodzącej z trzustki wieprzowej do selektywnej hydrolizy wiązań estrowych w pozycjach sn-1,3 triacylogliceroli, przy założeniu ich równocенności. Produkty hydrolizy poddawano ekstrakcji eterem dietylowym, a następnie, rozpuszczone w eterze, produkty enzymatycznej deacylacji triacylogliceroli rozdzielano techniką preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej. Wyizolowane sn-2 monoacyloglicerole zdejmowano wraz z żelem z płytek, kolejno eluowano eterem dietylowym. Posługując się techniką chromatografii gazowej, określano skład kwasów tłuszczowych otrzymanych sn-2 monoacylogliceroli.

Przedmiotem badań pracy H2 była mieszanina tłuszczu mlecznego (SM Mlekovita) oraz preparatu handlowego zawierającego koncentrat kwasów n-3 ROPUFA 30 n-3 FOOD Oil (DSM Nutritional Products). Mieszaninę wyżej wymienionych tłuszczów o składzie masowym odpowiednio 2:1 poddano przeestryfikowaniu w temperaturze 50 i 80 °C, przez 2 i 8 godzin. Tłuszcz mleczny jako jeden z tłuszczów zbliżonych pod względem struktury triacylogliceroli oraz zawartości krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych do tłuszczu mleka kobiecego został wzbogacony w niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe poprzez przeestryfikowanie z koncentratem kwasów n-3. Koncentrat ten zawierał dwa bardzo istotne kwasy: eikozapentaenowy (EPA) i dokozaheksaenowy (DHA). Zawartość tych kwasów w koncentracie wynosiła odpowiednio 9,3% oraz 16,9%. Kwasy te odgrywają ważną rolę we wzroście młodego organizmu oraz w prawidłowym funkcjonowaniu narządu wzroku

i rozwoju układu nerwowego, dlatego powinny się znajdować w pokarmie spożywanym przez niemowlęta. Kwas DHA stanowi ważny składnik fosfolipidów znajdujących się w błonach komórkowych mózgu i siatkówce oka [Mojska i Socha 2002].

W uzyskanych finalnych produktach przeestryfikowania stwierdzono obecność kwasów pochodzących zarówno z tłuszczu mlecznego, jak i koncentratu kwasów n-3, w tym obecność kwasów EPA i DHA. Zawartość długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w przeestryfikowanych mieszaninach wynosiła od 8,8% do 10,0%, natomiast kwasów nasyconych od 56,2% do 58,0%. Również struktura uzyskanych triacylogliceroli była zbliżona do tej, występującej w tłuszczu mleka kobiecego. We wszystkich otrzymanych przeestryfikowanych mieszaninach kwas palmitynowy był zestryfikowany głównie w pozycjach sn-2. Kwasy nienasycone długołańcuchowe EPA i DHA zajmowały natomiast przede wszystkim pozycje zewnętrzne triacylogliceroli. Uzyskanie takiej dystrybucji kwasów tłuszczowych w uzyskanych lipidach strukturyzowanych powoduje, że tłuszcze te mogą być wykorzystywane w produkcji odżywek dla niemowląt. Otrzymane tłuszcze zawierają bowiem kwasy krótkołańcuchowe, które są źródłem energii, oraz składniki niezbędne do rozwoju niemowlęcia i dziecka takie jak kwasy eikozapentaenowy oraz dokozaheksaenowy. Otrzymane lipidy strukturyzowane, ze względu na swoje specyficzne rozmieszczenie kwasów tłuszczowych w triacyloglicerolach, powinny być łatwostrawne. W trakcie procesu trawienia w organizmie dziecka w wyniku hydrolizy triacylogliceroli prowadzonej przez lipazę trzustkową będzie powstawał sn-2 monopalmitynian glicerolu, który jest w ponad 98% wchłaniany do krwioobiegu. Również uwalniane w wyniku hydrolizy kwasy tłuszczowe nienasycone oraz ich sole wapniowe są dobrze wchłaniane w organizmie dziecka [Cichoń i Stołyhwo 1999].

W pracy H3 modyfikacji enzymatycznej poddano mieszaninę tłuszczu mleka krowiego (SM Mlekovita) z olejem rzepakowym „Kujawski” (ZT „Kruszwica” S.A) i preparatem zawierającym koncentrat oleju rybiego ROPUFA 30 n-3 FOOD Oil (DSM Nutritional Products) zmieszanych w stosunku masowym odpowiednio 4:5:1. Proces przeestryfikowania prowadzony był w obecności preparatu Lipozyme RM IM przez 2, 4 i 8 godzin w temperaturze 80°C. W pracy tej, ze względu na wysoki koszt preparatu kwasów n-3, został on częściowo zastąpiony stosunkowo tanim i powszechnie występującym w Polsce olejem rzepakowym. Olej ten, w porównaniu z tłuszczem mleka kobiecego, charakteryzuje się prawie dwukrotnie większą zawartością kwasów tłuszczowych jedno- i wielonienasyconych. Dominującym kwasem tłuszczowym w składzie oleju rzepakowego jest kwas oleinowy, wśród kwasów o trzech podwójnych wiązaniach najliczniej w tym oleju

występuje kwas α -linolenowy, natomiast o dwóch podwójnych wiązaniach – kwas linolowy. Triacyloglicerole otrzymanych lipidów strukturyzowanych cechowały się znaczną ilością kwasów nasyconych. W produktach przeestryfikowania mieszaniny będącej przedmiotem badań znajdowało się od 32,4% do 34,5% nasyconych kwasów tłuszczowych. Dominującym nasyconym kwasem tłuszczowym w tych produktach, podobnie jak w tłuszczu mleka kobycego, był kwas palmitynowy. Zawartość kwasów jednonienasyconych w otrzymanych produktach wynosiła od 47,2% do 48,8%. Również, podobnie jak w tłuszczu mleka kobycego, spośród kwasów jednonienasyconych dominującym kwasem w triacyloglicerolach otrzymanych lipidów był kwas oleinowy. Ze względu na konieczność sprostania wymaganiom rozwijającego się organizmu, tłuszcz mleka przeznaczonego dla niemowląt powinien charakteryzować się wyższą niż przeciętna zawartością wielonienasyconych kwasów tłuszczowych [Xu 2000]. W produktach przeestryfikowania będących przedmiotem badań zidentyfikowano od 1,1% do 1,4% kwasu dokozaheksaenowego. Otrzymane produkty przeestryfikowania zawierały również kwas eikozapentaenowy, którego ilość wynosiła około 0,8%. Ogólna zawartość kwasów wielonienasyconych w produktach przeestryfikowania wahała się od 17,6% do 18,1%. Spośród kwasów wielonienasyconych zidentyfikowanych w przeestryfikowanych mieszaninach, podobnie jak w tłuszczu mleka kobycego, największy udział miał kwas α -linolenowy. Rozmieszczenie kwasów tłuszczowych w triacyloglicerolach uzyskanych produktów przeestryfikowania było zbliżone do tego, które występuje w tłuszczu mleka kobycego. W uzyskanych triacyloglicerolach lipidów strukturyzowanych kwas palmitynowy w przeważającej ilości zajmował pozycję sn-2 (w zależności od warunków procesu udział tego kwasu w pozycji sn-2 wynosił od 56,3 % do 59,1%). Kwasem, którego zawartość w pozycji wewnętrznej triacylogliceroli tłuszczu mleka matki jest również znaczna, jest kwas mirystynowy. Jego udział w pozycji wewnętrznej produktów przeestryfikowania osiągnął maksymalną wartość 53,2%. Taka struktura triacylogliceroli występująca w uzyskanych lipidach strukturyzowanych pozwoli zatem na poprawne wchłanianie przez niemowlęta tłuszczu z pokarmu, a także zapobiegnie tworzeniu się nierozpuszczalnych soli wapniowych.

Przedmiotem badań w pracy H4 była mieszanina smalcu (Zakład Mięсны Wierzejki) z olejem rzepakowym (ZT „Kruszwica” S.A) zmieszanych w stosunku masowym odpowiednio 7:3. Proces modyfikacji enzymatycznej prowadzono przez 4, 8 i 24 godziny w temperaturze 70°C. Smalec został wybrany do badań, gdyż charakteryzuje się bardzo zbliżoną zawartością nasyconych i jednonienasyconych kwasów tłuszczowych do tłuszczu mleka kobycego oraz podobną strukturą triacylogliceroli. Tłuszcz ten zawiera jednak

znacznie mniej wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Według Wang i wsp. [2010] zawartość kwasów palmitynowego oraz oleinowego w smalcu odpowiada zawartości tych kwasów tłuszczowych w tłuszczu mleka kobiecego. W celu wzbogacenia smalcu w niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe poddano go przeestryfikowaniu z olejem rzepakowym. Porównując skład kwasów tłuszczowych uzyskanych produktów przeestryfikowania do tłuszczu mleka kobiecego, stwierdzono, że otrzymane tłuszcze modyfikowane nie odbiegają znacząco składem kwasów tłuszczowych od składu tego tłuszczu. Głównym jednonienasyconym kwasem tłuszczowym obecnym w tłuszczu mleka matki jest kwas oleinowy. Ponad 40% wszystkich kwasów tłuszczowych w mleku kobiecym stanowią nasycone kwasy tłuszczowe, z czego głównym przedstawicielem jest kwas palmitynowy. Wielonienasycone kwasy tłuszczowe występujące w tłuszczu mleka kobiecego to przede wszystkim kwas linolowy i α -linolenowy [Heiman i Schanler 2006]. W uzyskanych w tej pracy lipidach strukturyzowanych, podobnie jak w tłuszczu mleka kobiecego, w największej ilości występowały: kwas oleinowy (44,9–45,2%), kwas palmitynowy (21,32–21,9%), kwas stearynowy (12,9–13,0%), kwas linolowy (12,16–12,4%) oraz kwas α -linolenowy (2,2–3,9%). Pomimo iż otrzymane produkty przeestryfikowania nie zawierały cennych kwasów dokozaheksaenowego (DHA), eikozapentaenowego (EPA) oraz arachidonowego (ARA), jednak miały w swoim składzie prekursorów tych kwasów. Kwasy typu DHA, EPA i ARA mogą bowiem powstać w organizmie człowieka na drodze przemian metabolicznych z kwasów takich, jak kwas α -linolenowy oraz kwas linolowy [Jensen 1996]. Produkty przeestryfikowania charakteryzowały się również specyficznym, podobnym do tłuszczu mleka kobiecego, rozkładem kwasów tłuszczowych w cząsteczkach triacylogliceroli. Największy udział w pozycji sn-2 triacylogliceroli produktów przeestryfikowania trwającego 4 i 8 godzin miał kwas palmitynowy (odpowiednio 58% i 49%). Pozycje sn-1,3 triacylogliceroli tych produktów zajmowały przeważnie nienasycone kwasy tłuszczowe, tj. oleinowy i linolowy.

W pracy H5 przeestryfikowaniu enzymatycznemu poddano mieszaninę smalcu (Zakład Mięśny Wierzejki) z olejem z ostropestu plamistego (PPHU Maszyny i Przetwórstwo Nasion Oleistych Ol'Vita) zmieszanych w stosunku masowym odpowiednio 6:4. Proces modyfikacji enzymatycznej prowadzono przez 2, 4 i 6 godzin w temperaturze 50°C. Podobnie jak w pracy H4 olej roślinny został wybrany w celu wzbogacenia smalcu w niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe. Olej z ostropestu cieszy się w ostatnim czasie dużym zainteresowaniem. W dostępnej literaturze nie znalazłam publikacji dotyczących zamienników otrzymanych z mieszaniny smalcu i oleju z ostropestu plamistego, dlatego też

podjęłam próbę uzyskania zamienników tłuszczu mleka kobiecego z mieszaniny zawierającej ten olej. Nasiona ostropestu plamistego zawierają: około 25% oleju, 25–30% białka, 0,63% steroli, 0,038% tokoferoli i około 2% flawonoidów, w skład których wchodzi sylimaryna należąca do flawonolignanów. Stwierdzono, że sylimaryna ma silne własności antyutleniające, fotoprotekcyjne i przeciwnowotworowe [Szczucińska i wsp. 2006]. Olej z ostropestu plamistego jest natomiast bogatym źródłem niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych [Szczucińska i wsp. 2003, Szczucińska i wsp. 2006]. Otrzymane zamienniki, podobnie jak tłuszcz mleka kobiecego, zawierały w znacznych ilościach nasycone kwasy tłuszczowe, które stanowiły łącznie od 29,8% do 32,3%. Analiza otrzymanych produktów przeestryfikowania wykazała, że dominującym nasyconym kwasem tłuszczowym w tych produktach był kwas palmitynowy. Produkty przeestryfikowania okazały się również bogatym źródłem wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Całkowita zawartość tych kwasów w produktach przeestryfikowania wynosiła od 28,0% do 31,3%. Spośród niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych w otrzymanych zamiennikach, podobnie jak w tłuszczu mleka kobiecego, największy udział miał kwas linolowy. Produkty przeestryfikowania zawierały ponad 25% kwasu linolowego należącego do rodziny kwasów omega-6, podczas gdy smalec zawierał tylko 9,7% tego kwasu. Triacyloglicerole otrzymanych zamienników zawierały również od 0,6% do 0,7% kwasu α -linolenowego należącego do rodziny kwasów omega-3.

Warunki reakcji przeestryfikowania nie miały wyraźnego wpływu na skład i rozkład kwasów tłuszczowych w otrzymanych lipidach strukturyzowanych. Otrzymane lipidy strukturyzowane nie różniły się znacząco pod względem składu kwasów tłuszczowych. W trakcie procesu nie powstały również niekorzystne z punktu widzenia żywieniowego izomery trans kwasów tłuszczowych. Mając na uwadze rozkład kwasów tłuszczowych w cząsteczkach triacylogliceroli, zaobserwowano jedynie, że czas reakcji miał nieznaczny wpływ na rozmieszczenie kwasów tłuszczowych w triacyloglicerolach produktów przeestryfikowania. W pracy H3 stwierdzono, że im dłuższy czas przeestryfikowania, tym wyższy udział procentowy kwasu oleinowego, a niższy kwasów: mirystynowego i palmitynowego w pozycji sn-2 triacylogliceroli produktów przeestryfikowania. W pracy H4 zaobserwowano natomiast, że kwas palmitynowy miał największy udział w pozycji sn-2 triacylogliceroli produktów przeestryfikowania otrzymanych po 4 godzinach reakcji. W przypadku zastosowania długiego czasu reakcji obserwuje się tendencję do uzyskania statystycznego rozmieszczenia kwasów tłuszczowych pomiędzy poszczególne pozycje

triacylogliceroli, co skutkuje mniejszym udziałem kwasu palmitynowego w pozycji sn-2 produktów przeestryfikowania.

Produkty uzyskane w pracach H2, H3, H4, H5 i H6 charakteryzowały się zbliżonym do tłuszczu mleka kobycego rozmieszczeniem kwasów tłuszczowych, a także zawierały nienasycone kwasy tłuszczowe niezbędne do prawidłowego funkcjonowania młodego organizmu. Smalec i tłuszcz mleczny oraz wybrane oleje roślinne, jak również koncentrat oleju rybiego są zatem odpowiednimi surowcami pozwalającymi na uzyskanie zamienników tłuszczu mleka kobycego o pożądanym składzie i rozkładzie kwasów tłuszczowych. Przeestryfikowanie z użyciem enzymów wykazujących specyficzną w stosunku do wiązań sn-1,3 w cząsteczkach triacylogliceroli jest skuteczną metodą pozwalającą na uzyskanie lipidów strukturyzowanych o zbliżonej do tłuszczu mleka kobycego strukturze triacylogliceroli, a także bogatych w wielonienasycone kwasy tłuszczowe, które nie ulegają rozkładowi w trakcie tego procesu. Otrzymane produkty mogą zatem znaleźć zastosowanie jako zamienniki tłuszczu mleka kobycego m.in. w odżywkach dla niemowląt.

Charakterystyka lipidów strukturyzowanych uzyskanych na drodze modyfikacji enzymatycznej pod kątem ich stabilności hydrolitycznej i oksydacyjnej

Skuteczna produkcja lipidów strukturyzowanych, które mogą znaleźć zastosowanie jako zamienniki tłuszczu mleka kobycego w preparatach dla niemowląt, może być utrudniona przez ich wysoką podatność na utlenianie [Jennings i Akoh 1999, Akoh i Moussata 2001, Maduko i wsp. 2008]. Lipidy takie zawierają bowiem nienasycone kwasy tłuszczowe i podczas przechowywania ich jakość może ulec pogorszeniu, a także może powstawać nieprzyjemny zapach charakterystyczny dla tłuszczów utlenionych [Nielsen i wsp. 2006, Maduko i wsp. 2008, Martin i wsp. 2010]. Ponadto proces produkcji lipidów strukturyzowanych powoduje zwiększenie stężenia wolnych kwasów tłuszczowych. Wysokie stężenie wolnych kwasów tłuszczowych w mleku dla niemowląt wywołuje zjełczały i gorzki smak, który jest nie do zaakceptowania. Ponadto nienasycone kwasy tłuszczowe mogą być utleniane do wodoronadtlenków, z których mogą następnie powstawać produkty wtórnego utleniania, takie jak alkeny, aldehydy i ketony [Maduko i wsp. 2008, Nielsen i wsp. 2006]. Pogorszenie jakości oksydacyjnej i wysokie stężenie wolnych kwasów tłuszczowych mogą zmienić zatem jakość odżywczą lipidów strukturyzowanych i sprawić, że mleko dla niemowląt zawierające te lipidy będzie potencjalnie szkodliwe i niedopuszczalne dla

konsumentów [Maduko i wsp. 2008]. Podczas opracowywania nowych zamienników tłuszczu mleka krowiego ważne jest nie tylko zoptymalizowanie ich właściwości odżywczych i fizycznych, ale także zapewnienie stabilności hydrolitycznej i oksydacyjnej [Nielsen i wsp. 2006].

Głównym celem prac H2, H6, H7, H8, H9 i H10 było określenie zmian hydrolitycznych i oksydacyjnych, jakie zaszły w uzyskanych na drodze przeestryfikowania enzymatycznego zamiennikach tłuszczu mleka krowiego. W celu określenia jakości hydrolitycznej otrzymanych produktów oznaczałam liczbę kwasową metodą miareczkową. W pracach H2, H7, H8, H9 oznaczyłam dodatkowo zawartość frakcji polarnej metodą chromatografii kolumnowej. Istnieje związek pomiędzy wartością liczby kwasowej i zawartością frakcji polarnej w tłuszczach. Dotyczy to obecności wolnych kwasów tłuszczowych w składzie oznaczonych frakcji polarnych. W skład frakcji polarnej wchodzi bowiem mono- i diacyloglicerole, a także wolne kwasy tłuszczowe. Zawartość pierwotnych produktów utlenienia wyznaczałam metodą miareczkową lub spektrofotometryczną, oznaczając liczbę nadtlenną. Dane uzyskane w pracach H6, H8, H9, H10 za pomocą technik PDSC (ciśnieniowej różnicowej kalorymetrii skaningowej) oraz w pracy H8 za pomocą spektroskopii FT-IR zostały poddane przeze mnie analizie w celu dokładnego określenia właściwości nowo syntetyzowanych tłuszczów. Informacje uzyskane z analizy termicznej są przydatne w kontrolowaniu zmian jakości żywności podczas przetwarzania i przechowywania [Roos 2003, Vivoda i wsp. 2011]. Metodę ciśnieniowej różnicowej kalorymetrii skaningowej zastosowałam w celu określenia stabilności oksydacyjnej uzyskanych zamienników tłuszczu mleka krowiego. Badania z tego zakresu przeprowadzono przy użyciu aparatu DSC Q20 TA Instruments, sprzężonego z komorą wysokociśnieniową. Próbkę tłuszczu (3–4 mg) umieszczano w naczynku aluminiowym, w atmosferze tlenu pod ciśnieniem 1400 kPa. Pomiar przeprowadzany był w warunkach izotermicznych w temperaturze 120°C. Czas indukcji utleniania został wyznaczony z krzywych PDSC. Spektroskopia IR służy jako metoda określania typów i liczby wiązań chemicznych oraz grup funkcyjnych obecnych w badanej próbce, a zatem może być stosowana do śledzenia zmian chemicznych zachodzących w przetworzonych tłuszczach [Tan i Che Man 1999]. Widma IR rejestrowano w klasycznym zakresie pomiarowym 4000–370 cm⁻¹ przy użyciu spektrofotometru System 2000 Perkin Elmer połączonego z oprogramowaniem PC PeGrams.

Wszystkie otrzymane lipidy strukturyzowane charakteryzowały się zwiększoną zawartością wolnych kwasów tłuszczowych w stosunku do surowców wyjściowych. W pracy H2, w której przeestryfikowaniu poddałam mieszaninę tłuszczu mlecznego z olejem

zawierającym koncentrat kwasów n-3 (2:1 w/w) odnotowano około 5-krotny wzrost liczby kwasowej oraz 4-6-krotny wzrost zawartości frakcji polarnej w stosunku do surowców wyjściowych. Również w pracy H9, której przedmiotem badań była między innymi mieszanina tłuszczu mlecznego, oleju rzepakowego oraz koncentratu kwasów n-3 (4:5:1 w/w), odnotowano istotny statystycznie wzrost zawartości frakcji polarnej oraz wolnych kwasów tłuszczowych. Otrzymane w wyniku przeestryfikowania tej mieszaniny lipidy strukturyzowane zawierały około 2% wolnych kwasów tłuszczowych, a zawartość frakcji polarnej w tych produktach wynosiła od 9,2% do 11,4%. W pracach H7, H8, H9 i H10 lipidy strukturyzowane otrzymałam, prowadząc w różnych warunkach modyfikację enzymatyczną mieszanin smalcu z olejem rzepakowym i koncentratem oleju rybiego (7:2:1 w/w) oraz smalcu z olejem z nasion z ostropestu płamistego (6:4 i 8:2 w/w). We wszystkich pracach odnotowałam istotny statystycznie wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych w stosunku do surowców wyjściowych lub mieszanin nieprzeestryfikowanych. Zawartość frakcji polarnej w produktach przeestryfikowania tych mieszanin wynosiła od 7,8% (praca H7) do 14,4% (praca H8), podczas gdy zawartość tej frakcji w surowcach nie przekraczała 3%. Wartości liczby kwasowej produktów przeestryfikowania smalcu z olejem z nasion z ostropestu (praca H10) wynosiły ponad 10 mg KOH/g, natomiast liczba kwasowa smalcu wynosiła około 1 mg KOH/g, a oleju około 2 mg KOH/g. Liczba kwasowa oraz zawartość frakcji polarnej zależały również od warunków prowadzenia reakcji. W przypadku przeestryfikowania smalcu z olejem rzepakowym i koncentratem oleju rybiego (praca H8 i H9) wzrost temperatury powodował obniżenie zawartości wolnych kwasów tłuszczowych, natomiast produkty przeestryfikowania mieszaniny tłuszczu mlecznego z koncentratem oleju rybiego (praca H2) prowadzonego w wyższej temperaturze charakteryzowały się większą zawartością frakcji polarnej. Lipidy strukturyzowane uzyskane na drodze przeestryfikowania smalcu z olejem z ostropestu płamistego trwającego 6 godzin (praca H10) cechowały się większymi wartościami liczby kwasowej w porównaniu do tłuszczów uzyskanych podczas przeestryfikowania trwającego 2 godziny. Wydłużanie czasu reakcji z 2 do 8 godzin w przypadku mieszanin tłuszczu mlecznego z koncentratem kwasów n-3 (praca H2) również spowodowało wzrost liczby kwasowej produktów finalnych. Liczba kwasowa wszystkich produktów po enzymatycznej modyfikacji przekroczyła wartości określone w Codex Alimentarius (wartość liczby kwasowej w tłuszczach i olejach rafinowanych nie powinna przekraczać 0,6 mg KOH/g, a nierafinowanych 4 mg KOH/g).

Kolejnym bardzo ważnym etapem pracy było określenie stabilności oksydacyjnej uzyskanych lipidów strukturyzowanych. Analizując uzyskane wyniki dotyczące zawartości

pierwotnych produktów utlenienia w otrzymanych zamiennikach, stwierdziłam, że lipidy strukturyzowane otrzymane podczas przeestryfikowania tłuszczu mlecznego z olejem rzepakowym i koncentratem oleju rybiego (praca H6 i H9) charakteryzowały się wyższymi wartościami liczby nadtlencowej w stosunku do mieszaniny wyjściowej (około 2-3-krotny wzrost). Również lipidy strukturyzowane otrzymane poprzez modyfikacje enzymatyczną mieszanin smalcu, oleju rzepakowego i koncentratu oleju rybiego (praca H7 i H9) cechowała większa zawartość pierwotnych produktów utleniania (około 3-4-krotnie większa zawartość). Natomiast produkty przeestryfikowania smalcu z olejem z ostropestu plamistego (praca H10) charakteryzowały się niskimi, zbliżonymi do smalcu, wartościami liczby nadtlencowej (poniżej 2 meq O₂ na kg tłuszczu). Zgodnie z wartościami określonymi w Codex Alimentarius wartość liczby nadtlencowej w tłuszczach i olejach rafinowanych nie powinna przekraczać 10 meq O₂/kg. Zatem jedynie w przypadku produktów uzyskanych w wyniku przeestryfikowania mieszaniny smalcu i oleju z ostropestu plamistego nie została przekroczona dopuszczalna w normie wartość liczby nadtlencowej (praca H10).

Stabilność oksydacyjna otrzymanych lipidów strukturyzowanych została określona za pomocą ciśnieniowej różnicowej kalorymetrii skaningowej (PDSC). Różnicowa kalorymetria skaningowa jest jedną z najszybszych i najwygodniejszych metod oceny stabilności oksydacyjnej olejów i tłuszczów. Istnieją doniesienia naukowe mówiące o tym, że dane otrzymane za pomocą DSC, dotyczące stabilności oksydacyjnej olejów roślinnych, dobrze korelują z wynikami uzyskanymi na podstawie przeprowadzonego testu Rancimat lub spektroskopii elektronowego rezonansu paramagnetycznego [Kowalski i wsp. 2000, Tan i Che Man 2002, Velasco i wsp. 2004]. W badaniach stabilności oksydacyjnej tłuszczów dokonuje się pomiaru tzw. czasu indukcji. Ogólnie, próbki o dłuższych czasach indukcji są bardziej stabilne niż próbki, dla których czas indukcji uzyskany w tej samej temperaturze jest krótszy [Kowalski i wsp. 2004]. Biorąc pod uwagę otrzymane wyniki, stwierdziłam, że produkty przeestryfikowania mieszaniny tłuszczu mlecznego z olejem rzepakowym oraz koncentratem oleju rybiego (praca H6, H9) charakteryzowały się niższą stabilnością oksydacyjną w stosunku do mieszaniny i surowców wyjściowych (skrócenie czasu indukcji o ponad 20 minut). W przypadku mieszanin smalcu, oleju rzepakowego i koncentratu kwasów n-3 (praca H8 i H9) również zaobserwowano obniżenie stabilności oksydacyjnej po procesie przeestryfikowania (skrócenie czasu indukcji średnio o ponad 30 minut). Najmniejsze obniżenie stabilności oksydacyjnej po procesie przeestryfikowania odnotowano w przypadku mieszaniny smalcu i oleju z nasion z ostropestu plamistego (praca H10). Test PDSC wykonany dla lipidów strukturyzowanych uzyskanych na drodze modyfikacji enzymatycznej

mieszaniny smalcu i oleju z nasion ostropestu plamistego wykazał, że ich czasy indukcji skrócone zostały o około 15 minut w stosunku do smalcu. Olej z nasion ostropestu natomiast charakteryzował się zbliżonym czasem indukcji do mieszanin przeestryfikowanych. Zaobserwowałam również, że na stabilność oksydacyjną mają wpływ warunki prowadzenia procesu. Optymalną temperaturą prowadzenia procesu przeestryfikowania mieszaniny smalcu, oleju rzepakowego i koncentratu oleju rybiego jest temperatura 80°C, gdyż czas indukcji utlenienia jest najdłuższy. W przypadku mieszaniny smalcu z olejem rzepakowym i koncentratem kwasów n-3 (praca H6) wydłużanie czasu reakcji powoduje skrócenie czasu indukcji utleniania otrzymanych produktów. Podobną zależność zaobserwowano w przypadku przeestryfikowania mieszaniny 8:2 (wyżej wymienionej) smalcu z olejem z nasion z ostropestu plamistego (praca H10). Produkty przeestryfikowania prowadzonego przez 6 godzin charakteryzowały się obniżoną stabilnością oksydacyjną w stosunku do produktów uzyskanych po 2 godzinach reakcji. W pracy H10 podjęłam dodatkowo próbę skorelowania danych spektralnych i kalorymetrycznych. Za pomocą spektroskopii FT-IR można monitorować nawet niewielkie różnice w jakości i ilości próbki. Różnice w rejestrowanych widmach FT-IR mogą wynikać z odmiennego składu chemicznego próbki tłuszczu. Mając na uwadze otrzymane wyniki, stwierdziłam, że w przypadku zakresu widmowego 640-626 cm⁻¹ dane spektralne korelują z wartością czasu indukcji w bardzo wysokim stopniu. Zmiany chemiczne zachodzące podczas odmiennego obróbki mieszaniny poddanej przeestryfikowaniu można zatem monitorować za pomocą spektroskopii FT-IR. Ponadto uzyskane korelacje można wykorzystać do oceny stabilności oksydacyjnej nieznannej próbki tłuszczu.

Podsumowanie

Mleko matki w pierwszych miesiącach życia dziecka powinno być wyłącznym pokarmem, ze względu na jego unikalny i optymalnie przystosowany skład do potrzeb szybko rozwijającego się organizmu. Składnikiem mleka, który ma szczególne znaczenie fizjologiczne dla niemowląt i małych dzieci, jest tłuszcz [Jensen 1996]. Chociaż mleko matki uważa się za najlepsze pożywienie dla zdrowych niemowląt, nie zawsze jednak karmienie naturalne jest możliwe. Istnieje wówczas konieczność zastąpienia mleka matki mlekiem modyfikowanym [Solarczyk i Socha 2002]. W celu uzyskania podobnej struktury regiospecyficznej triacylogliceroli do tłuszczu mleka kobiecego stosuje się modyfikację różnego rodzaju tłuszczów. Jednym ze sposobów modyfikacji tłuszczów jest przeestryfikowanie enzymatyczne, w którym jako katalizatory wykorzystywane są enzymy lipolityczne [Bryś i wsp. 2006]. Podsumowując, **można stwierdzić, iż reakcja**

przeestryfikowania enzymatycznego w obecności preparatu zawierającego lipazę regiospecyficzną mieszanin smalcu lub tłuszczu mlecznego z wybranymi olejami roślinnymi oraz/lub preparatem zawierającym koncentrat kwasów należących do rodziny n-3 pozwoliła na uzyskanie lipidów strukturyzowanych o zbliżonym składzie oraz rozmieszczeniu kwasów tłuszczowych w cząsteczkach triacylogliceroli do tłuszczu mleka kobiecego. W tłuszczu mleka matki dominującą grupą kwasów tłuszczowych są kwasy nasycone, których zawartość według Lopez-Lopez i wsp. [2002] wynosi około 40%, a głównym przedstawicielem tych kwasów jest kwas palmitynowy. We wszystkich uzyskanych lipidach strukturyzowanych głównym przedstawicielem kwasów nasyconych był kwas palmitynowy, a ich ogólna ilość również była znacząca i wynosiła od około 30% do około 58%. Wśród jednonienasyconych kwasów tłuszczowych głównym kwasem w tłuszczu mleka kobiecego jest kwas oleinowy, którego zawartość według Lopez-Lopez i wsp. [2002] wynosi 36,4%. W uzyskanych lipidach strukturyzowanych dominującym kwasem z grupy kwasów jednonienasyconych również był kwas oleinowy, a jego zawartość wynosiła od 22% do 45%. Mleko ludzkie zawiera również kwasy, których nie zawiera żadne inne mleko, mianowicie długołańcuchowe wielonienasycone kwasy tłuszczowe, odpowiadające między innymi za rozwój układu nerwowego, jak również będące prekursorami prostaglandyn i eikozanoidów. Tłuszcz mleka kobiecego według literatury zawiera około 22% wielonienasyconych kwasów tłuszczowych [Lopez-Lopez i wsp. 2002], w skład których wchodzi takie kwasy jak: linolowy, α -linolenowy, arachidonowy (ARA), eikozapentaenowy (EPA), dokozaheksaenowy (DHA). Tłuszcz mleka matki zawiera zatem niewielkie, ale znaczące ilości EPA (0.07–0.18%), DHA (0.26–0.41%) i ARA (0.1–0.7%) i jest cennym źródłem prekursorów kwasów n-3 i n-6 [Akoh i wsp. 2006]. Otrzymane lipidy strukturyzowane zawierały od około 9% do około 30% wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz okazały się źródłem prekursorów kwasów n-3 i n-6, takich jak kwas α -linolenowy oraz linolowy, a także niektóre z nich zawierały kwasy DHA i EPA.

Biorąc pod uwagę rozmieszczenie kwasów tłuszczowych w cząsteczkach triacylogliceroli, stwierdziłam, że wszystkie otrzymane lipidy strukturyzowane charakteryzowały się zbliżonym rozmieszczeniem kwasów tłuszczowych do tłuszczu mleka kobiecego. Rozmieszczenie kwasów tłuszczowych zwłaszcza mirystynowego i palmitynowego, czyli kwasów nasyconych, w cząsteczkach triacylogliceroli tłuszczu mleka kobiecego jest unikatowe. Wynika to z faktu, iż właśnie te kwasy wykazują wyjątkową preferencję do zajmowania pozycji środkowych w triacyloglicerolach. Udział kwasu palmitynowego i mirystynowego w pozycjach sn-2 triacylogliceroli tłuszczu mleka matki

wynosi odpowiednio: 68% i 57% [Cichoń i Stołyhwo 1999]. Udział kwasu palmitynowego w pozycji sn-2 otrzymanych lipidów strukturyzowanych wynosił od około 40 do ponad 70%.

Przeestryfikowanie enzymatyczne jest procesem, który w istotny sposób wpływa na stabilność hydrolityczną uzyskanych produktów. Powstające w tym procesie wolne kwasy tłuszczowe mogą natomiast wpływać niekorzystnie na stabilność oksydacyjną otrzymanych za pomocą tej metody lipidów strukturyzowanych. Mając na uwadze otrzymane wyniki, stwierdziłam, że **proces przeestryfikowania spowodował wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych i frakcji polarnej w otrzymanych zamiennikach tłuszczu mleka kobiecego w odniesieniu do surowców wyjściowych. Wysoki udział wolnych kwasów tłuszczowych w produktach przeestryfikowania jest niekorzystny, gdyż może być m.in. przyczyną gorszej stabilności oksydacyjnej otrzymanych produktów i należy dążyć do jego zminimalizowania.** Można to osiągnąć poprzez obniżenie aktywności wody, np.: przez zastosowanie zmniejszonego ciśnienia, wielokrotne użycie tego samego katalizatora lub zastosowanie procesu ciągłego [Ledóchowska i Datta 1995]. Tłuszcze modyfikowane enzymatycznie po odkwaszeniu mogą być przydatne technologicznie.

W otrzymanych lipidach strukturyzowanych odnotowałam również obniżenie stabilności oksydacyjnej przeestryfikowanych tłuszczów, zwłaszcza tłuszczów bogatych w nienasycone kwasy tłuszczowe, w porównaniu z surowcami. Wyznaczone czasy indukcji utleniania produktów przeestryfikowania, podobnie jak liczba nadtlenkowa wskazują na to, iż są one mniej stabilne oksydacyjnie w porównaniu do surowców wyjściowych. Obniżenie stabilności oksydacyjnej mogło być spowodowane wbudowaniem w pozycje zewnętrzne triacylogliceroli smalcu albo tłuszczu mlecznego polienowych kwasów tłuszczowych, co ułatwiło dostęp tlenu do tych kwasów i łatwiejsze ich utlenianie [Bornscheuer i wsp. 2003]. Według badań naukowych gorsza stabilność produktów przeestryfikowania może być również związana ze stratą antyoksydantów podczas prowadzenia modyfikacji enzymatycznej. Oleje roślinne, które są źródłem naturalnych antyoksydantów, takich jak tokoferole i tokotrienole, fitosterole lub związki fenolowe, są szczególnie narażone na straty endogennych przeciwutleniaczy [Martin 2010]. Ledóchowska i Wilczyńska [1998] stwierdziły, że przeestryfikowanie enzymatyczne spowodowało zmniejszenie poziomu tokoferoli z 28,8 mg na 100 g do 16,2 mg na 100 g.

Przyjęta w pracy hipoteza badawcza dotycząca wpływu przeestryfikowania na stabilność hydrolityczną i oksydacyjną uzyskanych produktów została zatem potwierdzona. Czynniki takie jak temperatura i czas przeestryfikowania oraz skład

mieszaniny wyjściowej mają wpływ na właściwości uzyskanych produktów, a tym samym na ich przydatność technologiczną.

W kolejnych etapach pracy naukowej zamierzam kontynuować tematykę badawczą związaną z zamiennikami tłuszczu mleka kobiecego. Badania, które zostały już zrealizowane, dotyczą przeestryfikowania mieszanin smalcu z olejem z nasion konopi siewnej. Olej z nasion konopi jest bowiem bogatym źródłem niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych, a szczególnie kwasów z rodziny n-3. Podjęłam również próbę uzyskania zamienników tłuszczu mleka kobiecego na drodze acydolizy enzymatycznej, której poddałam m.in. mieszaniny smalcu z tłuszczem mlecznym oraz kwasami tłuszczowymi uzyskanymi z takich olejów jak m.in. olej lniany, arganowy, z nasion wiesiołka, z nasion pszczelnika mołdawskiego, z nasion ogórecznika. Zamierzam również zastosować metody statystyczne pozwalające na dokonanie wyboru tych lipidów strukturyzowanych, które najbardziej przypominają tłuszcz mleka kobiecego, a następnie przeprowadzić badania modelowe z wykorzystaniem szczurów laboratoryjnych, mające na celu analizę oddziaływania wybranych zamienników tłuszczu mleka kobiecego na żywy organizm. Chciałabym ocenić absorpcję kwasów tłuszczowych z zamienników tłuszczu mleka kobiecego oraz metabolizm wapnia. Planuję również w przyszłości ustalić wpływ otrzymanych zamienników na profil lipidowy krwi zwierząt laboratoryjnych oraz przeprowadzić identyfikację komórek rozproszonego systemu neuroendokrynowego metodami immunohistochemicznymi z użyciem swoistych przeciwciał skierowanych przeciwko hormonom i czynnościowo ważnym białkom (jako swoistym antygenom w komórkach neuroendokrynowych).

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Urodziłam się 14 lipca 1977 roku w Żywcu. Egzamin maturalny zdałam w 1996 roku w Liceum Ogólnokształcącym Sióstr Urszulanek w Rybniku. W tym samym roku rozpoczęłam studia wyższe na Wydziale Technologii Żywności (obecnie Wydział Nauk o Żywności) Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Pracę magisterską wykonałam w Katedrze Chemii Wydziału Technologii Żywności (obecnie Wydział Nauk o Żywności) SGGW pod kierownictwem naukowym pana prof. dra hab. Bolesława Kowalskiego. W trakcie studiów magisterskich odbyłam trzymiesięczny staż w uczelni francuskiej ENSIA (École Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires) w ramach programu Sokrates/Erasmus, gdzie realizowałam projekt badawczy pt. „Produkcja diacetylu przez bakterie *Lactococcus Lactis Lactis Diacetylactis*”. W czasie trwania studiów magisterskich uczestniczyłam również w miesięcznym stażu w Centralnym Laboratorium Chemicznym POLCARGO w Gdyni oraz odbyłam miesięczną praktykę w laboratoriach Browarów Żywiec S.A. Studia wyższe ukończyłam w 2001 roku, uzyskując tytuł magistra inżyniera technologii żywności i żywienia. W październiku 2001 roku rozpoczęłam Studia Doktoranckie na Wydziale Technologii Żywności (obecnie Wydział Nauk o Żywności) SGGW. W trakcie Studiów Doktoranckich uczestniczyłam w stażach naukowych w laboratorium Instytutu Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego oraz w laboratorium Zakładu Przemysłu Tłuszczowego w Warszawie aby zapoznać się z metodami badawczymi i aparaturą. W 2002 roku ukończyłam Studia Podyplomowe w zakresie Doskonalenia Pedagogicznego na Wydziale Ekonomiczno-Rolniczym SGGW oraz uzyskałam certyfikat ukończenia kursu pt. „Sensory analysis methods and applications”. W tym samym roku brałam również udział w szkoleniu w zakresie HACCP – System Zapewnienia Bezpieczeństwa Zdrowotnego Żywności – w SGGW w Warszawie. **Jednym z obszarów moich zainteresowań naukowych jest proces przeestryfikowania, czyli metoda modyfikacji tłuszczów, która oferuje potencjalnie największe możliwości w uzyskiwaniu z góry założonej struktury lipidów.** Proces ten zmienia strukturę i skład triacylogliceroli, natomiast nie zmienia naturalnej budowy występujących w nich kwasów tłuszczowych, co powoduje, że cenne biologicznie aktywne kwasy tłuszczowe pozostają nienaruszone [Pacheco i wsp. 2013; Fauzi i wsp. 2013]. Tematyka przeestryfikowania została podjęta przeze mnie w pracy magisterskiej, która dotyczyła chemicznej modyfikacji mieszanin łoju wołowego z olejem rzepakowym. W trakcie studiów doktoranckich kontynuowałam tematykę modyfikacji chemicznej i enzymatycznej tłuszczów naturalnych. Pracę doktorską pt. „Badanie właściwości produktów przeestryfikowania mieszanin tłuszczu mlecznego i olejów

roślinnych” wykonałam w Katedrze Chemii Wydziału Technologii Żywności pod kierunkiem prof. dr hab. Bolesława Kowalskiego. Celem mojej pracy doktorskiej było zbadanie wpływu warunków reakcji przeestryfikowania, zarówno chemicznego jak i enzymatycznego, na wybrane właściwości fizyczne i chemiczne mieszanin tłuszczu mlecznego z olejami roślinnymi. Zakres pracy obejmował przygotowanie i charakterystykę surowców wyjściowych (tłuszcz mleczny, olej rzepakowy, olej słonecznikowy). Z wymienionych surowców przygotowywałam następnie mieszaniny fizyczne, które poddawałam przeestryfikowaniu zarówno chemicznemu w obecności metanolanu sodu jako katalizatora, jak i enzymatycznemu przy użyciu dwóch preparatów enzymatycznych – zawierających enzym niespecyficzny i regiospecyficzny. Przeestryfikowanie prowadziłam w różnych warunkach czasu i temperatury, stosowałam też trzy różne dawki katalizatora chemicznego. W produktach reakcji przeestryfikowania chemicznego i enzymatycznego mieszanin tłuszczu mlecznego z olejami roślinnymi zanotowałam wzrost zawartości niepełnych acylogliceroli oraz wolnych kwasów tłuszczowych. Proces miał też wpływ na stabilność oksydacyjną uzyskanych tłuszczów. Przeprowadzone badania potwierdziły, że przeestryfikowanie nie powoduje zmian składu kwasów tłuszczowych w produktach (w stosunku do mieszanin wyjściowych), natomiast w wyniku przeestryfikowania nastąpiła zmiana rozmieszczenia kwasów tłuszczowych w triacyloglicerolach. W pracy stwierdziłam również, że przeestryfikowanie może stanowić alternatywę dla innych stosowanych metod modyfikacji tłuszczów. Dobierając odpowiednio warunki prowadzenia procesu, można z mieszanin tłuszczu mlecznego i olejów roślinnych uzyskać nowe tłuszcze różniące się właściwościami fizycznymi i chemicznymi, których triacyloglicerole zawierają krótko- i średniołańcuchowe kwasy tłuszczowe, stanowiące szybkie źródło energii dla organizmu, jak również niezbędne do prawidłowego rozwoju organizmu nienasycone kwasy tłuszczowe. Publiczna obrona pracy doktorskiej odbyła się 2 grudnia 2005 r. Pracami tematycznie związanymi z rozprawą doktorską są między innymi następujące publikacje: **D1, D2, D5, D6, D7, D8, D44, D49** (zał. 5, pkt II). W grudniu 2005 roku zostałam zatrudniona w Katedrze Chemii Wydziału Nauk o Żywności SGGW w Warszawie na stanowisku asystenta, a rok później adiunkta. Tematykę związaną z modyfikacją tłuszczów jadalnych kontynuowałam w mojej dalszej pracy naukowej. Praca w zespole prof. dr hab. Bolesława Kowalskiego pozwoliła mi zdobyć doświadczenie związane z analizą tłuszczów modyfikowanych. Badania, które wykonywałam wraz z zespołem, dotyczyły przeestryfikowania różnych mieszanin tłuszczowych, w skład których wchodziły między innymi takie tłuszcze jak: łój wołowy, smalec, tłuszcz mleczny, tłuszcz gęsi oraz różne oleje roślinne a także olej rybi (zał. 5, pkt II: **D3, D4, D12, D13, D15,**

D30, D43, D45, D50). Przeprowadzone badania pozwoliły na wysunięcie ogólnych stwierdzeń i wniosków. Przeestryfikowanie nie spowodowało zmiany w sumarycznym składzie kwasów tłuszczowych, wpłynęło natomiast na strukturę triacylogliceroli. Rozmieszczenie kwasów tłuszczowych pomiędzy pozycje sn-2 i sn-1,3 triacylogliceroli w produktach przeestryfikowania odbywającego się w obecności katalizatora chemicznego lub preparatu enzymatycznego zawierającego lipazę niespecyficzną było bliskie statystycznemu. W przypadku zastosowania enzymu regiospecyficznego, przeestryfikowanie zachodziło wyłącznie w pozycjach zewnętrznych triacylogliceroli, może zatem być skuteczną metodą wzbogacania tłuszczów zwierzęcych w nienasycone kwasy tłuszczowe poprzez wbudowanie ich w te pozycje. Temperatury mięknięcia oraz zawartość fazy stałej w produktach przeestryfikowania były przede wszystkim zależne od składu mieszanin wyjściowych. Przeestryfikowanie spowodowało wzrost zawartości wolnych kwasów tłuszczowych i frakcji niepełnych acylogliceroli w badanych tłuszczach. Zawartość tych frakcji wzrastała wraz ze zwiększającym się stopniem uwodnienia biokatalizatora. Finalne produkty reakcji przeestryfikowania o identycznym składzie kwasów tłuszczowych, lecz o różnym ich rozmieszczeniu, wewnątrz i pomiędzy cząsteczkami triacylogliceroli, różniły się pod względem badanych właściwości fizycznych i chemicznych. Dobierając odpowiednie warunki procesu można uzyskać tłuszcze mające różne zastosowanie technologiczne. Wyniki uzyskane w tych badaniach stanowiły podstawę do ustalenia warunków procesu przeestryfikowania stosowanych w kolejnych pracach dotyczących modyfikacji tłuszczów (dobór katalizatora, dawki biokatalizatora, temperatury i czasu trwania procesu).

W dalszej pracy zawodowej postanowiłam zastosować metodę przeestryfikowania do uzyskania lipidów strukturyzowanych, które będą zbliżone pod względem składu kwasów tłuszczowych oraz struktury triacylogliceroli do tłuszczu mleka kobiecego. Obszar moich zainteresowań naukowych poszerzył się o poszukiwania olejów i tłuszczów, które mogłyby znaleźć zastosowanie jako substraty w reakcji przeestryfikowania, której celem było uzyskanie zamienników tłuszczu mleka matki. Pracą, w której dokonano przeglądu literatury, dotyczącą badań mleka matki, była publikacja **D37**. W pracy, której jestem współautorem, wskazano, przytaczając odpowiednie informacje i dane literaturowe, na wyjątkowość mleka ludzkiego w porównaniu z mlekiem innych ssaków. Podkreślono zalety karmienia noworodków i niemowlaków mlekiem matki. W oparciu o wyniki współczesnych prac dyskutowano skład chemiczny, strukturę i funkcje, jakie spełniają poszczególne składniki jak białka, węglowodany, lipidy, witaminy, makro- i mikroelementy.

Nie zawsze karmienie piersią jest jednak możliwe i zachodzi wówczas konieczność zastąpienia mleka matki odżywkami dla niemowląt. W pracy **D19** (zał. 5, pkt II) podjęłam próbę charakterystyki i porównania wybranych parametrów tłuszczu mleka modyfikowanego początkowego z tłuszczem mleka kobiecego. Przebrałam trzy rodzaje mleka modyfikowanego początkowego dostępnego wówczas na rynku polskimi i porównałam go z mlekiem kobiecym. Badania wykazały, że w porównaniu do tłuszczu mleka kobiecego, lipidy mleka modyfikowanego różniły się znacznie ilością poszczególnych kwasów tłuszczowych, między innymi zawierały mniej wielonienasyconych długołańcuchowych kwasów tłuszczowych, istotnych dla prawidłowego rozwoju dziecka. W przypadku dwóch preparatów dla niemowląt kwas palmitynowy znajdował w przeważającej ilości w pozycji zewnętrznej triacylogliceroli. Taka struktura triacylogliceroli może powodować zmniejszenie absorpcji wapnia z pożywienia przez organizm niemowlęcia. Kolejne prace **D25, D38, D47** (zał. 5, pkt II) dotyczyły charakterystyki wybranych olejów roślinnych i tłuszczów zwierzęcych pod kątem podobieństwa do tłuszczu mleka kobiecego. W pracach tych wykazano, że triacyloglicerole takich olejów jak m.in. rzepakowy, słonecznikowy, kukurydziany, z lnianki, lniany, z pszczeniaka mołdawskiego mają odmienną strukturę stereospecyficzną w porównaniu z triacyloglicerolami tłuszczu mleka kobiecego. Zastosowanie samych olejów roślinnych w odżywkach dla niemowląt bez ich modyfikacji nie jest zatem właściwe, natomiast tłuszcze z mleka krowiego oraz koziego, czy owczego, podobnie jak tłuszcz mleka kobiecego, zawierają znaczne ilości nasyconych kwasów tłuszczowych, a wśród nich krótko- i średniołańcuchowe kwasy tłuszczowe. Dlatego mogą stanowić źródło szybko przyswajalnych tłuszczów w odżywkach dla niemowląt. Tłuszcze te nie zawierają jednak wystarczającej ilości niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych. Wybrane oleje, ze względu na swój specyficzny skład, mogą wzbogacić tłuszcze zwierzęce w niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe, a poprzez zastosowanie modyfikacji enzymatycznej takich mieszanin można uzyskać lipidy, które znajdą zastosowanie w produkcji odżywek dla niemowląt i małych dzieci. Dodatkowo w pracy **D41** (zał. 5, pkt II) dokonano przeglądu prac dotyczących zamienników tłuszczu mleka kobiecego. Przedstawiono między innymi strategie i metody produkcji zamienników z tłuszczów zwierzęcych. Omówiono również właściwości różnych zamienników, zasady ich jakościowej oceny oraz metody wyboru lipaz, substratów i optymalizacji parametrów reakcji enzymatycznych. Wykazano, że smalec jest najczęściej stosowany jako substrat pochodzenia zwierzęcego do syntezy zamienników, ze względu na specyficzną strukturę triacylogliceroli zbliżoną do tłuszczu mleka kobiecego. Przeprowadzono również badania wstępne mające na

celu modyfikację tłuszczu mlecznego oraz smalcu poprzez przeestryfikowanie z olejami takimi jak olej rybi i rzepakowy (zał. 5, pkt II, prace **D17, D20, D23**).

Wiedza, którą zdobyłam na temat tłuszczu mleka kobiecego oraz jego zamienników, a także przeprowadzone badania dotyczące składu kwasów tłuszczowych i struktury triacylogliceroli różnych tłuszczów zwierzęcych i olejów roślinnych, jak również doświadczenie naukowe związane z procesem przeestryfikowania pozwoliły mi na podjęcie próby uzyskania zamienników tłuszczu mleka matki, a następnie charakterystykę otrzymanych zamienników. W 2010 roku otrzymałam roczne stypendium w ramach programu wymiany naukowej między Szwajcarią a nowymi państwami członkowskimi Unii Europejskiej: Sciex-NMSch. Realizacja projektu pt. „Substytuty tłuszczu mleka kobiecego” (Human Milk Fat Substitutes) w Instytucie Żywności, Żywienia i Zdrowia Politechniki Federalnej w Zurychu (ETHZ) pozwoliła mi na zdobycie doświadczenia w zakresie różnych technik analitycznych oraz na poszerzenie mojej wiedzy na temat sposobów uzyskiwania zamienników mleka kobiecego a także substratów, które znajdują zastosowanie w produkcji tych zamienników. W latach 2010-2012 jako kierownik realizowałam również projekt MNiSW (N N312 068439) w obszarze tej tematyki pt. „Badania nad otrzymaniem zamienników tłuszczu mleka matki na drodze enzymatycznego przeestryfikowania i ich technologicznym zastosowaniem”. Prace, które powstały między innymi na podstawie przeprowadzonych w projekcie badań oraz późniejsze publikacje, będące kontynuacją tych badań zostały zaprezentowane jako moje główne osiągnięcie naukowe (**H1-H10**).

W kolejnym etapie mojej pracy naukowej skupiłam się na technologicznym zastosowaniu uzyskanych lipidów strukturyzowanych w wyrobach przeznaczonych dla dzieci i charakterystyce tych tłuszczów. Równocześnie zajmowałam się doskonaleniem technik instrumentalnych, a zdobyte doświadczenie pozwoliło mi na wykonanie szeregu badań dotyczących charakterystyki różnych tłuszczów naturalnych oraz tłuszczów wyekstrahowanych z produktów spożywczych, ze szczególnym uwzględnieniem ich budowy i stabilności oksydacyjnej oraz właściwości termicznych.

W badaniach przedstawionych w publikacjach **A8** i **D36** (zał. 5, pkt II), nie wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego, lipidy strukturyzowane uzyskane w wyniku przeestryfikowania mieszaniny tłuszczu mlecznego, oleju rzepakowego i koncentratu oleju rybiego użyto do wypieku kruchych ciastek. Tłuszcz ten charakteryzował się strukturą triacylogliceroli zbliżoną do tłuszczu mleka kobiecego, to znaczy kwas palmitynowy był obecny głównie w pozycji sn-2 (ponad 60% tego kwasu znajdowało się w pozycji wewnętrznej), natomiast kwasy nienasycone znajdowały się w pozycjach

zewnętrznych. Proces wypieku miał znaczący wpływ na jakość tłuszczu w gotowym produkcie. W przeestryfikowanej mieszance oraz w tłuszczu wyekstrahowanym z ciastek stwierdzono obecność kwasów pochodzących zarówno z tłuszczu mlecznego, jak i długołańcuchowych niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych pochodzących z koncentratu oleju rybiego. W pracy **A12** (zał. 5, pkt II) wykazano również, że tłuszcze modyfikowane otrzymane podczas przeestryfikowania mieszanki smalcu, oleju rzepakowego i oleju rybiego mogą znaleźć zastosowanie w produkcji kruchych ciastek przeznaczonych dla dzieci, gdyż tłuszcz wyekstrahowany z tych ciastek charakteryzował się zbliżoną dystrybucją kwasów tłuszczowych w cząsteczkach triacylogliceroli do tłuszczu mleka kobyiego. Badania wykazały także, że stabilność przeestryfikowanych mieszanin jest niższa w porównaniu z mieszaninami nieprzeestryfikowanymi.

Stabilność oksydacyjna jest bardzo ważnym parametrem jakościowym olejów i tłuszczów jadalnych. Szybkość i kierunek procesów utleniania zależy od wielu czynników, m.in. od temperatury stosowanej podczas przemian chemicznych oraz warunków przechowywania. W wyniku procesów oksydacyjnych powstaje wiele szkodliwych dla zdrowia substancji biorących udział w procesach kancerogenezy i mutagenezy. Dlatego też **określanie stabilności oksydacyjnej tłuszczów naturalnych, modyfikowanych oraz wyizolowanych z produktów spożywczych jest wciąż aktualnym tematem podejmowanych prac badawczych.** Jedną z metod oznaczania stabilności jest różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC) i jej ciśnieniowa wersja (PDSC). Metoda ta pozwala na szybkie uzyskanie informacji o profilu energetycznym badanego materiału, badanie termostabilności, termoutleniania i autooksydacji olejów i tłuszczów. Przy pomocy tej metody można oznaczyć takie parametry, jak temperatura i przepływ ciepła w funkcji czasu i temperatury. Badania naukowe potwierdzają, iż wyniki związane ze stabilnością oksydacyjną, otrzymane za pomocą PDSC, korelują z innymi normatywnymi metodami m.in. z metodą Rancimat, dlatego też podczas prowadzenia badań do oznaczenia stabilności oksydacyjnej stosowano metodę kalorymetryczną. W badaniach tych wyznacza się czas indukcji procesu utleniania. Pomiar przeprowadzany jest za pomocą aparatu PDSC w warunkach izotermicznych (zazwyczaj w temperaturze 120°C) pod ciśnieniem 1400 kPa w atmosferze tlenu.

Badaniom stabilności oksydacyjnej z zastosowaniem klasycznych metod miareczkowych oraz metody Rancimat lub PDSC (pomiar izotermiczny) zostały poddane między innymi takie produkty jak: owies (**D9, D51**), kukurydza (**D10**), płatki zbożowe (**D48**), ciastka zbożowe (**D14, D46**), ciastka dla niemowląt (**D4**), mięso z dziczyzny (**D26**). Badania

opisane w pracach **A6, A9, A10, A11** (zał. 5, pkt II) zostały wykonane w ramach rozprawy doktorskiej, której byłam promotorem pomocniczym. W pracach tych dokonano między innymi szczegółowej charakterystyki fizykochemicznej orzechów laskowych uprawianych w Polsce. Oceniono również wpływ prażenia na ogólny i szczegółowy skład chemiczny orzechów laskowych. Ciśnieniowa skaningowa kalorymetria różnicowa została zastosowana w tych pracach do oceny stabilności oksydacyjnej oleju z orzechów laskowych, jak również orzechów poddanych obróbce termicznej. Analiza z wykorzystaniem PDSC wskazywała, że stabilność oksydacyjna olejów z orzechów laskowych nieznacznie, lecz istotnie statystycznie wzrastała po przeprowadzeniu prażenia. Ustalono więc, że zastosowane warunki prażenia nie obniżyły jakości oksydacyjnej badanych olejów, a jednocześnie, z uwagi na wspomniany wzrost stabilności oksydacyjnej, można wnioskować, że w wyniku obróbki termicznej powstały związki chemiczne o właściwościach przeciwutleniających, np. związki Maillarda – melanoidyny [Michalska i Zieliński 2008], wpływające istotnie na ogólną stabilność oksydacyjną prażonych orzechów.

Metoda kalorymetryczna (DSC) została również zastosowana do nieizotermicznych pomiarów procesu utleniania. Szczegółowej analizie poddano między innymi olej wyekstrahowany z nasion wiesiołka (zał. 5, pkt II, **D16**). Rejestrowano powtarzalne parametry, tj. temperaturę ekstrapolowanego początku utleniania oraz temperaturę odpowiadającą maksimum pikowi z uwzględnieniem sześciu szybkości ogrzewania. Wyniki uzyskane w teście DSC wykazały istotny wpływ szybkości ogrzewania próbek na zarejestrowane wartości temperatury rozpoczęcia utleniania oraz maksymalnej temperatury utleniania. Pomiarzy nieizotermiczne pomiarów utleniania oleju pozwoliły na wyznaczenie energii aktywacji, współczynnika przedpotęgowego Z oraz stałej szybkości reakcji k . Na podstawie wyznaczonych wartości energii aktywacji wykazano, że pomimo znacznej zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych, które są podatne na utlenianie, stabilność oksydacyjna oleju z nasion wiesiołka jest wysoka. Dynamiczną metodę pracy aparatu DSC zastosowano również do badania stabilności oksydacyjnej kwasu linolowego (zał. 5, pkt II, **A1**). Obliczone w tych badaniach: współczynnik przedpotęgowy Z oraz energia aktywacji uzyskane z temperatur onset i maksimum charakteryzowały się niskimi wartościami. Na podstawie otrzymanych wartości energii aktywacji, czynnika przedpotęgowego oraz stałej szybkości reakcji k można wnioskować o niskiej stabilności oksydacyjnej kwasu linolowego. Wartości k świadczą o tym, że utlenianie kwasu linolowego było reakcją pierwszego rzędu.

W roku 2009 Katedra Chemii Wydziału Nauk o Żywności otrzymała grant inwestycyjny nr 504-10-09270011, co pozwoliło na zakup nowoczesnego aparatu DSC Q200,

TA Instruments i aparatu PDSC (wersja ciśnieniowa) Q20, TA Instruments. Aparat Q200 wyposażony został w intracooler, co umożliwia pracę w bardzo niskiej temperaturze. Zakres temperatury wynosi od -90 do 700°C . Aparat ciśnieniowy może pracować przy wysokich ciśnieniach do 7MPa . **Poszerzenie możliwości przeprowadzania oznaczeń termicznych pozwoliło na wykonywanie nowych badań cieplnych, np. wyznaczanie charakterystyk mięknięcia i czasu indukcji tłuszczów, temperatury przejścia szklistego czy ciepła właściwego badanych materiałów.** Jedną z prac, w której wraz z zespołem dokonałam wyznaczenia charakterystyk mięknięcia, była praca **A12** (zał. 5, pkt II). Praca ta dotyczyła ciasteczek wypieczonych na bazie lipidów strukturyzowanych otrzymanych podczas przeestryfikowania enzymatycznego mieszanin smalcu, oleju rzepakowego i koncentratu oleju rybiego. W pracy za pomocą kalorymetrii skaningowej wyznaczono charakterystykę mięknięcia mieszanin tłuszczowych przed i po procesie przeestryfikowania. Analiza wykonywana była w atmosferze azotu, w zakresie temperatur od -80 do 80°C . Na podstawie otrzymanych krzywych określano temperatury mięknięcia poszczególnych frakcji tłuszczów. Badania wykazały, że występują istotne różnice w przebiegu krzywych tłuszczów przed i po procesie przeestryfikowania. Pomimo, że zakres temperatur występowania pików dla badanych tłuszczów był podobny, zaobserwowano różnice w kształcie i intensywności pików. Charakterystyki mięknięcia DSC mogą dostarczać wielu cennych informacji na temat zmian fizycznych zachodzących w tłuszczach podczas różnych przemian. Mieszanina i nowy tłuszcz otrzymany po procesie przeestryfikowania charakteryzowały się bardzo szerokim zakresem temperatur mięknięcia, w związku z tym mogą znaleźć zastosowanie w piekarnictwie.

Metoda MDSC czyli modulowana różnicowa kalorymetria skaningowa stosowana jest do wyznaczenia temperatury przejścia szklistego w proszkach spożywczych. Produkt spożywczy charakteryzuje się najwyższą stabilnością w temperaturze przemiany szklistej (T_g) i niższej. W 2009 roku wraz z zespołem podjęłam badania nad zastosowaniem metody MDSC do wyznaczania temperatury przejścia szklistego w proszkach spożywczych. Przeprowadzone doświadczenia pozwoliły na dopracowanie metodyki pomiarów temperatury przejścia szklistego i przemian fazowych żywności w proszku. Temperatura przejścia fazowego, opisywana poprzez temperaturę początkową (T_g onset), środkową (T_g midpoint) oraz końcową (T_g endpoint), ma istotny wpływ na stabilność i jakość produktów uzyskanych w postaci proszków i pozwala na ścisłe określenie warunków przechowywania żywności [Bhandari i Hartel 2005, Pałacha i Sitkiewicz 2008]. Celem publikacji **A7** (zał. 5, pkt II) było wyznaczenie diagramów fazowych, czyli zależności temperatury przejścia szklistego

i aktywności wody od równowagowej zawartości wody produktów spożywczych uzyskanych w postaci proszków. W pracy analizie poddano preparaty z mleka w proszku otrzymane w wyniku procesów mieszania, aglomeracji i powlekania. Skład mieszaniny stanowiły: odtłuszczone mleko w proszku, preparaty niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych z grup n-3 i n-6, laktoza krystaliczna i białka serwatkowe. Uzyskano krzywe DSC świeżych produktów i po 6 miesiącach przechowywania, izotermy sorpcji, temperatury przejścia szklistego w aktywnościach wody 0,00 – 0,81 oraz diagramy fazowe. W przypadku krzywych DSC mieszaniny, aglomeratu i powlekanego aglomeratu nie wykazano różnic w kształcie i przebiegu. Po sześciu miesiącach przechowywania na diagramach DSC zaobserwowano endotermiczny, łagodny pik w zakresie temperatur od 35 do 120 °C, co było spowodowane zwiększeniem zawartości wody w badanych proszkach. Procesy aglomeracji i powlekania nie miały wpływu na kształt i przebieg izoterm sorpcji preparatów z mleka w proszku. Wyznaczone temperatury przejścia szklistego dla poszczególnych proszków charakteryzowały się istotnymi różnicami. Wraz z wzrostem zawartości wody w proszkach temperatura przejścia szklistego ulegała obniżeniu. Zjawisko to potwierdza istnienie silnego efektu plastyfikacji wody na właściwości fizyczne proszków spożywczych. Diagramy fazowe dają możliwość dokładnego określenia krytycznej aktywności wody produktu, temperatury przechowywania i krytycznej zawartości wody preparatów z mleka w proszku. Przekroczenie tych wartości spowoduje zbrylanie i wzrost lepkości proszków.

Badaniom kalorymetrycznym preparatów mleka w proszku została poświęcona również publikacja **D29** (zał. 5, pkt II). W publikacji tej stwierdzono, że skład surowcowy preparatów z mleka w proszku miał wpływ na kształt i przebieg krzywych chłodzenia DSC. Pierwsze wyraźne przemiany egzotermiczne świadczyły o obecności tłuszczu mlecznego w składzie mieszanin. Łagodne przemiany egzotermiczne obserwowane dla wszystkich mieszanin wskazywały na występowanie dodanych preparatów kwasów tłuszczowych z rodziny n-3 i n-6. Na podstawie wyników uzyskanych z użyciem różnicowej kalorymetrii skaningowej można wnioskować o rodzaju tłuszczu obecnego w preparatach z mleka w proszku.

W 2015 roku uzyskany grant inwestycyjny aparaturowy „Wzmocnienie zasobów aparatury analitycznej w celu prowadzenia innowacyjnych badań w Katedrze Chemii Wydziału Nauk o Żywności, SGGW” pozwolił na zakup analizatora termogravimetrycznego. **Metoda analizy termogravimetrycznej (TGA) jest metodą kalorymetryczną, która umożliwia określenie ubytku masy próbki w określonej temperaturze w różnych produktach spożywczych m.in. w żywności w proszku, owocach, produktach**

nabiałowych, tłuszczach. Jest to technika, w której mierzona jest zmiana masy próbki podczas jej ogrzewania lub utrzymywania w stałej temperaturze. Technika TGA została zastosowana przeze mnie i przez zespół, z którym współpracuję, do badania czekolad.

Produkcja czekolady to proces składający się z wielu etapów. Najcenniejszymi składnikami czekolady są miazga kakaowa i tłuszcz kakaowy. Metoda analizy termograwimetrycznej pozwala na ocenę jakości i ilości tych dwóch składników. W publikacji **A19** (zał. 5, pkt II) analizie termograwimetrycznej poddano dwa rodzaje czekolad (gorzką i mleczną) uwzględniając poszczególne etapy ich produkcji. Oznaczenia wykonano w atmosferze azotu i tlenu w zakresie temperatur od 50 do 700°C z różną szybkością ogrzewania. Do szczegółowej analizy wybrano szybkość 10 K/min. Uzyskano krzywe TGA dla ubytku masy w zależności od temperatury oraz obliczono pierwszą pochodną DTG. Zaobserwowano istotne różnice w przebiegu i kształcie krzywych DTG dla obu czekolad. Jednym z pików występującym w zakresie temperatur od 387 do 391°C był pik charakterystyczny dla tłuszczów. W czekoladach gorzkich pik ten cechował się ostrym przebiegiem i dużą intensywnością, natomiast w czekoladach mlecznych – łagodnym przebiegiem i mniejszą intensywnością. Kształt i wielkość piku może zatem być informacją o tym, jaki tłuszcz zawiera czekolada tzn. czy jest to tłuszcz kakaowy, czy też mieszanina tłuszczu kakaowego z mlecznym. W przypadku przebiegu krzywych TGA i DTG uzyskanych w atmosferze tlenu wykazywano także istotne różnice dla czekolad gorzkich i mlecznych. Pozwoliły wnioskować o procesach utleniania składników poszczególnych czekolad.

W publikacji **A21** (zał. 5, pkt II) przebadano trzy rodzaje czekolad: gorzką, mleczną i białą. Czekolady oraz wyekstrahowane z nich tłuszcze poddano analizie termicznej (dokonano charakterystyki mięknięcia DSC, wyznaczono krzywe TGA i DTG) oraz oznaczono właściwości teksturalne i akustyczne. Zaobserwowano, że temperatury maksymalne piku mięknięcia DSC dla tłuszczów wyekstrahowanych z czekolad: gorzkiej, mlecznej i białej były niższe niż w przypadku analogicznych pików dla tłuszczu kakaowego. Mogło to być spowodowane mieszaniami tych dwóch tłuszczów (kakaowego oraz mlecznego) i przesunięciem temperatury topnienia w przypadku czekolad w kierunku niskotopliwych triacylogliceroli. Przebieg krzywych topnienia DSC czekolady zależy od wielu czynników, takich jak obecność i jakość tłuszczu, dodatek cukru i/lub emulgatorów oraz rozkład wielkości cząstek w czekoladzie. Ilość tłuszczu mlecznego określała właściwości teksturalne czekolady mlecznej. Czekolady gorzkie charakteryzowały się większą twardością i silniejszą emisją akustyczną generowaną podczas deformacji niż czekolady mleczne i czekolada biała. Biała czekolada charakteryzowała się znacznie niższymi parametrami mechanicznymi niż

czekolady mleczne. Zawartość błonnika w ciemnych czekoladach wpływała na ich właściwości teksturalne (szczególnie akustyczne). Analiza termograwimetryczna dostarczyła wielu cennych informacji o składnikach czekolad. Czekolady mleczne i biała charakteryzowały się wyższą zawartością cukrów i niższą zawartością miazgi kakaowej w stosunku do czekolad gorzkich. Istotne różnice zaobserwowano również w kształcie i intensywności pików odpowiedzialnych za obecność tłuszczów. Zawartość tłuszczu kakaowego w czekoladach gorzkich była najwyższa. Analiza TGA i DTG to narzędzia, dzięki którym jesteśmy w stanie bardzo szybko określić różnice w zawartości poszczególnych składników w czekoladach oraz ich rodzaj.

Kolejny zakres tematyczny mojej pracy naukowej obejmował badania nad możliwością zastosowania β -laktoglobuliny jako nośnika rozpuszczalnych w tłuszczach witamin, tj. cholekalcyferolu i palmitynianu retinyłu oraz charakterystykę uzyskanych produktów pod kątem ich przydatności technologicznej.

Wzbogacanie żywności w witaminy A i D odbywa się zazwyczaj z zastosowaniem nośników będących pochodnymi tłuszczów. Rosnąca świadomość żywieniowa i zdrowotna konsumentów powoduje jednak, że coraz częściej sięgają po produkty z obniżoną zawartością tłuszczu lub beztłuszczowe, czego konsekwencją mogą być niedobory witaminy A i D w diecie [Anderson i Toverud, 1994]. Istnieje zatem potrzeba poszukiwania nowych, innych niż tłuszczowe, nośników cholekalcyferolu i palmitynianu retinyłu. Wśród takich substancji na szczególną uwagę zasługuje β -laktoglobulina – główne białko frakcji serwatkowej mleka krowiego. Budowa strukturalna pozwala na zakwalifikowanie β -laktoglobuliny do rodziny lipokalin [Chatterton i wsp. 2006, Kantopidis i wsp. 2004].

Pierwszy etap badań obejmował opracowanie optymalnych warunków otrzymywania połączeń pomiędzy β -laktoglobuliną a cholekalcyferolem i palmitynianem retinyłu oraz ich analogów wzbogaconych w laktozę i trehalozę i/lub maltodekstrynę w formie roztworów oraz w postaci proszków. Wyniki z tego zakresu przedstawiono w publikacjach **A5, D22** (zał. 5, pkt II). W wyniku przeprowadzonych doświadczeń uzyskano produkty β -laktoglobuliny z cholekalcyferolem oraz palmitynianem retinyłu. Badania prowadzono w szerokim zakresie pH roztworu buforu fosforanowego wynoszącym od 3,0 do 9,0. Wykazano, że zdolność do wiązania cholekalcyferolu przez β -laktoglobulinę jest zależna od pH zastosowanego roztworu. Podobną zależność stwierdzono w przypadku połączeń β -laktoglobuliny z palmitynianem retinyłu. Produkty otrzymane w roztworach buforów fosforanowych o pH 6,8; 7,4 oraz 9,0 charakteryzowały się wyższą zawartością witaminy D₃. Najniższy poziom cholekalcyferolu wykazano dla połączeń utworzonych w pH wynoszącym 3,0 oraz 5,0.

Uzyskane wyniki zostały opisane w publikacji **D22** (zał. 5, pkt II). Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń potwierdzono, że wartość pH decyduje o konformacji elastycznej pętli, otwierającej i zamykającej dostęp do wnętrza baryłki znajdującej się w strukturze β -laktoglobuliny i odpowiedzialnej za wiązanie ligandów. W pH poniżej 6,2 pętla występuje w konformacji stabilizowanej poprzez wiązania wodorowe, utrudniającej dostęp ligandów do wnętrza baryłki. W pH ok. 7,0 możliwe jest wnikanie ligandu do wnętrza baryłki. Następuje wówczas zerwanie wiązań wodorowych i otwieranie ruchomej pętli [Sakurai i wsp., 2009]. Analogiczne badania przeprowadzono dla połączeń β -laktoglobuliny z palmitynianem retinyłu. Wyniki opisano w publikacji **A5** (zał. 5, pkt II). W porównaniu do kompleksów z cholekalcyferolem, połączenia β -laktoglobuliny z palmitynianem retinyłu charakteryzowały się niższą zawartością ligandu. Jedną z przyczyn takiego wyniku może być izomeryzacja palmitynianu retinyłu prowadząca do produktów cis (9-cis; 13-cis) o mniejszej aktywności biologicznej oraz degradacją witaminy A w podwyższonej temperaturze podczas procesu suszenia. Produkty otrzymane z połączeń β -laktoglobuliny z witaminami uzyskano również w postaci proszków, mając na uwadze uniwersalność zastosowania oraz stabilność przechowalniczą, łatwość dozowania oraz wygodę w czasie transportu, jak i magazynowania. Produkty w formie proszku uzyskano metodą suszenia sublimacyjnego oraz rozpyłowego przy różnych parametrach procesu. Wyznaczono takie parametry suszenia, które zapewniały wysoką zawartość witamin w końcowych produktach. Wyniki opisano w publikacji **A5** (zał. 5, pkt II). W badaniach wykazano, że zastosowana temperatura wpłynęła na zawartość palmitynianu retinyłu w końcowych produktach. Poziom palmitynianu retinyłu był wyższy w próbkach suszonych rozpyłowo przy niższej temperaturze powietrza wlotowego wynoszącej 120 °C. Wzrost temperatury powodował obniżenie zawartości palmitynianu retinyłu w próbkach. Zastosowanie liofilizacji, a zatem wyeliminowanie podwyższonej temperatury w procesie suszenia, przyczyniło się do zwiększenia zawartości palmitynianu retinyłu w próbkach. W tym przypadku ograniczenie podwyższonej temperatury podczas suszenia wydaje się wskazane.

Kolejny etap badań obejmował charakterystykę produktów o zróżnicowanym składzie uzyskanych w postaci proszków pod kątem określenia przydatności technologicznej końcowych produktów. W tym celu wyznaczono takie parametry, jak: zawartość wody, aktywność wody, skład granulometryczny, zwilżalność, rozpuszczalność, właściwości sorpcyjne, kinetyka adsorpcji pary wodnej, właściwości termiczne. Badania dotyczyły charakterystyki produktów zawierających β -laktoglobulinę oraz cholekalcyferol wzbogaconych w układ węglowodanów (trehaloza/maltodekstryna; laktoza/maltodekstryna).

Oceniono wpływ metody suszenia na wybrane właściwości fizyczne, sorpcyjne i termiczne. Otrzymane wyniki przedstawiono w publikacji **A4** (zał. 5, pkt II). Stwierdzono, że zastosowana metoda suszenia miała wpływ na wielkość cząstek preparatów otrzymanych w formie proszku. Największym rozmiarem cząstek cechowały się preparaty suszone sublimacyjnie z dodatkiem laktozy i maltodekstryny, a najmniejszym ich analogi suszone rozpyłowo. Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że preparaty otrzymane na drodze suszenia sublimacyjnego cechowała błyskawiczna zwilżalność, niezależnie od składu kompleksu. Badane próbki β -laktoglobulina-witamina D₃ z dodatkiem układu laktoza/trehaloza - maltodekstryna charakteryzowały się bardzo dobrą rozpuszczalnością, niezależnie od sposobu ich otrzymywania. Stwierdzono, że metoda suszenia oraz dodatek węglowodanów miały wpływ na kinetykę sorpcji pary wodnej produktów β -laktoglobuliny z witaminą D₃ z otaczającego środowiska. Najmniejszą zdolnością adsorpcji pary wodnej ze środowiska o aktywności wody a_w 0,338 charakteryzowały się produkty β -laktoglobuliny z witaminą D₃ otrzymane metodą suszenia sublimacyjnego przy największym udziale laktozy/trehalozy w odniesieniu do maltodekstryny wynoszącym 9:1. Na podstawie uzyskanych wyników wykazano, że w przypadku produktów β -laktoglobuliny z witaminą D₃ z dodatkiem mieszaniny trehaloza-maltodekstryna następowało opóźnienie krystalizacji cukrów zawartych w preparatach. Dla badanych układów wyznaczono również temperaturę przejścia szklistego. W przypadku produktów zawierających układ laktoza/trehaloza: maltodekstryna zaobserwowano dwa wyraźnie oddzielone przejścia fazowe (T_{g1} , T_{g2}), związane z obecnością w składzie surowcowym laktozy/trehalozy oraz maltodekstryny. Stwierdzono, że wzbogacenie produktu w składnik o dużej masie cząsteczkowej, jakim jest maltodekstryna, skutkowało podwyższeniem T_g w przypadku badanych produktów. W publikacji **D32** (zał. 5, pkt II) scharakteryzowano układ β -laktoglobulina - palmitynian retinyli – trehaloza. Wykazano, że spośród badanych próbek, produkt suszony sublimacyjnie cechował się najlepszą zwilżalnością. Ze względu na otrzymane wyniki uzyskane proszki zakwalifikowano do drobnoziarnistych. Stwierdzono również, że próbka suszona sublimacyjnie charakteryzowała się znacznie wyższą zawartością wody w porównaniu do próbek suszonych rozpyłowo. Celem badań opisanych w publikacji **D28** (zał. 5, pkt II) była charakterystyka właściwości funkcjonalnych otrzymanych w postaci proszków produktów pomiędzy β -laktoglobuliną a palmitynianem retinyli wzbogaconych w układ laktoza/maltodekstryna w stosunku masowym 9:1, 8:2, 7:3. Stwierdzono wpływ metody suszenia na wartości aktywności wody. Produkty suszone rozpyłowo, w większości przypadków, charakteryzowały się niższymi wartościami tego parametru od analogów

otrzymanych metodą suszenia sublimacyjnego. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że dodatek maltodekstryny korzystnie wpłynął na wartości aktywności wody badanych próbek. Na podstawie otrzymanych rozmiarów cząstek zakwalifikowano analizowane proszki do drobnoziarnistych. Wykazano również wpływ metody suszenia na zwilżalność produktów. Krótki czas zwilżania charakteryzujący próbki suszone sublimacyjnie, pozwolił na zakwalifikowanie ich do grupy produktów „instant”. Uzyskane produkty scharakteryzowano również poprzez wyznaczenie właściwości sorpcyjnych i termicznych. Wyniki przedstawiono w publikacji **D35** oraz **D39** (zał. 5, pkt II). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że izotermy sorpcji pary wodnej badanych układów β -laktoglobuliny z palmitynianem retinylu oraz dodatkiem węglowodanów cechują się kształtem charakterystycznym dla produktów bogatych w cukry proste. Stwierdzono, że dodatek układu laktoza/maltodekstryna wpłynął na zmniejszenie równowagowej zawartości wody w produktach. Próbki zawierające β -laktoglobulinę i palmitynian retinylu charakteryzowały się największymi równowagowymi zawartościami wody, podczas gdy ich analogi wzbogacone w cukry cechowała najmniejsza równowagowa zawartość wody. Na podstawie kształtu krzywych kinetyki adsorpcji pary w środowisku o aktywności wody 0,65 wyznaczonych dla próbek β -laktoglobuliny z palmitynianem retinylu wzbogaconych w układ laktoza/ maltodekstryna wykazano, że obecność cukrów w składzie surowcowym kompleksów wpływa na przebieg kinetyki adsorpcji pary wodnej. Na podstawie wykonanych badań stwierdzono, że wartości temperatury przejścia fazowego badanych produktów uzależnione są od składu surowcowego produktów. Próbki zawierające układ laktoza/maltodekstryna cechowały się obecnością dwóch wyraźnie oddzielonych przejść fazowych. Wzbogacenie produktu w maltodekstrynę, analogicznie jak w przypadku produktów zawierających cholekalcyferol, przyczyniło się do podwyższenia temperatury przejścia szklistego. Produkty, w których składzie nie uwzględniono maltodekstryny charakteryzowały się występowaniem pojedynczego przejścia szklistego w zakresie niższych temperatur. Wyniki badań dotyczących wpływu składu i metody otrzymywania proszków na właściwości termiczne uzyskanych produktów przedstawiono w publikacjach **A14**, **D21**, **D52** (zał. 5, pkt II). Wykazano, że skład surowcowy produktów ma wpływ na kształt i przebieg krzywych DSC. Pierwsze przemiany endotermiczne widoczne na krzywych DSC świadczą o przemianie białka obecnego w składzie próbki. Zaobserwowane temperatury pików endotermicznych są temperaturami, w których białka zaczynają ulegać agregacji. Istotny wpływ na przebieg krzywych DSC miał również udział cukrów w próbce. Nie odnotowano natomiast wpływu metody suszenia na przebieg krzywych DSC.

Podsumowując powyższy cykl badań można stwierdzić, że β -laktoglobulina może potencjalnie pełnić rolę nośnika cholekalcyferolu i palmitynianu retinyłu. Zdolność wiązania cholekalcyferolu i palmitynianu retinyłu przez β -laktoglobulinę jest uzależniona od pH zastosowanego buforu fosforanowego. Produkty otrzymane w roztworach buforów fosforanowych o pH 6,8; 7,4 oraz 9,0 charakteryzowały się wyższą zawartością witamin. Zastosowane parametry procesów suszenia rozpyłowego i sublimacyjnego okazały się szczególnie istotne w przypadku otrzymywania preparatów zawierających palmitynian retinyłu. Obniżenie temperatury procesu przyczyniło się do zwiększenia zawartości witaminy A w produkcie. Ze względu na zawartość witamin w końcowym produkcie, na szczególną uwagę zasługują produkty, które w swoim składzie, oprócz β -laktoglobuliny i witamin, zawierały również trehalozę lub laktozę. W przypadku produktów wzbogaconych w trehalozę wykazano również korzystne opóźnienie procesu krystalizacji w porównaniu z analogami zawierającymi laktozę. Produkty zawierające trehalozę charakteryzowały się również lepszą zwilżalnością od analogów, w których składzie nie było disacharydu. Układy suszone sublimacyjnie zawierające w swoim składzie trehalozę charakteryzowały się czasem zwilżania poniżej 15s, co pozwoliło na zakwalifikowanie ich do grupy produktów „instant”. Wzbogacenie produktu w składnik o dużej masie cząsteczkowej, jakim jest maltodekstryna skutkowało podwyższeniem temperatury przejścia szklistego. Dodatek maltodekstryny wpłynął również korzystnie na uzyskane wartości aktywności wody. Spośród badanych produktów na szczególną uwagę, ze względu na czas zwilżania poniżej 15 sekund charakteryzowały się produkty suszone sublimacyjne. Na podstawie otrzymanych wyników zakwalifikowano badane próbki do drobnoziarnistych, co może wiązać się z trudnościami, jakie mogą stwarzać podczas procesów związanych z ich wytwarzaniem i obrotem. Wybrane produkty w postaci proszków zawierające w swoim składzie β -laktoglobulinę, cholekalcyferol/palmitynian retinyłu oraz układ trehaloza/maltodekstryna mogłyby znaleźć zastosowanie jako dodatki do żywności wzbogacające produkty o obniżonej zawartości tłuszczu lub beztłuszczowe w witaminy A i D.

Wykaz cytowanej literatury

1. Akoh C.C., Karaali A., Sahin N., 2006, Human milk fat substitutes containing omega-3 fatty acids. *J Agr Food Chem*, 56, 3717-3722.
2. Akoh C.C., Moussata C.O., 2001, Characterization and oxidative stability of enzymatically produced fish and canola oil-based structured lipids. *JAOCS*, 78, 25-30.
3. Alles M.S., Scholtens P.A.M.J., Bindels J.G., 2004, Current trends in the composition of infant milk formulas. *Current Paediatr*, 14, 51-63.
4. Anderson J.J.B., Toverud S.U., 1994, Diet and vitamin A and D: A review with an emphasis on human function. *J. Nutr. Biochem.*, 5, 58.
5. Bhandari B.R., Hartel W., 2005, Phase transitions during food powders production and powder stability. In: *Encapsulated and Powdered Foods* (ed. Onwulata C.). CRC Press, Boca Raton, pp. 261.
6. Bornscheuer U.T., Adamczak M., Soumanou M.M, 2003, Lipase-catalyzed synthesis of modified lipids. In: *Lipids for Functional Foods and Nutraceuticals* (ed. Gunstone F.D.). The Oil Press, Bridgwater, pp. 149–182.
7. Bryś J., Wirkowska M., Kowalski B., 2006, Przeestryfikowanie mieszanin tłuszczu mlekowego z olejem słonecznikowym w obecności preparatu Novozym 435. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 2 (47), 28-35.
8. Chatterton D. E. W., Smithers G., Roupas P., Brodkorb A., 2006, Bioactivity of β -lactoglobulin and α -lactoalbumin. Technological implications for processing. *Intern Dairy J*, 16, 1229.
9. Chmura M., Staniewski B., 2001, Przeestryfikowanie enzymatyczne jako metoda modyfikacji składu i właściwości tłuszczu mlekowego. *Przegląd mleczarski*, 2001, 6, 271 – 275.
10. Cichoń R., Stołyhwo A., 1999, Charakterystyka tłuszczów spożywczych dla dzieci. *Pediatrics Współczesna. Gastroenterologia, Hepatologia i Żywienie Dziecka*, 1999, 1 (2/3), 151-154.
11. Claro da Silva R., Schaffer De Martini Soares F.A., Gonzaga Fernandes T., Donadi Castells A.L., Guimaraes da Silva K.C., Almeida Goncalves M.I., Chih Ming Ch., Guaraldo Goncalves L.A., Gioielli L.A., 2011, Interesterification of lard and soybean oil blends catalyzed by immobilized lipase in a continuous packed bed reactor. *JAOCS*, 88, 1925-1933.
12. Farfán M., Villalón M.J., Ortíz M.E., Nieto S., Bouchon P., 2013, The effect of interesterification on the bioavailability of fatty acids in structured lipids. *Food Chem*,

- 139, 571–577.
13. Fauzi S.H.M., Rashid N.A., Omar Z., 2013, Effects of chemical interesterification on the physicochemical, microstructural and thermal properties of palm stearin, palm kernel oil and soybean oil blends. *Food Chem*, 137 (1-4), 8-17.
 14. Hamosh M., Bitman J., Wood L., Hamosh P., Metha N.R., 1985, Lipids in Milk and the First Steps in Their Digestion. *Pediatrics*, 75, 146-150.
 15. Heiman H., Schanler R.J., 2006, Benefits of Maternal and donor human milk for premature infants. *Early Hum, Dev*, 82, 781-787.
 16. Idris N.A., Mat Dian L.H., 2005, Interesterified palm products as alternatives to hydrogenation. *Asia Pac J Clin Nutr*, 14, 396–401.
 17. Jennings B.H., Akoh C.C., 1999, Enzymatic modification of triacylglycerols of high eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids content to produce structured lipids. *JAOCS*, 76, 1133-1137.
 18. Jensen R.G., 1996, The lipids in human milk. *Prog. Lipid Res*, 35 (1), 53-92.
 19. Karabulut I., Turan S., Ergin G., 2004, Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. *Eur Food Res Technol*, 218, 224–229.
 20. Koletzko B., Rodriguez-Palmero M., Demmelmair H., 2001, Physiological aspects of human milk lipids. *Early Hum. Dev*, 65, 3-18.
 21. Kontopidis G., Holt C., Sawyer L., 2004, Invited review: β -lactoglobulin: Binding properties, structure, and function. *J Dairy Sci*, 87, 785.
 22. Kowalski B., Gruczynska E., Maciaszek K., 2000, Kinetics of rapeseed oil oxidation by pressure differential scanning calorimetry measurements. *Eur J Lipid Sci Technol*, 102, 337- 341.
 23. Kowalski B., Tarnowska K., Gruczynska E., Bekas W., 2004, Chemical and enzymatic interesterification of beef tallow and rapeseed oil blend with low content of tallow. *J Oleo Sci*, 53 (10), 479-488.
 24. Ledóchowska E., 1995, Zastosowanie enzymatycznego przeestryfikowania do modyfikacji tłuszczów. *Tłuszcze Jadalne*, 1995, 30 (2), 43–48.
 25. Ledóchowska E., Datta I., 1995, Enzymatyczne i chemiczne przeestryfikowanie mieszaniny oleju rzepakowego i stearyny palmowej. *Tłuszcze Jadalne*, 30 (4), 169–183.
 26. Ledóchowska E., Datta I., 1999, Wpływ frakcji nietriacyloglicerolowej na stabilność oksydacyjną tłuszczu przeestryfikowanego chemicznie i enzymatycznie. *Żywność*, 18 (1), 15 – 23.

27. Ledóchowska E., Hazuka Z., Jurkowska A., 2003, Metody badania struktury triacylogliceroli. *Tuszcze Jadalne*, 38 (1-2), 19–30.
28. Ledóchowska E., Wilczyńska E., 1998, Comparison of the oxidative stability of chemically and enzymatically interesterified fats. *Fett/Lipid*, 100, 343-348.
29. Lopez-Lopez A., Castellote-Bargalló A.I., Campoy-Folgoso C., Rivero-Urgel M., Tormo-Carnice R., Infante-Pina D., Lopez-Sabater M.C., 2001, The influence of dietary palmitic acid triacylglyceride position on the fatty acid, calcium and magnesium contents of at term newborn faeces. *Early Hum Dev*, suppl 65, 83-94.
30. Lopez-Lopez A., Castellote-Bargalló A.I., Campoy-Folgoso C., Rivero-Urgel M., Lopez-Sabater M.C., 2002, Fatty acid and sn-2 fatty acid composition in human milk from Granada (Spain) and infant formulas, *European Journal of Clinical Nutrition*, 56, 1242-1254.
31. Maduko C., Park Y., Akoh C.C., 2008, Characterization and oxidative stability of structured lipids: infant milk fat analog. *JAACS*, 85, 197-204.
32. Marangoni A.G., Rousseau., 1988, Chemical and enzymatic modification of butterfat and butterfat–canola oil blends. *Food Res Int*, 31, 595–599.
33. Martin D, Reglero G, Senorans F.J., 2010, Oxidative stability of structured lipids. *Eur Food Res Technol*, 231, 635-653.
34. Martysiak-Żurowska D., 2008, Content of odd-numbered carbon fatty acids in the milk of lactating women and in infant formula and follow-on formula. *Acta Sci Pol Technol Alimen*, 7(2), 75-84.
35. Michalska A., Zieliński H., 2007, Produkty reakcji Maillarda w żywności. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, 2(51), 5-16.
36. Mojska H., 2001, Czy długołańcuchowe wielonienasycone kwasy tłuszczowe powinny być zawarte w dietach dla niemowląt. *Pediatr. Współcz. Gastroenterol. Hepatol. Żywienie Dziecka*, 3(1), 37-40.
37. Mojska H., Socha J., 2002, Czynniki wpływające na zawartość tłuszczu całkowitego i skład kwasów tłuszczowych w mleku kobiecym. *Żyw. Człow. Metab*, 39 (1/2), 62-77.
38. Nielsen N.S., Yang T., Xu X., 2006, Jacobsen Ch. Production and oxidative stability of a human milk fat substitute produced from lard by enzyme technology in a pilot packed-bed reactor. *Food Chem*, 94, 53-60.
39. Norizzah A.R., Nur Azimah K., Zaliha O., 2018, Influence of enzymatic and chemical interesterification on crystallisation properties of refined, bleached and deodourised (RBD) palm oil and RBD palm kernel oil blends. *Food Res Int*, 106, 982–991.

40. Pacheco C., Palla C., Crapiste G.H., Carrin M.E., 2013, Optimization of reaction conditions in the enzymatic interesterification of soybean oil and fully hydrogenated soybean oil to produce plastic fats. *JAOCS*, 90, 391–400.
41. Pałacha Z., Sitkiewicz I., 2008, Temperatura przemiany szklistej – parametr stabilności żywności. *Przemysł Spożywczy*, 62(9), 32.
42. Paula A.V., Nunes G.F.M., de Castro H.F, Santos J.C., 2018, Performance of packed bed reactor on the enzymatic interesterification of milk fat with soybean oil to yield structure lipids. *Int Dairy J*, 86, 1-8.
43. Rodrigues J.N., Gioielli L.A., 2003, Chemical interesterification of milkfat and milkfat-corn oil blends. *Food Res Int*, 36, 149–159.
44. Roos Y., 2003, Thermal analysis, state transitions and food quality. *J Therm Anal Calorim*, 71, 197–203.
45. Rousseau D., Marangoni A.G., 1995, Engineering triacylglycerols: The role of interesterification. *Trends Food Sci Technol*, 6, 329–335.
46. Sahin-Yesilçubuk N., Akoh C.C., 2017, Biotechnological and Novel Approaches for Designing Structured Lipids Intended for Infant Nutrition. *JAOCS*, 94, 1005–1034.
47. Sakurai K., Kunuma T., Yagi M., Goto Y., 2009, Structural dynamic and folding of β -lactoglobulin probed by heteronuclear NMR. *Biochim Biophys Acta*, 1790(6), 527.
48. Stolarczyk A., Socha P., 2002, Tłuszcze w żywieniu niemowląt. *Nowa Pediatria* 3, 200-203.
49. Szczucińska A., Kurzepa K., Kleczkowska P., Lipkowski A. W., 2006, Założenia technologiczne otrzymywania preparatów z bielma ostropestu plamistego do stosowania jako dodatki przeciwutleniające. *Rośliny Oleiste*, 27, 357 – 366.
50. Szczucińska A., Lipkowski A.W., Baranowska B., Walisiewicz-Niedbalska W., Różycki K., Maciuszczak-Kotlarek H., 2003, Utylizacja odpadu nasion ostropestu plamistego I. Olej z ostropestu plamistego jako antyutleniacz. *Rośliny Oleiste.*, 24, 717-724.
51. Tan C.P., Che Man Y.B., 1999, Differential scanning calorimetric analysis for monitoring the oxidation of heated oils. *Food Chem*, 67, 177-184.
52. Tan C.P., Che Man Y.B., 2002, Recent developments in differential scanning calorimetry for assessing oxidative deterioration of vegetable oils. *Trends Food Sci Technol*, 13, 312-318.
53. Tecelao C., Silva J., Dubreucq E., Ribeiro M., Ferreira-Dias S., 2010, Production of human milk fat substitutes enriched in omega-3 polyunsaturated fatty acids using

- immobilized commercial lipases and *Candida parapsilosis* lipase/acyltransferase. *J Mol Cat B: Enz*, 65, 122-127.
54. Thurgood J., Ward R., Martini S., 2007, Oxidation kinetics of soybean oil/anhydrous milk fat blends: A differential scanning calorimetry study. *Food Res Int*, 40, 1030-1037.
 55. Velasco J., Andersen M.L., Skibsted L.H., 2004, Evaluation of oxidative stability of vegetable oils by monitoring the tendency to radical formation. A comparison of electron spin resonance spectroscopy with the Rancimat method and differential scanning calorimetry. *Food Chem*, 85, 624-632.
 56. Vivoda M., Roškar R., Kmetec V., 2011, The development of a quick method for amorphicity determination by isothermal microcalorimetry. *J Therm Anal Calorim*, 105, 1023–30.
 57. Wang Y.H., Qin X.L., Zhu Q.S., Zhou R., Yang B., Li L., 2010, Lipase-catalyzed acidolysis of lard for the production of human milk fat substitute. *Eur Food Res Technol*, 230, 769–777.
 58. Willis W.M., Marangoni A.G., 2000, Biotechnological Strategies for the Modification of Food Lipids. *Biotechnol Genet Eng Rev*, 16, 141–175.
 59. Xu X., 2000, Production of specific-structured triacylglycerols by lipase-catalyzed reactions: a review. *Eur J Lipid Sci Tech*, 2000, 102 (4), 287–303.
 60. Yankah V.V., Akoh C.C., 2000, Batch enzymatic synthesis, characterization and oxidative stability of DHA-containing structured lipids. *J Food Lipids*, 7, 247-261.
 61. Zhang H., Xu X., Mu H., Nilsson J., Adlernissen J., Hoy C.E., 2000, Lipozyme IM catalyzed interesterification for the production of margarine fats in a 1 kg scale stirred tank reactor. *Eur J Lipid Sci Technol*, 102(6), 411–418.
 62. Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J., 1991, *Tłuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe*. PWN, Warszawa.

6. Podsumowanie dorobku naukowo-badawczego

Mój całkowity dorobek naukowy wg **punktacji MNiSW** wynosi **927** punktów, z czego 21 punktów przypada na okres przed uzyskaniem stopnia doktora, a 906 punktów po uzyskaniu stopnia doktora (w tym 113 punktów przypada na osiągnięcie naukowe, które jest podstawą wniosku habilitacyjnego). Sumaryczny **Impact Factor (IF)** opublikowanych prac wynosi **49,498** (zgodnie z rokiem publikacji) i dotyczy prac opublikowanych po uzyskaniu przeze mnie stopnia doktora. Na osiągnięcie, które jest podstawą **wniosku habilitacyjnego** przypada sumaryczny **IF = 6,647**. Liczba cytowań moich prac wg bazy **Web of Science** wynosi **123 (bez autocytowań 92)**, a zgodnie z bazą **Scopus** są to **149** cytowania (**bez autocytowań 121**). Są to dane z dnia 7 kwietnia 2019 r. **Index Hirscha** wg bazy **Web of Science** wynosi **7**. Dotychczas opublikowałam **87 prac**, z czego 78 po uzyskaniu stopnia doktora (tabela 1).

Wyniki mojej działalności naukowo-badawczej prezentowane były podczas konferencji zagranicznych oraz konferencji o zasięgu krajowym w formie **139 komunikatów naukowych** opublikowanych w materiałach konferencyjnych (126 po uzyskaniu stopnia doktora). Wygłosiłam **8 referatów** na międzynarodowych lub krajowych konferencjach tematycznych oraz na seminariach i sympozjach. Na mój dorobek naukowy składają się również raporty z realizacji projektów badawczych (raport z projektu: „Badania nad otrzymaniem zamienników tłuszczu mleka matki na drodze enzymatycznego przeestryfikowania i ich technologicznym zastosowaniem” realizowanego w ramach programu MNiSW oraz raport z projektu: „Human Milk Fat Substitutes” realizowanego w ramach programu wymiany naukowej między Szwajcarią a nowymi państwami członkowskimi Unii Europejskiej: Sciex-NMS^{ch}), a także raporty z odbywania staży (staż w ramach projektu „Staż Sukcesem Naukowca” oraz staż w ramach projektu „Stolica Staży”) oraz raporty i sprawozdania z przeprowadzonych badań na zlecenie firm i instytucji.

Tabela 1. Zestawienie opublikowanego dorobku naukowego

	Liczba	IF	Punkty wg. MNiSW
Publikacje naukowe w czasopismach znajdujących się w bazie Web of Science	26	49,498	615
Po doktoracie	26	49,498	615
International Journal of Food Sciences and Nutrition (2011)	1	25	1x1,257
Żywność. Nauka. Technologia. Jakość. Suplement (2011x2, 1x2012, 1x2013)	4	4x15	2x0,155 1x0,190 1x0,311 2x2,206
Journal of Thermal Analysis and Calorimetry (2x2013, 3x2014, 1x2016, 2x2017, 2x2018)	10	7x20, 3x25	3x2,042 1x1,953 4x2,209
European Journal of Lipid Science and Technology (1x2014, 1x2015)	2	2x25	1x1,812 1x1,953
Food Analytical Methods (1x2015)	1	1x30	1x2,167
Food Chemistry (1x2015)	1	1x40	1x4,052
LWT - Food Science and Technology (1x2016)	1	1x35	1x2,329
Electronic Journal of Biotechnology (1x2017)	1	1x15	1x1,881
Journal of Food Science (1x2018)	1	1x30	1x2,018
Microbial Cell Factories (1x2018)	1	1x35	1x3,831
Grasas y Aceites (1x 2019)	1	1x20	1x0,969
Thermochimica Acta (1x2019)	1	1x30	1x2,501
International Journal of Environmental Research and Public Health (1x2019)	1	1x30	1x2,608
Publikacje naukowe w czasopismach znajdujących się na liście B MNiSW	61		312
Przed doktoratem	9		21
Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis, Scientia Alimentaria (1x2005)	1		1x3
Tłuszcze Jadalne (2x2005)	2		2x3
Żywność. Nauka. Technologia. Jakość. (1x2004, 2x2005)	3		3x4
La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse (1x2002, 2x2004)	3		
Po doktoracie	52		291
Bromatologia i chemia toksykologiczna (3x2009, 1x2011, 4x2012, 5x2014, 4x2015, 3x2016)	20		8x4 5x5 7x6
Cheminé Technologija (3x2012)	3		3x5 2x4
Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego (1x2009, 2x2010, 1x2011, 1x2012, 1x2013, 2x2014, 1x2016)	9		3x6 4x5
Problemy Higieny i Epidemiologii (1x2015)	1		1x9
Tłuszcze Jadalne (2x2006)	2		2x3
Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych (1x2016, 1x2017)	2		2x13
Żywność. Nauka. Technologia. Jakość. (2x2006, 1x2008, 2x2015)	5		3x4 2x13
Tłuszcze Jadalne (1x2007)	1		
Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych (1x2011)	1		
Rozdział w monografii (1x2007, 2x2008, 1x2010, 2x2014, 1x2017, 1x2018)	8		6x5 1x7 1x15

7. Współpraca z ośrodkami badawczymi, z otoczeniem gospodarczym; działalność dydaktyczna i popularyzacja nauki

Niezwykle istotna jest dla mnie współpraca z innymi naukowcami a także z przedsiębiorstwami zajmującymi się przetwórstwem żywności. W swojej dalszej pracy badawczej zamierzam skupić się przede wszystkim na współpracy z osobami z mojego macierzystego Wydziału oraz z różnymi ośrodkami badawczymi w kraju i za granicą. Współpracuję między innymi z Wydziałem Inżynierii Produkcji SGGW. Wspólne badania dotyczą biopaliw takich jak np. biomasa drzewna. Zamierzam kontynuować współpracę, którą podjęłam z Warszawskim Uniwersytetem Medycznym oraz Pracownią Badań nad Mlekiem Kobięcym i Laktacją, a także Wydziałem Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji SGGW. Badania te dotyczą m.in. żywienia niemowląt, kobiet w okresie ciąży i laktacji ze szczególnym uwzględnieniem wpływu żywienia matki na skład mleka kobiecego, a w konsekwencji na rozwój psychomotoryczny dziecka. Podjęte też zostały próby zastosowania wysokich ciśnień w celu utrwalenia mleka kobiecego oraz zbadano wpływ zastosowanej metody utrwalania na składniki znajdujące się w mleku. Mam zamiar również kontynuować współpracę z ośrodkami zagranicznymi, między innymi z Instytutem Żywności, Żywienia i Zdrowia Politechniki Federalnej (ETHZ) w Zurychu (Szwajcaria), a także z Wydziałem Technologii Żywności i Biotechnologii Uniwersytetu w Zagrzebiu (Chorwacja) oraz Wydziałem Biotechnologii Katolickiego Uniwersytetu w Porto (Portugalia) oraz Instytutem Pare Vitoria w Alcoy (Hiszpania). Corocznie, od 2016 roku jestem opiekunem studentów przyjeżdżających do SGGW w ramach programu Erasmus Plus. Prowadzę wykłady i ćwiczenia w języku angielskim z przedmiotu: „Nutritional and technological properties of fats and oils” dla studentów programu Erasmus. Istotne dla mnie jest upowszechnianie i popularyzacja wyników moich badań jak również współpraca z otoczeniem gospodarczym. Oprócz mojej pracy dydaktycznej, którą realizuję na uczelni prowadząc zajęcia z chemii ogólniej, organicznej oraz z chemii żywności na różnych wydziałach SGGW, a także będąc koordynatorem przedmiotu „Chemia żywności” na Wydziale Nauk o Żywności oraz przedmiotu „Chemia” na Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska, chętnie angażuję się w organizację i prowadzenie pokazów i warsztatów dla dzieci ze szkół podstawowych i młodzieży gimnazjalnej. W ramach projektu współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego (Regionalny Program Operacyjny Województwa Łódzkiego) prowadziłam warsztaty z analityki laboratoryjnej dla uczniów Zespołu Szkół Ponadgimnazjalnych nr 1 w Opocznie. W ramach

Uniwersytetu Otwartego SGGW prowadziłam kurs: „Chemia dla maturzystów – laboratoria”. W ramach programu naukowo-edukacyjnego ADAMED SmartUP prowadziłam zajęcia dla uzdolnionej młodzieży. Jako opiekun naukowy w sekcji „Chemia Żywności” Międzywydziałowego Koła Naukowego SGGW „Zielona Chemia” miałam okazję koordynować kilka projektów badawczych realizowanych przez studentów. Będąc pracownikiem naukowym SGGW jak również wieloletnim sekretarzem Stowarzyszenia Strefa Otwarta staram się podejmować działania sprzyjające wszechstronnemu rozwojowi nauki, kultury i sztuki poprzez współpracę z instytucjami naukowymi i kulturalnymi, przedsiębiorstwami oraz organizację imprez kulturalnych, warsztatów, szkoleń. Bardzo ważna jest dla mnie współpraca z przemysłem. W ramach projektu „Staż Sukcesem Naukowca” realizowałam staż naukowy w przedsiębiorstwie WITPOL, natomiast w zakresie projektu „Stolica Staży” realizowałam staż naukowy w przedsiębiorstwie Kent-Garden Daniel Walendzik. Ścisłe współpracuję z przedsiębiorstwem SANTE A. Kowalski sp.j. Współpraca ta zaowocowała powstaniem kilkunastu kart aplikacji. Mam zamiar kontynuować podjętą niedawno współpracę z przedsiębiorstwem Bakoma Sp. z o. o. Obecnie ogromnym wyzwaniem jest dla mnie projekt „Centrum żywności i żywienia – modernizacja kampusu SGGW w celu stworzenia Centrum Badawczo-Rozwojowego Żywności i Żywienia”. Jako kierownik jednego z kierunków badawczych tego projektu nadzoruję w zakresie merytorycznym realizację zadań badawczych wskazanych w projekcie. Powstające Centrum to ogromna szansa na wzmocnienie współpracy nauki z przedsiębiorstwami branży spożywczej.

W Załączniku 5 znajduje się szczegółowy wykaz osiągnięć związanych z działalnością naukowo-badawczą oraz informacje o współpracy międzynarodowej, osiągnięciach dydaktycznych, odbytych stażach naukowych i zawodowych, popularyzacji nauki oraz działalności organizacyjnej.

17.04.2019

Joanna Bryś